

УДК: 619578.835.5772

**Саркисян Х.В., Газарянц М.Г., Маркосян Т.А., Мкртчян О.А., Мкртчян З.С.,
Погосян Л.Г., Рухикян Л.А., Акопян Ж.И.**

Са-МОДИФИЦИРОВАННАЯ ДВУСПИРАЛЬНАЯ РНК В КАЧЕСТВЕ ПРЕВЕНТИВНОГО СРЕДСТВА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ ЯЩУРОМ

Ключевые слова: ящур, двуспиральная, Са-модифицированная, РНК, свиньи, Азия-1, титр, вирус, препарат, интерферон

Резюме: Целью данной работы является подтверждение ранее выявленных противовирусных и иммуностимулирующих свойств двуспиральной Са-модифицированной РНК на вирус ящура типа Азия-1. Препарат получали из нуклеината натрия (ОАО «Биосинтез», г. Пенза, РФ), либо выделяли из киллерных дрожжей *Saccharomices cerevisiae*. В результате проведенных испытаний можно утверждать, что Са-модифицированная двуспиральная РНК может применяться в качестве иммуностимулятора для защиты от заболевания. Процент защиты у опытных свиной составляет 87,5. Это позволяет сделать вывод о том, препарат защищает свиней от заболевания ящуром с высоким процентом. Препарат имеет неспецифические иммуностимулирующие свойства и создает экстренную защиту животным независимо от типовой и штаммовой принадлежности вирусов и не вызывает побочных явлений. Препарат имеет не белковое происхождение, прост в получении и не требует сложного технологического оборудования, имеет длительный срок хранения.

Введение

Болезнь ящура и по сей день является одним из самых экономически разрушительных заболеваний животноводства. Это чрезвычайно заразное и быстро распространяющееся заболевание, эпизоотия которого в некоторых странах нанесла большой экономический ущерб животноводческой отрасли. Так, например, при эпизоотии ящура в Тайване в 1997 году возникло более 6 тысяч ящурных очагов, пало и было уничтожено свыше 4 млн. свиней, общий экономический ущерб составил около 1,6 млрд. долларов США, а в 2001 году вспышка ящура в Великобритании в течение 7 месяцев привела к возникновению 2026 ящурных очагов, было убито и уничтожено свыше 5,9 млн. животных, общий экономический ущерб составил около 10,8 млрд. долларов США [1].

В настоящее время существует несколько стратегий борьбы с ящуром. Они сводятся к убою и уничтожению больных и контактировавших с больными животных без применения вакцины; сочетание убою всех животных в очаге, с проведением вынужденной кольцевой вакцинации всего поголовья в зоне риска распространения ящура и вакцинация всего поголовья животных [2].

Однако вакцины, применяемые при профилактике ящура и ряда других вирусных заболеваний, лишь через некоторое время проявляют свои иммунные свойства,

а за это время вирус успевает размножиться и поразить новые клетки [3]. Кроме того, возбудитель ящура обладает большой антигенной изменчивостью даже в пределах одного серотипа и зависит от множества факторов. Считается, что основной причиной такой изменчивости является изменение аминокислотной последовательности в полипептидах вирусных белков, которые образуют капсиду [4, 5]. Обнаружение иммуностимулирующей активности РНК и ДНК-олигонуклеотидов предоставило возможность для получения новых адъювантов и противовирусных препаратов, как в медицине, так и в ветеринарии [6]. В связи с вышеизложенным, важно создание и применение ранних превентивных средств при инфекционных заболеваниях вирусного происхождения. В настоящее время в ряде стран продолжаются вспышки болезни Ньюкасла на крупных птицеводческих фермах. Из литературы известно, что болезнь продолжает проявляться и в популяции вакцинированных птиц [7]. Авторы предполагают, что возможно, после нескольких пассажей возбудителя болезни Ньюкасла вертикальным путем через яйца, куры превращаются в его облигатного хозяина. Ранее нами было показано, что Са-модифицированный препарат РНК проявляет достаточно высокое иммуностимулирующее действие при болезни Ньюкасла птиц [8]. Препарат Са-модифицированной РНК, введенный пти-

цам одновременно с инактивированной вакциной, значительно усиливает ее действие.

Целью данной работы является подтверждение ранее выявленных противовирусных и иммуностимулирующих свойств двуспиральной Са-модифицированной РНК (далее препарат) на вирус ящура типа Азия-1.

Материал и методы исследований

Са-модифицированный препарат получали из нуклеината натрия (ОАО «Биосинтез», г. Пенза, РФ), либо выделяли из киллерных дрожжей *Saccharomices cerevisiae*. Препарат представляет собой легко растворимый в воде желто-серый порошок. В нем содержится 13,6% азота (N), 7,8% фосфата (P), 0,1 г белка на сухой вес, соотношение N/P составляет 1,74. Модификацию ионами Са проводили добавлением стерильного раствора хлорида кальция до появления легкой устойчивой опалесценции в течение 40 минут. В растворе препарат активен 30 дней при температуре 4-10°C.

Применялся вирус ящура типа Азия-1 (2001), который был адаптирован на трёх

свиньях посредством последовательных трех пассажей. У свиноматки, подвергшейся третьему пассажу, был взят патологический материал, который был протитрован на 4-5 дневных белых мышах. Титр заражения вируса составлял 7,5 lgLD, как рабочий титр было взято разведение 10⁻⁴. Безопасность и реактогенность препарата проверялась на 10-ти морских свинках и 2-х свиноматках, которым внутримышечно ввели по 2 и 20 мл препарата соответственно. Животных наблюдали в течение 10 дней. Каких-либо осложнений у них не было, что свидетельствует о безопасности препарата и отсутствии реактогенности.

Результаты и обсуждение

Было взято 8 голов опытных свиноматок и 2 свиноматки в контрольной группе весом по 50 кг. Опытным свиноматкам было введено внутримышечно по 10 мл препарата и через 48 часов их заразили вирусом ящура типа Азия-1 при разведении 10⁻⁴ в количестве 1 мл. Свиноматки контрольной группы были заражены тем же вирусом и в тех же количествах.

Через 48 часов после введения препа-

Таблица. Противоящурное действие препарата «Индуктор»

Животные	Кол-во опытных жив.	Кол-во защищенных жив.	Кол-во заболевших жив.	Процент защиты, %	Комментарии
06.05.2014 Контрольное заражение через 48 часов после введения препарата	8	7	1	87,5	У одного животного повысилась температура до 41,2° С, затем она нормализовалась
Контрольная группа	2	0	2	0	

рата у одной из зараженных свиноматок на 3-й день на переднем копыте обнаружился местный процесс (воспаление) и повышение температуры до 41,2° С, в течении одного дня и в дальнейшем нормализовалось. При наблюдении за животными с 7 по 21 день каких-либо осложнений у них не было выявлено.

У животных контрольной группы наблюдалось резкое повышение температуры (41,4-41,6°C), которое сопровождалось выраженной генерализацией на конечностях. Процент защиты у опытных свиноматок

составлял 87,5. Это позволяет сделать вывод о том, препарат защищает свиноматок от заболевания ящуром с высоким процентом.

Выводы и заключение

В результате проведенных испытаний можно утверждать, что Са-модифицированная двуспиральная РНК может применяться в качестве иммуностимулятора для защиты от заболеваний. Препарат имеет неспецифические иммуностимулирующие свойства и создает экс-

тренную защиту животных независимо от типовой и штаммовой принадлежности вирусов и не вызывает побочных явлений. Препарат имеет не белковое происхождение, прост в получении и не требует сложного технологического оборудования и имеет длительный срок хранения.

Препарат был нами зарегистрирован и получены 2 сертификата от Министерства сельского хозяйства РА [9,10].

Можно предположить, что действие этого препарата связано с его способностью стимулировать синтез эндогенного

интерферона, обладающего значительной противовирусной активностью, который заметно усиливает иммунный ответ системы Т- и В-клеток. Кроме того, известно, что дс-РНК повышает уровень фосфорилирования белков плазматической мембраны, активирует трансмембранные токи экстрацеллюлярного иона кальция, повышает активность фосфолипазы А2, которая приводит к накоплению и высвобождению лизоформ фосфолипидов и ненасыщенных жирных кислот, обладающих иммуностимулирующими свойствами [8].

Библиографический список:

1. Груздев К.Н. Программа совместных действий по профилактике и борьбе с ящуром животных в странах СНГ / К.Н. Груздев, В.М. Захаров, А.М. Рахманов // Труды Федерального Центра охраны здоровья животных. – Владимир, Т.Ш. – 2005. – С. 3-13.
2. Гуленкин В.М. Экономическая эффективность проведения профилактической вакцинации животных против ящура на территории Российской Федерации / В.М. Гуленкин // Труды Федерального Центра охраны здоровья животных. – Владимир. – 2012. – С. 31-41.
3. Акопян Ж.И. Некоторые свойства модифицированной двухспиральной РНК / Ж.И. Акопян, М.Г. Газарянц, З.С. Мкртчян, Л.С. Нерсесова, Л.Г. Погосян, Г.О. Меликсетян, Т.А. Маркосян // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария. – 2009. – №1. – С. 15-19.
4. Doel T.R. Foot-and-mouth disease: vaccine strains and field isolates. Foot-and-mouth disease: control strategies / T.R. Doel // Lyons. – 2002. – 2-5 June, p.p. 287-296.
5. Камалова Н.Е. Определение антигенного соответствия эпизоотических изолятов и производственных штаммов вируса ящура с помощью имуноферментного анализа / Н.Е. Камалова, Д.Н. Афонина, А.И. Егорова, С.Р. Кременчугская, В.В. Борисов // Ветеринарная патология. – 2009. – №4. – С.12-16.
6. Власов В.В. Терапевтические препараты на основе нуклеиновых кислот / В.В. Власов // Съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов. Сборник научных трудов. – Новосибирск. – 2008. – С.19.
7. Джупина С.И. О природе эпизоотического процесса болезни Ньюкасла кур / С.И. Джупина, Б.А. Бан-бо // Ветеринарная патология. – 2008. – №4. – С. 24-25.
8. Акопян Ж.И. Иммуностимулирующие свойства Са-модифицированной РНК при ряде вирусных болезней сельскохозяйственных животных / Ж.И. Акопян, Х.В. Саркисян, Т.А. Маркосян, М.Г. Газарянц // Ветеринарная патология. – 2012. – №3. – С. 107-110.
9. Патент на регистрацию ветеринарного препарата N00040, 07.04.2014, Министерство сельского хозяйства Республики Армения.
10. Патент на регистрацию ветеринарного препарата N00057, 02.07.2014, Министерство сельского хозяйства Республики Армения.

References:

1. Gruzdev K.N. Joint Action Programme for Prevention and Control of FMD animals in the CIS / K.N. Gruzdev, V.M. Zaharov, A.M. Rahmanov // Trudy Federalnogo Tsentra ohranyi zdorovya zivotnyih. – Vladimir, T.Sh. – 2005. – S. 3-13.
2. Gulenkin V.M. Cost-effectiveness of preventive vaccination of animals against foot and mouth disease in the territory of the Russian Federation / V.M. Gulenkin // Trudy Federalnogo Tsentra ohranyi zdorovya zivotnyih. – Vladimir. – 2012. – S. 31-41.
3. Akopyan Zh.I. Some properties of modified double-stranded RNA / Zh.I. Akopyan, M.G. Gazaryants, Z.S. Mkrtychyan, L.S. Nersesova, L.G. Pogosyan, G.O. Meliksetyan, T.A. Markosyan // Epizootologiya, immunobiologiya, farmakologiya, sanitariya. – 2009. – #1. – S. 15-19.
4. Doel T.R. Foot-and-mouth disease: vaccine strains and field isolates. Foot-and-mouth disease: control strategies / T.R. Doel // Lyons. – 2002. – 2-5 June, pp. 287-296.
5. Kamalova N.E. Specific antigens compliance epizootic isolates and industrial strains of FMD virus by enzyme immunoassay / N.E. Kamalova, D.N. Afonina, A.I. Egorova, S.R. Kremenchugskaya, V.V. Borisov // Veterinarnaya patologiya. – 2009. – #4. – 12-16.
6. Vlasov V.V. Therapeutic formulations based on nucleic acid / V.V. Vlasov // S'ezd Rossiyskogo obshchestva biohimikov i molekulyarnyih biologov. Sbornik nauchnyih trudov. – Novosibirsk. – 2008. – S.19.
7. Dzhupina S.I. On the nature of Newcastle disease epizootic process of chickens / S.I. Dzhupina, B.A. Ban-bo // Veterinarnaya patologiya. – 2008. – #4. – S. 24-25.
8. Akopyan Zh.I. Immunostimulatory properties of Ca-modified RNA in a number of viral diseases of farm animals / Zh.I. Akopyan, H.V. Sarkisyan, T.A. Markosyan, M.G. Gazaryants // Veterinarnaya patologiya. – 2012. – #3. – S. 107-110.
9. The patent registration of veterinary drug N00040, 07.04.2014, Ministry of Agriculture of the Republic of Armenia.
10. The patent for registration of veterinary drugs N00057, 02.07.2014, Ministry of Agriculture of the Republic of Armenia.

Sargsyan Kh.V., Gazaryanc M.G., Markosyan T.H., Mkrтчyan H.A., Mkrтчyan Z.S., Poghosyan L.G., Rukhkyan L.A., Hakobyan J.I.
Ca-MODIFIED DOUBLE-HELICAL RNA AS A PROACTIVE AGENT AGAINST MURRAIN

Key Words: murrain, double-helical, Ca-modified RNA, swine, Asia-1, titre, virus, preparation, interferon

Abstract: This study was aimed at confirmation of recently identified antiviral and immunostimulating properties of double-helical Ca-modified RNA against murrain virus Asia-1 type. The agent was produced either from sodium nucleinate (Biosintez OJSC, Penza, Russia) or from killer yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The research led to conclusion that Ca-modified double-helical RNA is a possible immunostimulant to be used for protection against the disease. Rate of protection in the test swine was 87.5%. Therefore it's safe to infer that the preparation reliably prevents murrain in swine. The preparation reveals non-specific immune stimulating properties which build emergency protection in animal regardless of the virus type or strain, without any adverse effects. The preparation is of non-protein origin, easy in production, requires no special process equipment, and has a long shelf life.

Сведения об авторах:

Саркисян Хачик Вазгенович, канд. вет. наук, директор научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов ГНКО РА; д. 107/2 Масисское шоссе, Нубарашен, Ереван-0071; тел.: +37491995581; e-mail: scsbv@yahoo.com

Газарянц Марина Гургеновна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник института молекулярной биологии НАН, РА; Асратян 7, Ереван; тел.: +37491507244; e-mail: khabez@bk.ru

Маркосян Тигран Акопович, канд. биол. наук, заместитель директора по науке научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов ГНКО РА; д. 107/2 Масисское шоссе, Нубарашен, Ереван-0071; тел.: +374 93000563; e-mail: tigran79hm@yandex.ru

Мкртчян Оганес Альбертович, соискатель научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов ГНКО РА, д. 107/2, Масисское шоссе, Нубарашен, Ереван-0071; тел.: +37491213025; e-mail: mkrтчyanhov@gmail.com

Мкртчян Зоя Сергеевна, канд. биол. наук, научный сотрудник института молекулярной биологии НАН, РА; Асратян 7, Ереван; тел.: +37410281572; e-mail: khabez@bk.ru

Погосян Лина Генриховна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник института молекулярной биологии НАН, РА; Асратян 7, Ереван; тел.: +37410281572; e-mail: khabez@bk.ru

Рухкян Левон Ашотевич, канд. биол. наук, старший научный сотрудник научного центра оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов ГНКО РА, д. 107/2, Масисское шоссе, Нубарашен, Ереван-0071; тел.: +37491213025; e-mail: scsbv@yahoo.com

Акопян Жан Ишханович, член корр. НАН РА, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом энзимологии института молекулярной биологии НАН, РА; Асратян 7, Ереван; тел.: +37491422668; e-mail: jeanakopian@gmail.com

Author affiliation:

Sargsyan Khachik V., Ph.D. in Veterinary, director of Scientific center for risks assessment and analysis in food safety area SNCO RA, 107/2, Masis road, Nubarashen, Yerevan-0071; phone:+37491995581; e-mail: scsbv@yahoo.com

Gazarianz Marina G., Ph.D. in Biology, Senior Scientific Researcher at Institute of Molecular Biology NAS, RA, Hasratyan 7, Yerevan; +37491507244; e-mail: khabez@bk.ru

Markosyan Tigran H., Ph.D. in Biology, deputy director for science of Scientific center for risks assessment and analysis in food safety area SNCO RA, 107/2, Masis road, Nubarashen, Yerevan-0071; phone: +37493000563; e-mail: tigran79hm@yandex.ru

Mkrтчyan Hovhanes A., competitor of Scientific center for risks assessment and analysis in food safety area SNCO RA, 107/2, Masis road, Nubarashen, Yerevan-0071; phone: +37491213025; e-mail: mkrтчyanhov@gmail.com

Mkrтчyan Zoya S., Ph.D. in Biology, Scientific Researcher at Institute of Molecular Biology NAS, RA, Hasratyan 7, Yerevan; phone: +37410281572; e-mail: khabez@bk.ru

Pogosyan Lina G., Ph.D. in Biology, Scientific Researcher at Institute of Molecular Biology NAS, RA, Hasratyan 7, Yerevan; phone: +37410281572; e-mail: khabez@bk.ru

Rukhkyan Levon A., Ph.D. in Biology, Scientific Researcher of Scientific center for risks assessment and analysis in food safety area SNCO RA, 107/2, Masis road, Nubarashen, Yerevan-0071; phone: +37491213025; e-mail: scsbv@yahoo.com

Akopian Jean I., Corresponding member of NAS, RA, D.Sc. in Biology, professor, head of department of enzymology of Institute of Molecular Biology NAS, RA, Hasratyan 7, Yerevan; phone: +37410281572; e-mail: jeanakopian@gmail.com

УДК 619:616.98

Харатян С.А., Элбакян А.Л., Мкртчян О.А., Маркосян Т.А., Саркисян Х.В.

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОМОНИТОРИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ЯЩУРУ В АРМЕНИИ

Ключевые слова: вакцина, иммунитет, ящур, вирус, восприимчивое животное, серомониторинг, буферная зона, штамм, вакцинация, сыворотка.

Резюме: Складывающаяся неблагоприятная ситуация по ящуру в мире привела к тому, что на совместном совещании представителей МЭБ/ФАО/ЕС, состоявшемся в Риме в апреле 1999 г., было принято решение о создании и финансировании буферной зоны, с целью предотвращения заноса возбудителя ящура через территорию России в европейские страны. В статье представлены результаты скрининговых исследований сывороток крови вакцинированных животных для оценки иммунного фона у животных с 2005-2008 гг. Результаты исследований свидетельствуют о том, что до начала функционирования буферной зоны в Армении иммунный фон был крайне низким. После проведения иммунизации животных в соответствии с международной программой, эти значения увеличились: тип А до 53 %, тип О до 50% и тип Азия 1 до 49%. Неблагополучная эпизоотическая обстановка по ящуру в мире и регионе и реальная возможность заноса возбудителя ящура на территорию Армении диктует необходимость усиления противоящурных мероприятий, продолжение профилактических вакцинаций КРС и МРС с использованием качественных вакцин и проведение серомониторинговых исследований с целью оценки состояния иммунного фона среди вакцинированных животных и выявления возможных нарушений при проведении профилактических иммунизаций.

Введение

Ящур остается одной из наиболее опасных болезней животных, наносящих огромный ущерб животноводству многих стран.

Тенденция к глобальному распространению, высокая контагиозность болезни, широкий спектр восприимчивых животных, множество иммунологических типов и подтипов возбудителя, разнообразие путей выделения и его распространения, способность длительное время сохраняться как во внешней среде, так и в организме животных, обуславливает ряд сложных ветеринарно-санитарных и экономических проблем [1]. Вынужденные жесткие карантинные меры по ликвидации ящура нарушают нормальную хозяйственно-эконо-

мическую деятельность сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий, затрагивают общественные, экономические и межгосударственные связи [2, 3]. Эпизоотии ящура не знают географических границ и могут распространяться в очень короткое время на огромные территории [4, 5].

В складывающейся неблагоприятной ситуации по ящуру в мире, при «прозрачности» границ, тяжелом экономическом положении соседних стран, каждая из которых индивидуально не может эффективно бороться с заболеванием, привела к тому, что на совместном совещании представителей МЭБ/ФАО/ЕС, состоявшемся в Риме в апреле 1999 г., было принято решение о создании и финансировании буферной