

УДК:619:616.98:636.1

## ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ІНТЕРФЕРОНУ В СИРОВАТКАХ КРОВІ КОНЕЙ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІЗАМБЕНУ

**Радзиховський М.Л.**, к.вет.н., доцент Житомирського національного агроєкологічного університету, м. Житомир

*В статті представлені дані щодо впливу препарату ізамбен аналогу амізону на вироблення інтерферону в організмі коней. Визначено зміни вмісту інтерферону в сироватках крові коней після застосування препарату імуностимулюючої дії ізамбену, при використанні перещеплювальної лінії культури клітин тетикули поросяти і ентеровірусу свиней. Після застосування ізамбену рівень інтерферону у дослідних коней збільшився, що дає надійний захист організму від вірусу герпесу другого типу. Модифіковано методику визначення рівня інтерферону в сироватці крові коней з використанням реакції мікронейтралізації.*

**Ключові слова:** ізамбен, культура клітин тетикули поросяти, ентеровірус свиней, інтерферон.

**Постановка проблеми.** Досить позитивні результати в лікуванні та профілактиці вірусних хвороб тварин та людей дає новий препарат амізон, який являє собою собою хімічну сполуку з ряду похідних ізонікотинової кислоти, а саме N-метил-4-бензил-карбомідопіддинію йодид. Амізон – іноваційний препарат, який являє собою потужного індуктора інтерферону. Основним фактором неспецифічної імунної дії організму у відповідь на вторгнення віріону є вироблення ендогенного інтерферону, дія якого направлена на блокування проліферації і репродукції збудника в клітинах. Амізон виявляє стимулювальну дію на фактори природної резистентності та імунні показники: відбувається стимуляція функціональної активності Т-лімфоцитів, макрофагів, природних клітин-кілерів. Добре поєднується з іншими препаратами, в тому числі з антибактеріальними, дію яких він потенціює, імунокорегуючими, детоксикуючими засобами [8, 9].

**Аналіз останніх публікацій.** Герпесвірусна інфекція, що викликається збудником другого типу, широко розповсюджена в популяції коней. Захворювання в основному протікає субклінічно, докази патогенної дії вірусу відсутні. П. Тайн (1978) спостерігав ураження органів дихання і очей у новонароджених лошат, обумовлених герпесвірусною інфекцією другого типу (ГВК-2) [1, 2].

Чистокровні породи коней більш сприйнятливі на відміну від аборигенних і напівкровних порід [3].

Значна кількість перехворілих тварин лишаються вірусноносіями і виділяють його в зовнішнє середовище, тим самим заражаючи сприйнятливе поголів'я [4, 5].

Лікування герпесвірусної інфекції другого типу (ГВК-2) на сьогоднішній день в Україні проводиться не на належному рівні.

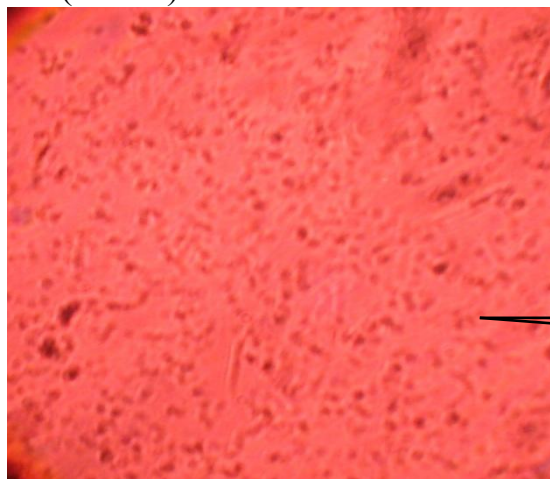
При латентній інфекції, яку викликає ГВК-2 і яка широко розповсюджена серед коней, проведення загальних ветеринарно-санітарних заходів не дає суттєвих результатів. Профілактика гострих спалахів, які виникають внаслідок стресових факторів, складається з утримання лоша і підсисних кобил в належних умовах із збалансованою годівлею [6, 7].

**Мета роботи.** Метою роботи було вивчення впливу препарату ізамбен аналог амізону і його вплив на вироблення інтерферону в організмі коней.

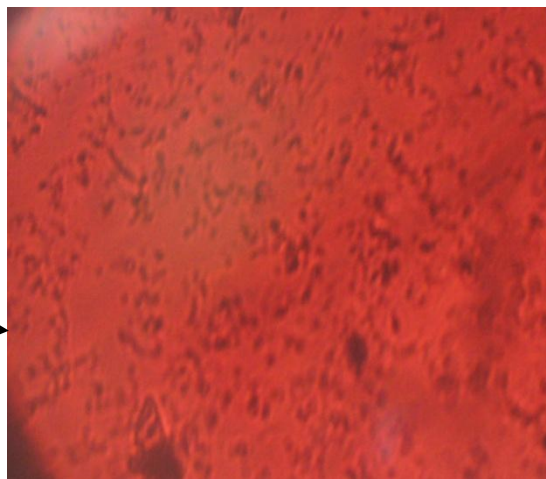
**Матеріали і методи дослідження.** Робота виконувалася на факультеті ветеринарної медицини, в навчально-дослідній лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології Житомирського національного агроєкологічного університету.

Матеріалом для роботи були сироватки крові коней яким застосовували препарат імуностимулюючої дії ізамбен, перещеплювальна культура клітин тестикули поросяти, ентеровірус свиней.

**Результати досліджень і обговорення.** При розробці методики визначення вмісту інтерферону в сироватці крові коней, першим завданням було визначити мінімальну дозу вірусу, який буде викликати ЦПД на культурі клітин за той самий час, що і при стандартному зараженні. Для цього 96 - луночну стерильну плашку засівали культурою клітин тестикули поросяти (ТП). Після утворення суцільного моношару (95 – 100%) через 48 – 72 години вносили вірусомісну рідину (ентеровірус свиней) , яку титрували в лунках (Рис. 1).



**Рис. 1.** Стан перещеплювальної культури тестикули поросяти (x80) – 48 годин



**Рис. 2.** Поява "вікон ЦПД" на 6 добу у заражених культурі клітин ТП

У матрацах з перещеплювальною культурою клітин тестикули поросяти вірусомісна рідина починала викликати ЦПД ентеровірусу на 5 – 7 добу після зараження. Культура клітин після зараження знаходилась в термостаті при температурі 37 °С. Контроль за станом культури клітин в

плашці проводили, починаючи з 3-ої доби під малим збільшенням мікроскопу (10x8). Розведеннях, де чітко проявлялась цитопатогенна дія вірусу, починаючи з 5 доби, вважали за мінімальну дозу вірусу (Рис. 2). В нашому досліді мінімальна доза вірусу становила розведення  $10^{-1}$ .

Після визначення мінімальної дози вірусу, яка викликала ЦПД в перещеплювальній культурі клітин тестикули поросяти, наступним етапом було визначення вмісту інтерферону в пробах сироваток крові коней, яким з кормом задавався препарат ізамбен з розрахунку 1 грам на 100 кг ваги тварини. Препарат задавався три доби і через 30 діб були стерильно відібрані проби нестабілізованої крові з яремної вени шприцом на 20 см<sup>3</sup> з метою отримання сироватки, яку піддавали дослідженням.

Для того, щоб встановити вміст інтерферону в пробах сироваток крові дослідних коней, засівали 96 -луночні стерильні плашки перещеплювальною культурою клітин тестикули поросяти і після утворення суцільного і рівномірного моношару клітин вносили проби сироваток крові, які попередньо стерилізували на водяній бані при температурі 56 – 58 °С протягом 30 хвилин. Через 24 години після внесення сироватки додавали мінімальну дозу вірусу.

Методика визначення інтерферону:

- засівали плашку культурою клітин, де через 72 години утворювався 100% моношар клітин;
- ростове середовище видаляли з лунок плашки і вносили по 100 мкл. підтримуючого середовища;
- в першу лунку вносили 150 мкл. дослідної сироватки крові, яку титрували в розведенні  $\log_2$ ;
- плашку для ретельного контакту і перемішування компонентів вміщали в ексікатор з насиченим CO<sub>2</sub>, який поміщали в термостат при температурі 37,5 °С;
- через 24 години в кожен лунку плашки вносили по 100 мкл  $10^{-1}$  вірусомісної рідини і знов ставили в термостат;
- контроль за проявом ЦПД починали з 3-ої доби і вели щоденний облік 10 діб.

Весь спектр робіт, пов'язаних з культурою клітин, проводили в стерильних умовах міні-боксу при постійному ультрафіолетовому опроміненні; допоміжні предмети опалювались над відкритим полум'ям спиртівки, яка весь час роботи знаходилась в міні-боксі. Робочий інструмент у вигляді багатоканальної і моноканальних піпеток, ванночок для розведення, насадок для піпеток перед використанням автоклаували 30 хвилин під тиском одна атмосфера.

Всі проби ставили в повторностях для більш точного остаточного результату. В якості контролю лишали лунки з підтримуючим середовищем без сироватки і вірусомісної рідини, лунки з мінімальною дозою вірусу для порівняльного контролю і можливості співставляти прояв ЦПД в лунках з

дослідними сироватками крові. Вміст інтерферону в сироватках крові коней затримує прояв цитопатогенної дії на культуру клітин, але в результаті титрування і розведення сироваток крові вміст інтерферона в культурі клітин зменшується. При цьому, на наш погляд, посилюється вплив вірусу на клітини і прояв ЦПД. Таким чином, ми визначили максимальне розведення сироватки крові, яке може стримувати цей руйнівний процес.

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що цитопатогенна дія вірусу проявляється у всіх дослідних тварин у третій лунці (розведення 1:8), тобто сироватки крові містять рівень інтерферона  $3 \log_2$ , а в розведеннях до  $2 \log_2$  (1:4) він затримує прояв цитопатогенної дії на культуру клітин. У контрольних тварин вміст інтерферону становив  $3-4 \log_2$

Виходячи з отриманих даних, можна зробити висновок, що ізамбен не тільки проявляє лікувальний ефект на тварин, позитивно реагуючих до герпесвірусних інфекцій першого та другого типів, а і є стимулятором вироблення інтерферону в крові, що дає змогу захистити організм тварини від різного характеру інфекцій, завдяки утворенню стійкого бар'єру, а саме – виробленого інтерферону.

Вміст інтерферону в досліджувальних пробах сироваток крові коней до та після застосування ізамбену представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Вміст інтерферону в сироватках крові досліджувальних тварин**

Кличка	Рівень інтерферону	
	До застосування ізамбену (титр)	Після застосування ізамбену (титр)
Гава	1:2	1:4
Ластобола	1:2	1:4
Хватка	1:2	1:3
Ігла	1:2	1:4
К-1	1:3	1:3
К-2	1:3	1:3
К-3	1:4	1:4
К-4	1:4	1:4

Дані таблиці 1 свідчать, що в контрольних пробах сироваток крові рівень інтерферону лишився незмінним, а у дослідних, після застосування препарату, відмічається збільшення рівня інтерферону в сироватці крові.

**Висновки**

1. Модифікована методика визначення рівня інтерферону в сироватці крові коней з використанням реакції мікронейтралзації.
2. Після застосування ізамбену рівень інтерферону у дослідних коней збільшився, що дає надійний захист організму від вірусу герпесу другого типу.

### Список використаних джерел:

1. Agius C.T. Equine herpesviruses 2 and 5: Comparisons with other members of the subfamily gammaherpesvirinae / C.T. Agius, M.J. Studdert // *Advances in Virus Research.* – 1994. – Abt. 44. – S. 357-379.
2. Browning G.F. Equine herpesvirus 2 (Equine cytomegalovirus)/ G.F. Browning, M.J. Studdert // *Veterinary Bulletin.* –1988. - Vol. 58. –P. 775-790.
3. Agius C.T. EHV5: comparisons with EHV2 (equine cytomegalovirus), cloning and mapping of a new equine herpesvirus with a novel genome structure / C.T. Agius, H.S. Nagesha ,M.J. Studdert // *Virology.* - 1992. - Abt. 191. – S.176-186.
4. Апатенко В.М. Вирусные инфекции сельскохозяйственных животных / В.М. Апатенко. – Харьков: РВВ ХГЗВА, 2003. – С. 122–125.
5. Edington N. The prevalence of latent Equid herpesviruses in the tissues of 40 abattoir horses / N. Edington, H.M. Welch, L. Griffiths // *Equine Vet. J.* – 1994. – Vol.26. – P. 140–142.
6. Юров К.П. Респираторные болезни лошадей / К.П. Юров // *Ветеринария.* – 2003. – №6. – С.6–8.
7. Юров К.П. Поствакцинальный иммунитет при ринопневмонии у жеребых кобыл / К.П. Юров, М.А. Амирбеков // *Тр. ВИЭВ.* – М., 1984. – Т. 61. – С. 72–76.
8. Бухтіарова Т.А. Експериментальне дослідження впливу нового неопіоїдного анальгетика амізону на периферичну кров та кровотворення / Т.А. Бухтіарова // *Ліки.* – 1996. – № 6. – С. 69-73.
9. Сучасний не стероїдний протизапальний препарат та індуктор інтерферону амізону: перспективи застосування / Т.О. Бухтіарова, В.П. Даниленко, В.С. Хоменко [та ін.] // *Укр. мед. часопис.* – 2003. – №1(33) – С.72-74.

**Радзиховский Н.Л.**  
**Определение содержания интерферона в сыворотках крови лошадей после использования изамбена**

В статье представлены данные о влиянии препарата изамбен аналога амизона на выработку интерферона в организме лошадей. Определены изменения содержания интерферона в сыворотках крови лошадей после применения препарата иммуностимулирующего действия изамбена, при использовании перевиваемой линии культуры клеток

**Radzikhovskiy N.**  
**Determination of maintenance of interferon is in the wheys of blood of horse after application of izamben**

The article presents data on the impact of drug izamben analog amison on production of interferon in the body of horses. The changes in the content of interferon in blood serum of horses after treatment immunostimulatory action izambenu, using cell culture lines perescheplyuvalnoyi pig testicles and enterovirus swine. After applying izambenu level of interferon in experimental horses increased, giving

тестикулы поросенка и энтеровируса свиней. После применения изамбена уровень интерферона у опытных лошадей увеличился, что обеспечило надежную защиту организма от вируса герпеса второго типа. Модифицировано методику определения уровня интерферона в сыворотке крови лошадей с использованием реакции микронеutralизации.

**Ключевые слова:** изамбен, культура клеток тестикул поросёнка и энтеровируса свиней, интерферон.

protection for the body of the second type of herpes virus. Modified method for determining the level of interferon in the serum of horses using reaction mikroneutralizatsiyi.

**Keywords:** izamben, culture of cages of testicular pigling, enterovirus of pigs, interferon.