Висновки. 1.Таким чином, найбільш поширеними умовно-патогенними бактеріями, що викликають шлунково-кишкові захворювання у телят, є представники ентеробактерій: кишкові палички (13,16 %), протеї (26,3 %) та клебсієли (7,89 %), а також синьогнійна паличка (7,9 %).

2. Різні ізоляти навіть одного виду бактерій мали різні антибіотикограми, 36,6 % випробованних антибіотиків не мали стримуючої дії на досліджені культури, що свідчить про досить високий рівень антибіотикорезистентності виділеної мікрофлори, що слід враховувати при призначенні антибактеріальної терапії.

Список літератури

1. Симонович, В. М., Бублик, В. М., Головачова, Н. О., Звягінцева, І. С., Бабенко, О. П., Германенко, М. М // Ефективність цеолітів та «Байкалу ЕМ-1» при сальмонельозі телят. – Вісник Сумського нац. аграрн.ун – ту. – Суми, 2009. – № 3 (24). – С. 115-118. ***2.*** Апатенко, В.М. Иммунодефицит у животных // Ветеринария. – 1992. – №5. – С.29-30. ***3.*** Апатенко, В.М. Смешанные инфекции сельскохозяйственных животных. – К.: Урожай. – 1990. – 200 с. ***4.*** Ушкалов, В.А. Энтеротоксигенность условно-патогенных бактерий как маркер их патогенности // Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы: Материалы межд. науч. конф. – Харьков, 20-22 сентября, 1995. – С. 200-202. ***5.*** Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стецнли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 800 с. ***6.*** Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.В. Определитель зоопатогенных микроорганизмов: Справочник, – М.: Колос, 1995.–319 с.

ETIOLOGICAL IMPORTANCE OF CONDITIONALLY-PATHOGENIC MICROORGANISM UNDER BACTERIAL INFECTION AT CATTLE

Zvyaginseva I.S.
Lugansk National Agrarian University

It has been established in the article that conditionally-pathogenic bacteria, are intestine sticks, Proteus, Klebsiella and Ps. aeruginosa.

УДК 619:576.535

ЦИТОТОКСИЧНА ТА АНТИВІРУСНА ДІЯ ТИЛОРОНУ *IN VITRO* НА МОДЕЛІ ГЕРПЕСВІРУ КОНЕЙ ПЕРШОГО ТИПУ

Зоз О.С., Клестова З.С.
Інститут ветеринарної медицини УААН, м. Київ

У статті представлені дані про дослідження цитотоксичного впливу, визначення максимально допустимої концентрації тилорону для роботи у перещеплюваних культурах клітин тварин та первинний скринінг антивірусної дії препарату відносно герпесвірусу коней І типу в системі in vitro. Результати свідчать про перспективність подальшого вивчення противірусних механізмів та терапевтичних властивостей тилорону, що може сприяти розробці антивірусних препаратів нового покоління.

Проблема пошуку ефективних противірусних препаратів обумовлена високою захворюваністю та поширенням вірусних інфекцій, які часто супроводжуються розвитком хронічних форм або різноманітних усклад-

нень. Зокрема , захворювання, викликані вірусами родини Herpesviridae, створюють значну проблему як для мільйонів людей у всьому світі, так і для ветеринарної медицини. Віруси цієї родини викликають хворобу Ауєскі, інфекційний ларинготрахеїт птиці, хворобу Марека, інфекційний ринотрахеїт великої рогатої худоби, ринопневмонію коней.

Труднощі пошуку антивірусних речовин пов'язані з особливостями репродукції вірусів, змінами, що викликані ними не лише у метаболізмі клітини інфікованого організму, а і в її геномі. Враховуючи це, однією із головних вимог до антивірусних препаратів є їх нешкідливість як для клітини, так і для живого організму в цілому. Особливий інтерес викликають препарати, які поряд із прямою антивірусною дією володіють інтерфероногенними, імуномоделюючими, протизапальними властивостями, а також мають широкий спектр дії. Одним із таких препаратів є тилорон.

Тилорон (2,7-Біс(2-диетиламіноетокси)флюорен-9-он) – синтетична низькомолекулярна сполука, індуктор інтерферону, який є основною діючою речовиною декількох пероральних лікарських препаратів (тилорону гідрохлориду, аміксину, лавомаксу, тилаксину). Він зареєстрований як у Росії, так і в Україні у якості противовірусного імуномодулюючого препарату, який показаний при герпесвірусній, цитомегаловірусній, хламідійній інфекціях, вірусних гепатитах, ГРВІ, грипі та ін. Відомо, що тилорон пригнічує клітинний имунітет та стимулює гуморальний [1]. Дослідження тилорону почались ще у 1970 році. Не зважаючи на вищесказане, у науковій літературі багато суперечливих даних про тилорон [2]. Багато вчених ставлять під сумнів його інтерфероногенність, не вивчені механізми вираженої протизапальної дії тилорону [3]. Крім того, відомо, що даний препарат є перспективним антиканцерогенним засобом відносно деяких видів раку вірусної етіології. Тилорон є цікавим для подальшого дослідження як *in vivo*, так і *in vitro*.

Дані про застосування тилорону при герпесвірусних інфекціях коней у літературі відсутні, що і обумовило мету наших досліджень – вивчити цитотоксичну та антивірусну дію тилорону *in vitro* відносно герпесвірусу коней I типу.

Матеріали і методи. Предметом наших досліджень було вивчення цитотоксичної та антивірусної дії тилорону. Використовували чотири варіанти системи *in vitro* – перещеплювані культури клітин: ВНК-21 (культура клітин нирки новонародженого сірійського хом'ячка), СНЕВ (культура клітин нирки ембріону свині версенізона), ПТП (культура клітин перещеплюваних тестікул поросяти) та Vero (культура клітин нирки зеленої мавпи). У якості тестового об'єкту використовували герпесвірус коней першого типу, штами ЮЛ та EQ Herpes 040 (з вихідними титрами інфекційної активності 7,01±0,08 та 7,14±0,06 lg $ТЦД_{50}/см^3$ відповідно).

Культивування клітин проводили у суміші поживних середовищ 199 та ДМЕ (1:1) з додаванням 10 % сироватки крові великої рогатої худоби, прогрітої 1 час при +56 ^{0}С для попередження контамінації мікоплазмами. Для пересіву культур клітин використовували суміш 0,02 % розчину Версену та 0,25 % розчину трипсину (5:1). Періодично культури клітин тестували на відсутність контамінації мікроорганізмами на тіоглі-

колевому середовищі та м'ясо-пептонному бульйоні у відповідності до ДСТУ 4483:2005.

Для дослідження цитотоксичної дії та визначення максимально допустимої концентрації тилорону використовували 96-лункові культуральні планшети, у яких вирощували культури клітин СНЕВ, ВНК-21, ПТП та Vero. Дослідні концентрації тилорону (5000 мкг/см^3, 2500 мкг/см^3, 1250 мкг/см^3, 625 мкг/см^3, 313 мкг/см^3, 156 мкг/см^3, 78 мкг/см^3, 39 мкг/см^3, 20 мкг/см^3, 10 мкг/см^3) вносили у підтримуюче середовище на сформований моношар клітин (у дослідах використовували не менше 10 лунок для кожного розведення) та інкубували при +37 ^{0}С з подачею 5 % CO_2 протягом 96 годин. Стану моншару культури клітин контролювали кожні 24 години після внесення розчинів під мікроскопом, оцінюючи наявність чи відсутність цитотоксичного ефекту (морфологічних змін клітин, дегенерації моношару та ін.) у порівнянні з інтактним контролем культур клітин. За МДК (максимально допустиму концентрацію) приймали концентрацію тилорону, яка не викликала видимих дегенеративних змін клітин та моношару у порівнянні з контролем.

Первинне вивчення антивірусної активності препарату проводили у культурі клітин СНЕВ. На сформований клітинний моношар, відмитий розчином Хенксу, вносили вірусну суспензію та інкубували 2 години при +37 ^{0}С з подачею 5 % CO_2. Потім у лунки додавали підтримуюче середовище із вмістом тестованих концентрацій тилорону (78 мкг/см^3; 7,8 мкг/см^3; 0,78 мкг/см^3).

Для кожної концентрації використовували окремий планшет з культурою клітин. Поряд з дослідними лунками залишали лунки для контролю вірусу та контролю культури клітин. Планшети інкубували при +37 ^{0}С з подачею 5 % CO_2 протягом 96 годин. Кожні 24 години лунки планшету досліджували під мікроскопом, кінцевий результат враховували через 96 годин. Титр інфекційної активності вірусу визначали за Рідом та Менчем [4, 5].

Результати досліджень. Нами була визначена МДК тилорону для усіх дослідних перещеплюваних культур клітин — ВНК-21, СПЭВ, ПТП та Vero, яка склала 78 мкг/см^3 (табл.1). Дана концентрація препарату не викликала дегенеративних змін клітинного моношару. При тестуванні більш високих концентрацій тилорону вже через 24-48 годин спостерігали цитотоксичну дію – клітини округлювались та починали відокремлюватися від поверхні планшета, змінювалось pH підтримуючого середовища в кислую сторону.

Після визначення МДК було проведене дослідження антивірусної активності тилорону у дозі 78мкг\см^3 та нижчих концентрацій з метою визначення МАК (мінімально активної концентрації) препарату. З тестованих концентрацій 78 мкг/см^3; 7,8 мкг/см^3; 0,78 мкг/см^3 для штамів ЮЛ та EQ Herpes 040 активними у рівній мірі виявились концентрації 78мкг/см^3 та 7,8мкг/см^3. Концентрація тилорону 0,78мкг/см^3 не виявила достовірної антивірусної активності. Таким чином, МАК із досліджених нами концентрацій тилорону склала 7,8 мкг/см^3 та володіла вираженою антивірусною активністю, достовірно знижуючи титр інфекційної активності штамів герпесвірусу I типу ЮЛ та Herpes 040 (Табл.2).

Таблиця 1 — Визначення максимально допустимої концентрації (МДК) тилорону в культурах клітин СНЕВ, ВНК-21, ПТП та Vero

КК	*n*	*Тестовані концентрації, мкг/см³*										*МДК, мкг/ см³*
		5000	*2500*	*1250*	*625*	*313*	*156*	*78*	*39*	*20*	*10*	
СНЕВ	10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	78
ВНК-21	10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	78
ПТП	10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	78
Vero	10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	78

Примітка: МДК – максимально допустима концентрація; n – повторність дослідів; КК – культури клітин; «+» - дегенерація моношару клітин; «-» - моношар клітин без ознак дегенерації (через 96год.); $p \leq 0,05$.

Таблиця 2 — Антивірусна активність тилорону у культурі клітин СНЕВ (n= 3)

	Титр інфекційної активності штаму «ЮЛ», lg $ТЦД_{50}$/см³	*Титр інфекційної активності штаму EQ Herpes 040, lg $ТЦД_{50}$/см³*
Контроль вірусу	7,01±0,08	7,14±0,06
вірус+тилорон у дозі 7,8мкг/см³	4,82±0,25	5,02±0,25
Інгібіція інфекційного титру, lg $ТЦД_{50}$\см³	2,19±0,17	2,12±0,19

Було визначено також хіміотерапевтичний індекс (ХТІ) препарату тилорон по відношенню до герпесвірусу коней І типу, який складає: ХТІ = МДК / МАК= = 78 мкг/ см³ **:** 7,8 мкг/ см³ = 10.

Висновки. Таким чином, отримані нами дані, що характеризуються показниками МДК, МАК та ХТІ, дозволяють віднести препарат тилорон до перспективних антивірусних засобів, придатних для застосування у ветеринарній медицині при терапії інфекцій, викликаних герпесвірусом коней І типу. Даний препарат є перспективним для подальших досліджень його активності щодо вірусів інших родин вірусів, як ДНК-, так і РНК-вміщуючих, механізмів його дії та безпечності для культур клітин та тварин.

Список літератури

1. Collins FM (October 1980). Mechanism of cellular Mechanism of cellular suppression induced by oral tilorone treatment of mice. Infect. Immun. 30 (1): P.289–296. ***2.*** Michael Türck, Prof. Dr. Joachim E. Schultz (1981). «Immunstimulation». Pharmazie in unserer Zeit 10 (2): P.33 - 40. ***3.*** Hiyama Y, Kuriyama K (July 1991). «Dissociation between antiinflammatory action of tilorone and its interferon inducing activity». Agents Actions 33 (3-4): P.229–232. ***4.*** Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с. ***5.*** Харіна, А.В., Будзанівська, І.Г., Поліщук, П.В., Вступ до хіміотерапії вірусних інфекцій. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 144 с.

CYTOTOXICITY AND ANTIVIRAL PROPERTIES OF THE TILORONE *IN VITRO* SYSTEM ON THE EQUINE HERPESVIRUS I MODEL

Zoz O.S., Klestova Z.S.
Institute of Veterinary Medicine NAASU, Kiev

In the article the investigations of cytotoxic action and definition of the maximal possible concentration of the tilorone for animal cell cultures and tests for the primary screening of preparations antiviral action against equine herpesvirus I in vitro system. The results confirm the perspective of the further antiviral mechanisms investigations and researching of the therapeutic properties of the tilorone and could be useful in the new generation of antiviral drugs creating.

УДК 619: 371: 579. 841

ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУНОРЕЗИСТЕНТНОГО СТАТУСУ ТА РЕАКЦІЇ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПСЕВДОМОНОЗІ ПТИЦІ

Зон Г. А., Ващик Є. В.
Сумський національний аграрний університет

Мороз О. С.
Районна державна лабораторія ветеринарної медицини, м. Балаклія

Проведено вивчення імунорезистентого статусу та реакції органів імунної системи бройлерів при експериментальному псевдомонозі. Досліджено білковий профіль сироватки крові курчат (загальний білок – за методом Лоурі, білкові фракції – методом електрофорезу на хроматографічному папері). Визначено абсолютну та відносну масу органів у порівнянні з контролем. Виявлено зниження γ-глобулінів, відносної маси тимусу та бурси Фабриціуса, збільшення маси селезінки. Отримані результати свідчать, що псевдомоноз викликає імуносупресію організму птиці. Подальші дослідження направлені на вивчення причин пригнічення імунітету при псевдомонозі та розробку ефективних заходів боротьби з цією інфекцією.

Сьогодні в умовах стрімкого зростання темпів розвитку птахівничої промисловості ветеринарна наука все частіше приділяє увагу з'ясуванню чинників, що викликають імуносупресію організму птиці. Наукові повідомлення вказують на велику різноманітність факторів, що пригнічують імунітет птиці. Актуальним у зв'язку з цим є вивчення та удосконалення методів діагностики набутих імунодефіцитів, розробка схем і засобів корекції імунітету [2].

В умовах «мікробного тиску», який виникає при інтенсифікації птахівничого виробництва, необхідно створювати умови, за яких організм птиці повинен нормально функціонувати та давати повноцінну продукцію [6]. Цього можна досягнути лише у тому випадку, якщо птиця має достатньо високу резистентність та імунітет [3].