

VALUE OF MICROBIAL ASSOCIATIONS IN THE PATHOGENESIS OF THE PYONECROTIC DEFEATS OF THE DISTAL DIVISION OF EXTREMITIES IN THE HIGHLY PRODUCTIVE COWS

Fotina T.I., Ulko L.G.

Sumy National Agrarian University

*There was set, that in the development of pathological process at the defeat of extremities an important role is played by microbes *C. perfringens*, *S. aureus*, *A. pyogenes* in association with *D. nodosus* u *F. necrophorum*. Representatives of festering microbes (*C. perfringens*, *S. aureus*, *A. pyogenes*) association with *D. nodosus* and *F. necrophorum* considerably strengthen virulence of the last ones, allowing them by the action of their enzymes considerably faster overcome of the protective barriers of animal organism and cause the heavy defeats of extremities.*

УДК 612.015:615.45

ДЕЙСТВИЕ ИЗАМБЕНА НА ОБРАЗОВАНИЕ *IN VITRO* КОРОНАВИРУСА ГАСТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ

Фролов А.Ф.¹, Задорожная В.И.¹, Жебровская Ф.И.², Мочалин И.А.¹,
Старчеус А.А.³, Маргитич В.М.²

¹ ГП «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней
им. Л.В. Громашевского» АМН Украины, г. Киев, Украина;

² ОАО «Фармак», г. Киев, Украина;

³ Институт ветеринарной медицины, г. Киев, Украина

В представленной работе изучено влияние оригинального отечественного противовирусного препарата Изамбена (4-(N-бензил)аминокарбонил-1-метилпиридиний йодида) на образование в культуре клеток почек эмбриона свиньи коронавируса (штамм Пурдью-115) возбудителя трансмиссивного гастроэнтерита свиней. Показано, что введение его в культуру клеток в дозах 80-160 мкг/см², при инфицирующей дозе вируса равной 4,5 lg ТЦД₅₀, приводит к торможению (сравнительно с группами контроля) в течение 2-3 суток цитопатического действия (ЦПД) вируса.

Установлено, что препарат оказывает вирусостатическое действие на возбудитель трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС). Это может быть связано со снижением способности рецепторов вирусной частицы к её адсорбции на чувствительных клетках или стимуляцией Изамбеном образования интерферона.

Несмотря на определенные успехи в области вакцинопрофилактики трансмиссивного гастроэнтерита свиней, проблема предупреждения и лечения этой инфекции остается до конца не решенной. Этому способствует возникновение и распространение в Европе респираторного коронавируса свиней (РКВС), образовавшегося в результате мутации вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ВТГС), утратившего ген S и, в результате этого, ряд вирулентных свойств, что привело к ограничению его циркуляции в популяции свиней [5]. Тем не менее, периодические вспышки трансмиссивного гастроэнтерита свиней продолжают регистрироваться как в европейских, так и в азиатских странах [4]. Это вынуждает продолжать работы по поиску и изучению эффективных средств и методов борьбы с данной инфекцией.

Особенно это касается химиотерапевтических средств различной структуры и механизма действия с выраженным вирулицидным и вирусостатическим эффектом. Полученные в последнее время молекулярно-генетические данные об общности свойств коронавирусов сельскохозяйственных животных и человека, в том числе патогенных (возбудитель SARS) повышает актуальность и значимость отмеченных исследований [6,7].

Целью работы было изучение влияния Изамбена (4-(N-бензил)аминокарбонил-1-метилпиридиний йодида; альтернативное используемое на практике рацио-

нальное название – N-метил-4-бензилкарбамидопиридиния йодида; для лечения определённых вирусных заболеваний у человека этот препарат зарегистрирован ГП «Государственный фармакологический центр» МЗ Украины под торговым названием Амизон) на репродукцию коронавируса – возбудителя трансмиссивного гастроэнтерита свиней. Промышленный синтез и производство Изамбена / Амизона освоено ОАО «Фармак» (г. Киев). Показано, что данный препарат проявляет противовоспалительные, интерфероногенные, вирусостатические и тормозящие репродукцию вируса гриппа свойства [1]. Учитывая, что коронавирусы и грипп являются РНК-содержащими вирусами, есть основание предполагать общность их реакции на действие различных препаратов, в том числе и химиотерапевтических.

Исследования проводили с применением профилактических и терапевтических схем. Профилактическое действие изучали в эксперименте *in vitro*, на культуре клеток СПЭВ, в которой было сформировано шесть групп:

1. Контрольная I – учитывали рост клеток СПЭВ в культуре;
2. Контрольная II – оценивали рост клеток при добавлении в культуру Изамбена в дозе 80 мкг/см²;
3. Контрольная III – учитывали рост клеток, инфицированных ВТГЭС в дозе 4,5 lg ТЦД50;
4. Группа эксперимента IV – включала культуру клеток, к которым на третьи сутки роста добавляли Изамбен в дозе 80 мкг/см², а в последующие сутки инфицировали ВТГЭС (инфицирующая доза - 4,5 lg ТЦД50);
5. Группа эксперимента V – Изамбен вводили дважды, вторично через сутки после заражения клеток ВТГЭС;
6. Группа эксперимента VI – Изамбен вводили в культуру клеток однократно до заражения клеток ВТГЭС в дозе 160 мкг/см².

Полученные результаты данной серии опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Действие Изамбена, применявшегося по профилактической схеме, на культуру клеток СПЭВ

Группа	Сутки наблюдения								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	% культур клеток с ЦПД50								
I	–	–	–	–	–	–	–	–	–
II	–	–	–	–	–	–	–	–	–
III	–	–	X	–	25,0	100,0	100,0	100,0	100,0
IV	–	–	X	X V	–	–	33,3	100,0	100,0
V	–	–	X	V	–	X	–	100,0	100,0
VI	–	–	X	V	–	–	50,0	100,0	100,0

Примечания: «–» – отсутствие цитопатического действия;

Группы: I – контроль культуры клеток; II – контроль действия Изамбена на культуру клеток; III – контроль действия вируса на клетки; IV – действия Изамбена на культуру зараженных ВТГЭС клеток (доза 80 мкг/см²); V – группа с двукратным (80 мкг/см² x 2) введением Изамбена; VI – профилактическое введение Изамбена в дозе 160 мкг/см²; «x» – сутки введения Изамбена; «v» – сутки введения вируса.

Как видно из таблицы 1, в первых двух группах эксперимента нарушения роста монослоя и состояния клеток в течение всего периода наблюдения не отмечено. Заражение культуры клеток ВТГЭС привело к развитию через двое суток визуально определяемых признаков цитопатического действия вируса в виде нарушения целостности монослоя, изменения формы клеток СПЭВ из фибробласто- и эпителиоподобной на шаровидную, уменьшение их размеров, а также способности пропускать свет (серый и черный цвет). Позднее, на основании окраски этих клеток трипановым синим, была показана их нежизнеспособность.

В четвертой группе профилактическое введение Изамбена задержало до третьих суток развитие ЦПД вируса, которое отмечено у 33,3 % исследованных культур.

Пятая группа эксперимента, Изамбен в которой вводили дважды, характеризуется отсутствием цитопатического действия в течение трёх суток, т.е. на двое суток дольше, чем в 3 группе контроля (вирусной). Шестая группа опыта, характеризующаяся применением повышенной (160 мкг/см²) дозы Изамбена, существенных отличий в динамике и характере действия исследованного препарата не установила.

Кроме изучения профилактического действия Изамбена исследовалась его способность влиять на течение вирусной инфекции в культуре клеток с применением лечебной схемы его применения. Это предполагало введение препарата в дозе 80 мкг/см² однократно за сутки – двое до инфицирования клеток. Оказалось, что подобная схема приводит к сокращению культур с цитопатическим эффектом исследуемого вируса до 50,0 – 66,6 % от взятых в опыт. В то же время показатели ЦПД в контрольных группах составили 100,0 %.

Проведёнными экспериментами была показана зависимость выраженности действия Изамбена от исходной, инфицирующей дозы коронавируса. Оказалось, что её снижение с 4,5 л г ТЦД50 до 0,11 ТЦД 50 сопровождалось на 2, 3, 4 сутки инкубации в термостате (t 37°C) появлением в группе III (контроль вируса) признаков цитопатического воздействия коронавируса. В группах V и VI, получавших Изамбен, этого не наблюдалось у 66,6 % подопытных культур.

С целью выявления характера влияния Изамбена на вирионы коронавируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, рассмотрена возможность сохранения его в персистентном состоянии на протяжении 2-3 суток после введения в культуру исследуемого препарата. К этому времени в монослое клеток вновь возникали признаки острой инфекции (признаки цитопатического эффекта). По-видимому, это связано с активизацией репрессированных воздействием Изамбена инфекционных свойств исследуемого коронавируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, перехода его в инфекционно-активную форму.

Для подтверждения этого предположения было проведено определение наличия исследуемого коронавируса в ростовой среде зараженных им культур с применением по профилактической схеме Изамбена в дозе 80-160 мкг/см² и инфицирующей дозы возбудителя в титре 1,1 л г ТЦД 50. Оказалось, что несмотря на отсутствие цитопатического эффекта в подопытных группах на протяжении 2-3 суток после введения Изамбена, культуральная жидкость их сохраняет признаки наличия инфицирующего коронавируса, что проявляется возникновением цитологических изменений при её введении в культуру интактных клеток. Установленные явления, по видимому, связаны с вирусостатическим действием Изамбена на вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней, что обуславливает временную задержку развития ЦПД и требует, для пролонгации достигнутого эффекта, повторного (через 2-3 суток) введения такой же дозы этого препарата.

Наличие вирусостатического действия Изамбена не исключает возможности его влияния на рецепторы чувствительных клеток, а также способности индуцировать синтез эндогенного интерферона [2,3].

Полученные экспериментальные данные могут служить основанием для включения препарата Изамбен / Амизон в комплекс профилактических и лечебных мероприятий при трансмиссивном гастроэнтерите свиней, а также других инфекций коронавирусной этиологии.

Список літератури

1. Бухтірова, Т. А., Данченко, К. П., Хоменко, К. С. та ін., Сучасний нестероїдний протизапальний препарат та індуктор інтерферону Амізон: перспективи застосування // Укр. мед. часопис. – 2003. – Т. 1, № 33. – С. 72-74. 2. Патент на винахід, Україна, №75813, Застосування 4 – (N – бензил) амінокарбоніл – 1 – тилпіридиній йодиду (амізон), як інгібітора короновирусу трансмісивного гастроентериту свиней. Публ. 15.05.2006. Бюл. № 5. 3. Фролов, А. Ф., Фролов, В. М. Эффективность амизона в лечении и профилактике вирусных инфекций // Укр. мед. часопис, 2005, № 5 / 49, – С. 75-80. 4. Brenner, J., Vadin, H., Peris, et al. Investigation of the first transmissible gastro-enteritis (TYF) epidemics in pigs in Israel // Israel I. Veterinary Med., - 2004, N4. – P. 163-168. 5. Cox, E., Pensaert, M.B., Callebant, P. Intestinal protection against challenge with transmissible gastroenteritis virus of pigs immune after infection with the porcine respiratory coronavirus. // Vaccine. – 1993. – V.I 1, N2. – P. 267-272. 6. Weingartl, H.M., Coops, J., Dzebot, M.A. et al. Susceptibil-

ity of pigs and chickens to SARS coronavirus // Emerging Infectious Diseases. — 2004. — V.10, N2, P. 179-184.
7. Zhang, X., Alekseev, K., Jung, K., et al. Cytokine Responses in Porcine Respiratory Coronavirus — Infected Pigs Treated with Corticosteroids as a Model for Severe Acute Respiratory Syndrome // J. Virol. — 2008. — V.82, N9. — P. 4420-4428.

INFLUENCE OF IZAMBEN ON THE FORMATION IN VITRO OF SWINE GASTROENTERITIS CORONAVIRUS

Frolov A.F.¹, Zadorozhnaya V.I.¹, Zhebrovskaya F.I.², Mochalin I.A.¹, Starcheus A.A.³,
Margitich V.M.²

¹ State Institution «Institute of epidemiology and infectious diseases named after L.V. Gromashevskogo». Kyiv, Ukraine

² «Farmak» Ltd., Kyiv, Ukraine

³ Institute of Veterinary Medicine, Kyiv, Ukraine

Influence of the original domestic antiviral preparation Izamben (4-N-benzyl) aminocarbonyl-1-iodide-methylpyridine) on the formation in the cell culture of swine embryo kidney of coronavirus (strain Purdyu-115) agent of swine transmissible gastroenteritis, has been studied in presented work. There was determined, that preparation has virostatic effect on the agent of swine transmissible gastroenteritis. It may be connected with reduce of the ability of virus particle receptors to its adsorption on sensitive cells or with stimulation of interferon formation by Izamben.

УДК 619:636.082.4:636.2

ВИРУС-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ В ПАТОЛОГИИ ВОСПРОИЗВОДСТВА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Чечеткина Н.П., Павленко М.П., Макеев В.Ф., Данилова И.С., Иваненко В.А.,
Ермоленко А.В., Рибас О.В.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической
ветеринарной медицины», г. Харьков

Изложены данные исследований последних лет по распространению, диагностике, профилактике и лечению заболеваний, нарушающих репродукцию крупного рогатого скота, протекающих в форме смешанных инфекций вирус-бактериальной этиологии (ИРТ, ВД, хламидиоз).

В современном молочном скотоводстве одними из важнейших причин, отрицательно влияющих на развитие отрасли являются нарушения воспроизводительной функции маточного поголовья и заболевания новорожденного молодняка, обусловленные смешанными вирус-бактериальными инфекциями.

Регистрируемые в хозяйствах Украины вирусные инфекции: инфекционный ринотрахеит (ИРТ), вирусная диарея (ВД), парагрипп (ПГ-3), респираторно-синцициальная (RS), аденовирусная (АДВ), рота- и коронавирусные инфекции в ассоциации с бактериальными (хламидиоз, микоплазмоз, иерсиниоз, лептоспироз и др.), наносят ощутимый экономический ущерб животноводству за счет нарушения спермиогенеза у быков-производителей и недополучение качественной спермопродукции, массовых перегулов, эмбриональной смертности (15-20%), абортос и мертворождений (до 30%), нарушения пре- и постнатального развития, переболевания и падежа телят (до 60%), снижения мясной и молочной продуктивности, удлинения сервис-периода (до 150-180 дней), гинекологической патологии, бесплодия и преждевременной выбраковки коров. [6, 7, 8, 9].

В данной статье сообщается об инфекционных абортах в хозяйствах Украины, которые были обусловлены не только инфекционным ринотрахеитом, наиболее опасным вирусным заболеванием, но и другими инфекциями (ВД, хламидиоз). Работа проводилась в молочных хозяйствах с поголовьем до 1000 — 1500 коров, в которых ранее регистрировали 3 и более инфекций, (ИРТ, ВД, ПГ-3 и хламидиоз).