

УДК 619:57.083.3

<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2021-1-22-26>

Койпиш С.С., аспирант

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им С.Н. Вышелеского», г. Минск

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ЖЕЛТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КУР ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ (ОБЗОР)

### Резюме

В статье представлены данные о перспективах и результатах применения специфических желточных иммуноглобулинов IgY кур в ветеринарии и медицине, актуальные для использования в Республике Беларусь.

**Ключевые слова:** иммуноглобулины, специфические желточные иммуноглобулины (IgY), биотехнологии, иммунология.

### Summary

The article presents data on the perspective and results of the use of specific yolk immunoglobulins IgY of chickens in veterinary medicine and human medicine, which are relevant for use in the Republic of Belarus.

**Keywords:** immunoglobulins, specific Egg yolk immunoglobulins (IgY), biotechnology, immunology.

Поступила в редакцию 06.04.2021 г.

В последние годы внимание ветеринарных врачей и работников, занятых в птицеводческой отрасли, приковано к альтернативным способам профилактики и лечения бактериальных инфекций птиц без использования антибиотиков [3].

Использование антибиотиков в промышленном птицеводстве для улучшения роста и развития птицы, а также применение кормовых антибиотиков и противопаразитарных (таких как кокцидиостатики) препаратов привело к проблеме их накопления в продуктах птицеводства и появлению штаммов антибиотикорезистентных микроорганизмов. Еще одним аспектом, ограничивающим использование антибиотиков в развитых странах, является стремление к безопасности и экологичности пищевой продукции. Поиск альтернативы антибиотикам – актуальная проблема в птицеводстве. Использование пробиотических препаратов, кормовых добавок на основе органических кислот, показывающих хорошие результаты в качестве профилактических средств, приводит к повышению резистентности организма к возбудителям инфекционных заболеваний, улучшению показателей продуктивности птицы.

Одним из современных методов лечения и профилактики бактериальных инфекций у животных и птиц является применение специфических желточных иммуноглобулинов (IgY), полученных из яиц иммунизированных кур [4].

Клинические и лабораторные исследования применения желточных иммуноглобулинов в ветеринарии доказали, что желточные антитела являются безопасным эффективным средством для лечения и профилактики многих бактериальных болезней животных, птиц и человека [9].

Преимущества специфических желточных иммуноглобулинов IgY по сравнению с антибиотиками заключаются в том, что:

- IgY не вызывают специфической резистентности патогенных микроорганизмов, поскольку направлены на мультиантигенные мишени, для синтеза которых требуется несколько генов;

- IgY специфичны по своей реактивности и воздействуют только на целевые патогены, не влияя на нормальную бактериальную флору;

- препараты на основе IgY отличаются фармакологической безопасностью и

отсутствием накопления в продуктах животноводства (мясо, молоко);

- не приводят к загрязнению окружающей среды синтетическими химическими препаратами;

- в отличие от синтетических лекарств, IgY не вызывают побочных эффектов [8].

Впервые о применении желточных иммуноглобулинов в качестве профилактического и терапевтического средства стало известно в 1893 г. из публикации F. Klemperer «Естественный иммунитет и его использование в иммунотерапии» [13], где был описан феномен передачи специфических антител против столбнячного токсина в желток иммунизированных кур. К сожалению, в те годы данная работа не нашла поддержки, и исследования по этому направлению были приостановлены вплоть до середины 20 века. В 1959 г., когда были опубликованы «принципы гуманной и экспериментальной техники» [20], ученые вновь заинтересовались данным направлением. Ряд работ по изучению иммуноглобулинов животных позволил получить новые представления о структуре, составе и особенностях иммуноглобулинов разных видов животных. В частности, благодаря исследованиям W.M.S. Russell [20] было доказано, что иммуноглобулины кур подходят для пассивной иммунизации разных видов животных и человека. В 1969 г. учеными G.A. Leslie и L.W. Clem [17] было предложено название для обозначения желточных иммуноглобулинов – «IgY» (Yolk – желток), так как не смогли доказать различия между иммуноглобулинами птиц и млекопитающих.

Кроме изучения иммуноглобулинов кур, в 1970 гг. начались работы по исследованию свойств желточных иммуноглобулинов других видов птиц (уток, гусей, страусов), а также иммуноглобулинов некоторых видов рептилий и земноводных [14].

В отличие от иммуноглобулинов млекопитающих, в частности крупных животных (лошади, коровы, бараны), для выделения которых из крови требуется дорогостоящее оборудование и оснащение ла-

бораторий, получение желточных иммуноглобулинов – относительно простой и дешевый метод. При этом он дает большую концентрацию специфических иммуноглобулинов (до 100 мг на яйцо), что значительно превышает концентрацию иммуноглобулинов, полученных из аналогичного объема крови [1].

Еще одним преимуществом IgY перед иммуноглобулинами млекопитающих является неинвазивный способ получения (из яйца) по сравнению с отбором крови у животных, когда удается выделить ограниченное количество материала за одно взятие с перерывом на восстановление. Кроме того, срок эксплуатации животных-доноров ограничен.

Полученная кровь млекопитающих может храниться не более 5 суток и требует переработки, в то время как получение яйца от иммунизированной птицы, напротив, является неинвазивным и относительно постоянным методом получения специфических иммуноглобулинов. В зависимости от породы и кросса птицы можно получать в среднем 200–300 яиц в год. Яйцо может храниться до полугода без потери иммунной активности антител [1]. Кроме этого, содержание птиц-доноров является экономически более выгодным по сравнению с содержанием в качестве доноров кроликов и крупных млекопитающих [11].

Существуют и методы применения желточных иммуноглобулинов с использованием различных добавок для защиты IgY от воздействия пепсина, находящегося в желудке, что позволяет им без повреждений попадать в тонкий отдел кишечника. Это особенно важно для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта у телят и поросят. Для создания защитной оболочки вокруг иммуноглобулинов используются микрокапсула хитозана и альгината, микрокапсула циклодекстрина и полимеры метакриловой кислоты, а также гидрогель [11]. Однако даже пероральное применение IgY в виде яичного желтка в жидкой и порошковой форме (лиофильно высушенный желток) без дополнительных компонентов показало устойчивость к условиям

воздействия желудочно-кишечного тракта и эффективность в качестве терапевтического и профилактического средства [10].

Антитела IgY могут быть созданы для нацеливания на специфические антигены, которые являются токсинами или другими чужеродными веществами. Антигены могут быть комплексными антигенами вирусов, бактерий, паразитов или отдельными антигенами (белки, полисахариды, пептиды и нуклеиновые кислоты). Например, антитела IgY могут минимизировать резистентность болезнетворных микроорганизмов к антимикробным препаратам, очень часто наблюдаемую при обычном использовании антибиотиков для лечения бактериальных инфекций. Поскольку антитела IgY направлены на специфические и, как правило, множественные антигены бактерий, для синтеза которых требуется несколько генов, это затрудняет мутации бактерий, направленные на устойчивость к IgY [8].

Создаваемые для нацеливания на специфические антигены IgY должны обеспечивать локализованное, высокоспецифичное, предсказуемое и эффективное взаимодействие антиген-антител. Механизмы действия IgY заключаются в подавлении бактериальной и вирусной адгезии к поверхности клетки-хозяина; подавлении бактериальной колонизации и распространения вируса от клетки к клетке; способствовании выведению из организма специфических чужеродных агентов; подавлении активности ферментов и нейтрализация активности токсинов бактериальных клеток [6].

По сравнению с вакцинами, пассивная иммунотерапия с использованием специфических IgY имеет явные преимущества, в том числе:

- немедленное и местное начало действия, что особенно важно при лечении и профилактике заболеваний желудочно-кишечного тракта;
- высокое сродство антитело-антиген;
- применимость к широкому кругу пациентов – от молодняка и до взрослых, лактирующим и беременным животным, особям с иммунодефицитом или с ослабленным иммунитетом;

- IgY не токсичны и фармакологически безопасны.

Специфические антитела IgY в экспериментах зарубежных ученых также использовались для диагностики вирусных, бактериальных, паразитарных инфекций, а также рака посредством их нацеливания на специфические антигены [6]. IgY по своим иммунологическим свойствам равен IgG млекопитающих и может использоваться в различных серологических тестах, таких как методы осаждения, агглютинации и нейтрализации, а также в иммуноферментных анализах [2, 19].

Желточные иммуноглобулины нашли применение в экспериментах по лечению и профилактике различных заболеваний животных и человека, таких как мастит крупного рогатого скота [7]; кариес зубов (*Streptococcus mutans*); ротавирусная диарея младенцев, гастрит (*H. pylori*); пародонтит (*P. Gingivalis*); кандидоз полости рта (*C. albicans*); муковисцидоз (*Pseudomonas aeruginosa*); грипп (H5N1, H1N1); туберкулёз (*Mycobacterium tuberculosis*); респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота (BRVS); диарея у детей и молодняка животных, вызванная кишечной палочкой (*Escherichia coli*) [15].

Перспективным направлением использования желточных иммуноглобулинов в ветеринарии Республике Беларусь является профилактика и лечение эшерихиоза – распространенного заболевания молодняка животных и птицы, поражающего желудочно-кишечный тракт и приносящего значительные финансовые потери в промышленном животноводстве и птицеводстве.

Эшерихиоз кур – одно из наиболее распространенных бактериальных заболеваний в промышленном птицеводстве. Группа ученых [18] исследовала наличие *Escherichia coli* в тушках покупной птицы (1367 тушек кур и индеек). В результате в каждой из трех групп отобранных тушек (до убоя птицы различались по условиям выращивания: обычное, без использования антибиотиков и полностью органическое птицеводство) были выявлены тушки с кишечной палочкой.

Ученые провели исследование на антибиотикорезистентность выделенной из тушек индеек кишечной палочки и выяснили, что наибольшая устойчивость у возбудителя наблюдается к гентамицину. Возбудитель из тушек кур различался в зависимости от способа выращивания птицы и степени резистентности к антибиотикам.

Данный анализ наглядно демонстрирует повсеместность распространения возбудителя среди поголовья птиц вне зависимости от способа выращивания [18].

Применение желточных иммуноглобулинов для формирования пассивного иммунитета у молодняка животных и птиц посредством перорального применения в качестве кормовых добавок – наиболее перспективное направление для производства IgY для нужд отечественной ветеринарии, уже освоенное и успешно применяемое во многих странах мира.

Исследования, проведенные несколькими группами ученых из разных стран, доказали, что оральное использование специфических желточных иммуноглобулинов одинаково хорошо подходит для лечения и профилактики эшерихиозов у молодняка крупного рогатого скота и свиней [5, 9, 10, 12, 15].

Желточные иммуноглобулины используются в лиофилизированной форме (использовалась сублимационная сушка желтка), что упрощает их применение вместе с кормами и существенно снижает риск развития диареи у молодняка. Исследования, проведенные с использованием разных штаммов *E. coli* на поросятах, показали высокую смертность (25 %) среди поросят контрольных групп от тяжелого течения диареи. В то же время в опытных группах, получавших IgY с кормом, клинические признаки диареи, а также летальность отсутствовали [12].

Во всем мире ведутся исследования по применению конъюгатов антитело-антибиотик для борьбы с бактериальными инфекциями. Бимодальная структура конъюгированной формы антител позволяет усилить противобактериальную эффективность антител за счет сочетанного действия

ключевых свойств антител и антибиотиков [16]. Структурные компоненты антител, обуславливающие их аффинные и эффекторные свойства, играют решающую роль в механизмах антибактериального действия антител. За аффинность антитела к антигену отвечает Fab-фрагмент антитела. Результатом этого взаимодействия является нейтрализация токсинов и/или устранение инфекции. Fc-фрагмент антитела отвечает за активацию эффекторной ветви иммунной системы, инициирующей фагоцитоз опсонированных бактерий, и опосредованный системой комплимента бактериолиз [3, 4, 8].

Антибактериальное действие антител усиливается за счет целевой доставки антибиотика к тому или иному виду бактерий, определяемой Fab-фрагментом антител. Согласно недавним исследованиям, инфекционные агенты могут укрываться от специфических иммунных механизмов путем внутриклеточной инкапсуляции в фагоцитирующие и нефагоцитирующие клетки, обеспечивая себе выживание внутри клеток хозяина, таких как нейтрофилы или другие миелоидные клетки. Большая часть антибиотиков неэффективна против внутриклеточно локализованных бактерий отчасти из-за плохой внутриклеточной проницаемости антибиотиков или из-за резистентности к антибиотикам замаскированных (дремлющих) бактерий. Нагрузка антител антибиотиками усиливает антибактериальный эффект антител и снимает проблемы формирования персистирующих инфекций, что подтверждено результатами доклинических исследований, проведенных на мышах: доказана эффективность конъюгатов антитело-антибиотик против инфекции *Staphylococcus aureus* [16].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование желточных антител расширяет возможности ветеринарии для пассивной иммунизации и терапии бактериальных и вирусных заболеваний, создания тест-наборов для диагностики инфекционных и паразитарных заболеваний, а также открывает перспективы в диагности-

ке онкологии. Исследование и применение желточных иммуноглобулинов – перспективное быстроразвивающееся направление биотехнологии, соответствующее нынешним тенденциям безопасности фармакологических препаратов, экологичности профилактических и терапевтических методов лечения заболеваний животных, птиц и человека.

В дальнейшем наши исследования

будут направлены на разработку методов лечения бактериальных инфекций птиц с использованием препаратов на основе антигенспецифических иммуноглобулинов, конъюгированных с антибиотиками. В РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» имеется необходимый научно-технический потенциал для конструирования подобного рода препаратов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Борисенко, С. В. Иммунофизиологические особенности птиц – доноров биологического сырья для производства диагностических препаратов / С. В. Борисенко, В. Б. Сбойчаков, А. М. Сокурова // *Наука и образование в жизни общества : сб. науч. тр.* – СПб., 2015. – С. 45–49.
2. Иванов, А. П. Опыт применения IgY-технологии для лабораторной диагностики вирусных инфекций / А. П. Иванов, Т. Д. Клеблева, О. Е. Иванова // *Problems of virology.* – 2020. – № 65 (1). – С. 21–26.
3. Каплин, В. С. IgY-технологии. Желточные антитела птиц / В. С. Каплин, О. Н. Каплина // *Биотехнология.* – 2017. – Т. 33, № 2. – С. 29–40.
4. Каплин, В. С. Использование желточных антител птиц (IgY) для пассивной иммунизации сельскохозяйственных и домашних животных / В. С. Каплин, О. Н. Каплина // *Ветеринария Кубани.* – 2018. – № 4. – С. 19–24.
5. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims / G. S. Davis [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 174.
6. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: a review / Y. Mine, J. Kovacs-Nolan // *J. Med. Food.* – 2002. – Vol. 5. – P. 159–169.
7. Efficacy of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) to bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* / Y. H. Zhen [et al.] // *Microbiol.* – 2009. – Vol. 133, № 4. – P. 317–322.
8. Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: a review / E. P. V. Pereira [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2019. – № 73. – P. 293–303.
9. Egg yolk IgY antibodies: a therapeutic intervention against group A rotavirus in calves / C. Vega [et al.] // *Res. Vet. Sci.* – 2015. – № 103. – P. 1–10.
10. Egg Yolk IgY: Protection against Rotavirus induced Diarrhea and Modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves / C. Vega [et al.] // *Vet. Immunopathol.* – 2011. – Vol. 142, № 3–4. – P. 156–169.
11. IgY technology: extraction of chicken antibodies from egg yolk by polyethylene glycol (PEG) precipitation / D. Pauly [et al.] // *J. Vis. Exp.* – 2011. – Vol. 1, № 51. – P. 1–6.
12. Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea / Yawing Sun [et al.] // *Anim. Nutr.* – 2017. – № 3 (4). – P. 322–330.
13. Klemperer, F. Ueber naturliche Immunitat und ihre Verwerthung fur die Immunisirungstherapie / F. Klemperer // *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.* – 1893. – Vol. 34. – P. 356–382.
14. Marchalonis, J. J. Immunity in evolution / J. J. Marchalonis // *Massachusetts; Cambridge : Harvard University Press, 1977.* – P. 1–336.
15. Passive immunization an old idea revisited: Basic principles and application to modern animal production systems / C. J. Hedegaard [et al.] // *Vet Immunopathol.* – 2016. – № 174. – P. 50–63.
16. Persister formation in *Staphylococcus aureus* is associated with ATP depletion / B. P. Conlon [et al.] // *Nature Microbiology.* – 2016. – P. 1–7.
17. Phylogen of immunoglobulin structure and function. Immunoglobulins of the chicken / G. A. Leslie [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1969. – Vol. 130, № 6. – P. 1337–1352.
18. Production of egg yolk immunoglobulin against *Escherichia coli* from White Leghorn and Lohmann Chickens / J. F. Liou [et al.] // *Journal of Animal and Veterinary Advances.* – 2011. – Vol. 10, № 18. – P. 2349–2356.
19. Production of virus specific egg yolk antibodies for the diagnosis of Newcastle disease, infectious bronchitis and Gumboro disease by the direct fluorescent antibody technique / A. Gervelmeyer [et al.] // *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.* – 1998. – № 51 (1). – P. 5–9.
20. Russell, W. M. S. The principles of human experimental technique / W. M. S. Russell, R. L. Burch. – London, UK. – 1959. – P. 1–238.