

ГАЛАТЮК О.Є., д-р вет. наук

РОМАНИШИНА Т.О., канд. вет. наук

*Житомирський національний агроекологічний університет*

ХМЕЛЬНИЦЬКИЙ О.Г., д-р вет. наук

*Національний університет біоресурсів та природокористування України*

## **ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ІЗАМБЕНУ В ГОСПОДАРСТВАХ, НЕБЛАГОПОЛУЧНИХ ЩОДО ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

У статті представлені результати дії ізамбену на перебіг інфекційного процесу, викликаного ВЛ ВРХ в організмі корів. Підшкірне застосування препарату в 2,5% розчині з розрахунку 1,0 г на 100 кг маси тіла тварини 1 раз на добу протягом трьох діб викликає зростання титрів інтерферону в сироватці крові дослідних тварин і сприяє підвищенню рівня антитіл до вірусу лейкозу ВРХ.

**Ключові слова:** лейкоз ВРХ,  $\alpha$ -інтерферон, РІД, реакція мікронейтралізації, ізамбен.

**Постановка проблеми.** Сучасний розвиток молекулярної імунології дозволив створити принципово новий клас біологічних препаратів – імуномодуляторів, завдяки яким відкривається можливість впливати на імунореактивність організму. Як зазначають автори, імуномодуляція (імунокорекція) – це закономірна тимчасова зміна імунної відповіді, що проявляється посиленням або послабленням під час використання одного й того ж препарату, залежно від вихідного рівня функціонування імунної системи, схем і доз введення [2, 5, 7, 8, 9]. Перспективним напрямком є вивчення дії імунокоректорів та імуномодуляторів на розвиток інфекційного процесу за лейкозу ВРХ, оскільки при цьому захворюванні розвивається імунодефіцитний стан.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Необхідність вивчення проблем імуностимуляції у ветеринарній медицині пояснюються тим, що за сучасної системи утримання та експлуатації тварини нерідко знаходяться у стані низького імунного статусу і нестійкі до захворювань, в результаті чого у них суттєво знижується продуктивність [6].

Вперше припущення про наявність механізмів, що обмежують ріст злоякісних клітин, висловив П. Ерліх, керуючись положенням, що їх мембрани можуть бути зміненими і представляти для організму чужорідними антигенами. Він також вказав, що в організмі має бути система, що попереджує проліферацію пухлинних клітин. Це положення пізніше було підтверджене завдяки дослідженням у сфері імунології і вивченню ролі імунної системи в патогенезі захворювань [5].

За новоутворень та лейкозів у людей і тварин виникає імунодефіцитний стан, а тому для лікування та профілактики перспективним є застосування імуномодулюючих препаратів (лаферон, комбіферон, ветом, ізамбен) [1, 3, 4]. Використання сучасних імунологічних методів для вивчення стану імунітету дає змогу наблизитись до розкриття механізмів генезу ретровірусних інфекцій. Можливість їх застосування за лейкозу ВРХ із профілактичною метою поки що не вивчена та потребує детального дослідження.

**Мета дослідження** – з'ясувати можливість використання ізамбену в господарствах, неблагополучних щодо лейкозу великої рогатої худоби.

**Матеріал та методика досліджень.** Дослідження проводились на тваринах м'ясної породи, які утримувались безприв'язно, віком 4-5 років і масою 450-500 кг. Перед постановкою досліду ми разом з працівниками лабораторії дослідили в РІД все поголів'я ВРХ, що підлягало дослідженню у господарстві для відбору тварин для експерименту. Дослід проводився у зимово-весняну пору року (грудень-березень). Для постановки досліду використали 17 корів (табл. 1).

Таблиця 1. – Схема постановки досліду

Тварини та препарат	РІД-негативні корови		РІД-позитивні корови	
	I	II	III	IV
Кількість тварин у групі	4	4	3	4
Ізамбен	–	+	–	+

**Примітка:** – ізамбен не застосовували; + ізамбен застосовували.

Коровам першої та третьої груп ізамбен не вводили, а другої та четвертої груп – ізамбен вводили підшкірно у формі 2,5% розчину з розрахунку 1,0 г на 100 кг маси тіла, один раз на добу протягом 3-х днів.

Перед початком досліду у всіх тварин відібрали кров, а потім проводили дослідження через 2 тижні після застосування препарату і через 1 та 2 місяці.

Для визначення біологічної активності ІФН в сироватці крові корів застосовували реакцію мікронейтралізації (рН). Компонентами реакції були: перещеплювальна культура клітин трахеї теляти, герпесвірус коней першого типу (штам „Буковина”), адаптований до зазначеної культури, комбіферон, сироватки крові дослідних корів. рН проводили за мікрометодом у 96-лункових мікропланшетах із постійною дозою вірусу. Рівень антитіл в сироватці крові визначали в РІД.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Хворих на лейкоз корів виявили під час серологічного дослідження в РІД стада і одразу ізолювали. Не здали їх на забій, бо у деяких тварин реакція в РІД була сумнівною, тому у всіх них відібрали кров для проведення гематологічних досліджень серологічним відділом у Державній обласній лабораторії ветеринарної медицини, за результатами яких кількість лейкоцитів була в межах фізіологічної норми, клінічних ознак, характерних для лейкозу, не спостерігалось. У цих корів стадія гематологічного прояву лейкозного процесу ще не наступила. Причому за повторного серологічного дослідження три тварини взагалі перестали реагувати з лейкозним антигеном, а ще у двох лінії преципітації були слабо виражені.

У розвитку лейкозу ВРХ важливе значення має пошкодження імунної системи екологічними факторами, що знижують захисні сили організму.

Інтерферон є першою лінією захисту проти вірусів та забезпечує стан несприйнятливості до широкого спектру вірусних інфекцій, він індукується в усіх клітинах, які мають рецептори до інтерферону. У разі стимуляції клітин індуктором відбувається активація генів, які кодують білки інтерферону і розпочинається продукція – трансляція цих білків, тому ми визначили титри інтерферону у модифікованій нами реакції мікронейтралізації.

Результати досліджень приведено на рис. 1, з якого видно, що у лейкозних тварин титри ІФН були на однаковому рівні, що пояснюється циркуляцією вірусу в організмі корів, а отже і мінімальним виділенням інтерферону завдяки індуктору – РНК-вірусу, збуднику лейкозу.

Титри інтерферону у сироватці крові корів перших двох груп були мінімального значення, що можна пояснити циркуляцією в їх шлунково-кишковому тракті грамнегативних бактерій. Ці організми активують макрофаги і моноцити крові, які виділяють певні види цитокінів (ІЛ-1; TNF), а ці речовини стимулюють утворення інтерферонів.

Після введення штучного індуктора інтерферону – ізамбену титри інтерферону зросли на 15-ту добу у корів четвертої та третьої груп до 2,75 і 1,5 log<sub>2</sub> відповідно, і вже під час наступного дослідження ми спостерігали тенденцію до спадання титрів ІФН у РІД-позитивних корів четвертої групи. Серед тварин третьої групи рівень інтерферону коливався в межах 1,5-2 log<sub>2</sub>. Щодо вмісту ІФН у сироватці крові тварин другої групи, то достовірних змін і яскраво виражених тенденцій протягом всього досліду не відмічалось. Отже, з 14-ї до 60-ї доби відмічалась достовірна різниця у підвищенні вмісту ІФН у сироватках крові тварин третьої та четвертої груп.

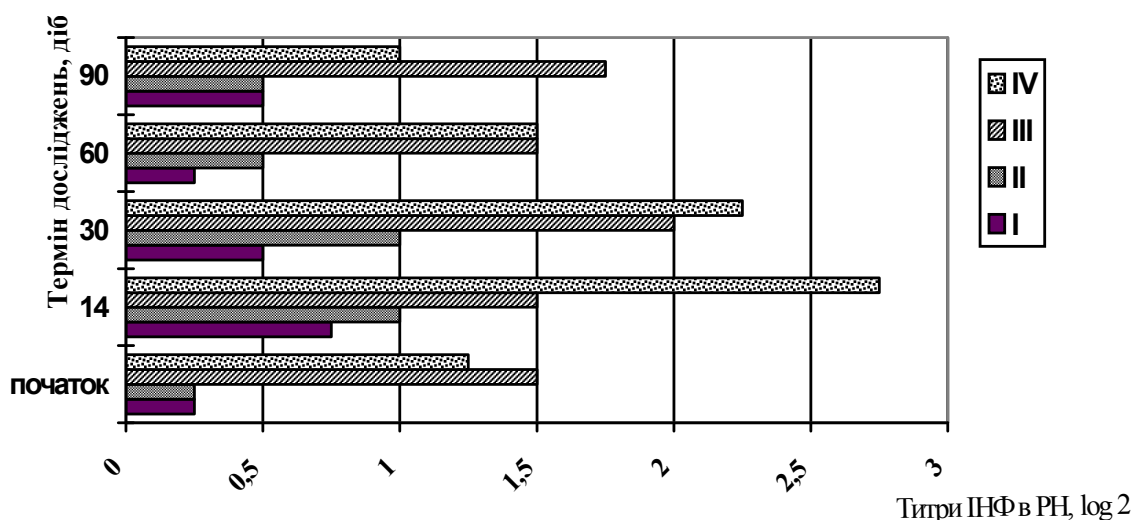


Рис. 1. Динаміка титрів інтерферону у сироватці крові дослідних тварин

Інтерферон може змінювати кількість антитілоутворювальних клітин і синтез як первинних, так і вторинних антитіл. Зміни титрів антитіл, визначені в РІД, представлені в табл. 2. З даних табл. 2 видно, що титри антитіл до вірусу лейкозу ВРХ почали зростати вже на 14-ту добу у тварин групи, яким застосовували ізамбен (від нативного рівня до 2-3 log<sub>2</sub>).

Через місяць після введення відмічалась підвищення титрів у цих же тварин у порівнянні не тільки із початковими показниками корів цієї групи, але й відносно тварин третьої групи, яким препарат не вводили. У двох тварин четвертої групи реакція випала. Результати досліджень тварин обох груп ще через місяць достовірно не відрізнялися від попередніх і коливались у корів першої групи на рівні 4-6 log<sub>2</sub> і 1-2 log<sub>2</sub> у корів № 5, 6, 7. На 90-ту добу після постановки досліду титри антитіл почали знижуватись у тварин першої групи і максимальними були у корови № 4 – 3 log<sub>2</sub>, а у тварин № 6 і 7 реакція між антигеном та антитілами була сумнівною, достовірної різниці між тваринами двох вказаних вище груп не спостерігалось.

Таблиця 2. – Динаміка титрів антитіл (log<sub>2</sub>) у РІД-позитивних корів

№ тварини	Термін досліджень				
	до початку досліду	через 15 діб	через 1 міс.	через 2 міс.	через 3 міс.
Застосовували ізамбен					
1	±	3	5	4	2
2	±	2	4	5	нативна
3	нативна	3	6	5	2
4	нативна	3	6	6	3
Не застосовували ізамбен					
5	нативна	нативна	–	нативна	нативна
6	±	нативна	–	нативна	±
7	нативна	±	нативна	2	±

Так, з 30-ї до 60-ї доби у 100 % тварин третьої дослідної групи відмічали підвищення титрів преципітуючих антитіл щодо лейкозу ВРХ, виявлених в РІД. Вважаємо, що таке підвищення рівня антитіл в РІД відбувалось завдяки прояву імуномодельючої дії ізамбену.

Отже, застосування цього препарату великій рогатій худобі на завершальних стадіях оздоровлення буде сприяти прискорюваному виявленню хворих на лейкоз тварин, і відповідно скорочуватиме термін перебування їх у стаді. Своєчасна ізоляція інфікованих тварин буде сприяти зниженню напруженості епізоотичної ситуації щодо лейкозу ВРХ. Крім того, цей препарат зумовлює підвищення рівня гематологічних та біохімічних показників (друга дослідна група) і не має негативного впливу на імунний статус тварин, тому, на нашу думку, його можна використовувати як препарат-провокатор, за виявлення в РІД тварин з неспецифічною чи сумнівною реакцією.

### **Висновки:**

1. Після введення штучного індуктора інтерферону – ізамбену коровам, позитивно реагуючим в РІД, вміст інтерферону у сироватці крові на 15-ту добу підвищився до  $2,75 \log_2$ , що в два рази перевищує його рівень у сироватці крові лейкозних корів, яким ізамбен не застосовували.
2. У всіх корів третьої дослідної групи відмічали підвищення титрів преципітуючих антитіл щодо лейкозу ВРХ з 30-ї до 60-ї доби, виявлених в РІД.
3. За використання традиційного методу діагностики лейкозу великої рогатої худоби в РІД застосування ізамбену дозволить виявляти тварин – прихованих носіїв вірусу лейкозу великої рогатої худоби, ізоляція яких буде сприяти оздоровленню стад від лейкозу.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Кенигсберг Я.Э. Состояние и перспективы применения иммуномодуляторов в ветеринарии / Кенигсберг Я.Э. // Вопросы ветеринарной фармации и фармакотерапии: тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. – Сигулда, 1990. – С. 244–246.
2. Кузнецов В.П. Интерферон как средство иммуномодуляции / Кузнецов В.П. // Иммунология. – 1987. – № 4. – С. 30–34.
3. Онуфриенко М.Э. ИС-100 для цыплят / Онуфриенко М.Э., Соколов В.Д., Соколов В.И. // Новые фармакологические средства в ветеринарии: тез. докл. к 3-й межвуз. науч.-практ. конф. – 1991. – № 6. – С. 88–89.
4. Отчёт об экспериментальном использовании специфической и общей фармакологической активности изамбена / [Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Фролов А.Ф. и др.] – К., 1990. – 91с.
5. Ройт А. Иммунология. / Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д // перевод с англ. – М.: Мир, 2000. – 548 с.
6. Сливка Г.В. Имунорегулюючий вплив протизапального препарату Ізамбен на клітинний імунітет собак до та після вакцинації / Сливка Г.В. // Ветеринарна медицина України. – 2003. – № 2. – С. 36–38.
7. Bonnem E. Alpha interferon: A look to the future / Bonnem E. // Inves New Drugs. – 1987. – Vol. 5. – P. 65–75.
8. Griebel P. CD40 of signalling in ileal of Peyer's patch of B of cells: implications for of T of cell-dependent antigen selection / P. Griebel, G. Ferrari // Int. Immunol. – 1995. – № 7. – P. 369–379.
9. Melchers F. Progress in Immunology. / Melchers F. //Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Congress of Immunology. – Berlin, 1989. – P. 397–443.

#### **Перспективы использования изамбена в хозяйствах, неблагополучных относительно лейкоза крупного рогатого скота.**

**А.Е. Галатюк, Т.О. Романишина, А.Г. Хмельницкий**

В статье представлены результаты действия изамбена на течение инфекционного процесса, вызванного ВЛ КРС. Подкожное применение препарата в 2,5 % растворе из расчета 1 г на 100 кг веса животного 1 раз в сутки на протяжении трёх суток вызывает увеличение уровня интерферона и титра антител в сыворотке крови опытных животных.

**Ключевые слова:** лейкоз крупного рогатого скота,  $\alpha$ -интерферон, РИД, реакция микронеutralизации, изамбен.

#### **Prospects of the use of izamben in farmstead unhappy in relation to the leucosis of cattle.**

**A. Galatyuk, T. Romanishina, A. Khmelnijskij**

Influence of izambeny is certain on motion of infectious process, caused BLV, in the organism of cows. Hypodermic application of preparation in 2,5%-ному solution from a calculation 1,0 grammes on 100 kg of mass of body of animal 1 time per days during three days causes growth of titles of interferon in the whey of blood of experimental animals and instrumental in the increase of level of antibodies in zooblast. This phenomenon can be utilized for a sensitisation animals during the leadthrough of health measures at the leucosis of BLV.

**Key words:** leucosis of cattle, infected,  $\alpha$ -interferon, the microneutralization test, AGID, izamben.