

## THERAPEUTIC EFFICACY OF «МИКОБАКАР-С» FOR DERMATOMYCOSIS, SUPERFICIAL YEAST MYCOSIS, BACTERIOSIS, AKAROSIS OF DOGS AND CATS

Kasyanov, A.I., Litvinov, A.M.

State Research Institution of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya. R. Kovalenko, Moscow

The liquid complex product has been worked out with antifungus disease, antibacterial and acaricidal actions for external treatment of sick carnivores (dogs and cats), in short terms provides 99-99.5 % of therapeutic effect. The preparation is harmless for external application doesn't stain the skin and it's derivatives, is easily washed off with water.

УДК 619:578.24

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СВОЙСТВ АНОЛИТА НЕЙТРАЛЬНОГО *IN VITRO*

Кононоп Д.С., \*Бабак В.А., \*Пунтус И.А.

Витебская Государственная Академия Ветеринарной Медицины, г. Витебск,

\*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии» им. С.Н. Вышелесского, г. Минск

Из истории медицины и ветеринарии хорошо известны нетоксичные средства, к которым микроорганизмы принципиально не могут выработать реакций адаптации. Это пламя, солнечный свет (ультрафиолетовая составляющая) и другие, т.е. субстанции, которые либо сами являются метастабильными, либо индуцируют состояние метастабильности в живых клетках уничтожаемых микроорганизмов. Метастабильное состояние микроорганизма завершается его необратимой денатурацией или дезинтеграцией, а сам метастабильный фактор биоцидного действия прекращает существование. Наиболее близким «холодным» аналогом физических метастабильных субстанций является электрохимически активированный нейтральный анолит, вырабатываемый из разбавленного водного раствора хлорида натрия [1,2,4].

К сожалению, большинство научных работ посвящены изучению антимикробного и дезинфицирующего действия анолита нейтрального [3]. Что касается противовирусного действия, то здесь еще много вопросов требуют дальнейшего изучения. В связи с этим, нами была поставлена цель – определить противовирусное действие раствора анолита нейтрального на вирусные модели в культуре клеток.

**Материалы и методы исследования.** Для изучения противовирусных свойств проводили культивирование вирусов болезни Ауески и вирусной диареи крупного рогатого скота на культуре клеток ВНК 21 с добавлением анолита нейтрального. Препарат получали на установке типа «Аквamed», согласно методике приготовления электроактивированных растворов. Культивирование клеток проводили в матрасах или культуральных планшетах с дальнейшей инкубацией в термостате. Культуры клеток перед внесением вирусосодержащей суспензии и анолита нейтрального промывали раствором Хенкса и вносили поддерживающую среду. Контроль стерильности анолита нейтрального проводили путем посева на основные питательные среды, контроль вируса проводили путем заражения лабораторных животных или культуры клеток.

Постановку опыта проводили в несколько этапов. Первоначально проводили рутинное определение наличия ЦПД или его задержку при внесении в культуру клеток вирусосодержащей суспензии и раствора анолита нейтрального. Далее проводили отработку доз внесения компонентов и изучение возможных токсичных свойств анолита нейтрального на культуру клеток. На последнем этапе проводили непосредственно определение противовирусного действия анолита нейтрального. Постановку опыта проводили в 3-х вариантах: анолит нейтральный вносили в культуру клеток одновременно с вирусом, после контакта с вирусом, после контакта вируса и клетки. Моделирование опыта формировалось с учетом возможной комбинации такого взаимодействия в организме животных и человека.

**Результаты работы.** Используемый для постановки опытов раствор анолита нейтрального был стерильным и обладал биоцидным действием. При посеве на МПА, МПБ и среду Сабура в течение 7 суток не наблюдалось первичного роста микроорганизмов.

Применение раствора анолита нейтрального в концентрации до 300 мг хлора не оказывало токсического действия на культуры клеток. При этом монослой сохранялся, в среде наблюдалось незначительное количество округлых клеток. В более высоких концентрациях отмечали токсическое действие, которое выражалось в дегенерации клеток и отслоении клеточного монослоя от поверхности матраса. При внесении различных соотношений поддерживающей среды и анолита нейтрального монослой клеток оставался без видимых признаков дегенерации при соотношении среда/анолит 2 к 1 и выше. При других соотношениях регистрировали дегенерацию клеточного монослоя.

Анализируя противовирусные свойства раствора анолита нейтрального, при различных вариантах постановки опыта, результаты исследований варьировали, но в целом можно отметить следующие закономерности. При взаимодействии раствора анолита нейтрального и вируса болезни Ауески регистрировали задержку цитопатического действия на 48 часов. При взаимодействии вируса диареи крупного рогатого скота и анолита задержку цитопатического действия регистрировали в течение суток. При этом в контроле культуры клеток, раствора анолита монослой оставался без изменений, в контроле вируса – ярко выраженное цитопатическое действие в течение 24 часов.

**Выводы.**

1. При постановке опытов *in vitro* с использованием раствора анолита нейтрального в концентрации свыше 300 мг хлора препарат оказывает токсическое действие на культуру клеток.

2. При внесении раствора анолита нейтрального в матрас с поддерживающей средой в соотношении 1 к 2 не наступает токсического действия на культуру клеток.

3. Раствор анолита нейтрального оказывает вирусостатическое действие на вирусы семейства *Herpesviridae* и *Togaviridae*, вызывает задержку ЦПД на 24-48 часов.

В результате проведенных исследований отработана схема и методика постановки опытов по изучению противовирусного действия анолита нейтрального, которую можно использовать для дальнейших исследований на других вирусных моделях. Раствор анолита нейтрального при определенных условиях оказывает вирусостатическое действие, приводит к задержке ЦПД на 24-48 часов.

*Список литературы*

1. Бурак, И.И. Электрохимические технологии приготовления активированных растворов – новое направление в медицине, фармации, промышленности и сельском хозяйстве / И.И. Бурак, В.С. Морозов, Н.А. Татаренко // Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации: тезисы докладов 59-ой научной сессии университета, посвященной 70-летию ВГМУ 26-27 февраля 2004 года. – Витебск, 2004. – С. 169-170. 2. Закомырдин, А.А. Электрохимически активированные растворы в ветеринарии / А.А. Закомырдин // Ветеринарный консультант. – №8. – 2002. С. 2. 3. Противобактерицидная и вирулицидная активность анолита, полученного на установке «4 АКВАМЕД»

## **Розділ 5. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів**

/ А.Б. Юркевич [и др.] // Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам: материалы Международной научно-практической конференции 27-28 мая 2003г. – Минск, 2003. – С. 101-104. 4. Электрохимическая активация: очистка воды и получение полезных растворов / В.М. Бахир [и др.] – М.: ВНИИИМТ, 2001. – 176 с.

### **DEFINITION OF ANTIVIRAL PROPERTIES OF ANOLYTE NEUTRAL SOLUTION IN VITRO**

**Konotop D.S.**

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine,*

**Babak V.A., Puntus I.A.**

*RUP "Institute of Experimental Veterinary Science named after S.N. Vysheslesky", Minsk, Belarus*

*The features of anolyte neutral solution on some viruses in cell culture are investigated. The received results of researches confirm antiviral activity of anolyte neutral solution.*

УДК 619:578.834.1:636.2:616-076

### **РЕЗУЛЬТАТИ КОМІСІЙНОГО ВИПРОБУВАННЯ НАБОРУ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В РЕАКЦІЇ ІМУНОФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ**

**Кучерявенко В.В., Кучерявенко Р.О.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків,*

**Напненко О.О.**

*Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ*

Коронавірусна інфекція великої рогатої худоби (ВРХ) – гостро перебігаюче, висококонтагіозне вірусне захворювання молодняка ВРХ, яке характеризується профузним проносом, дегідратацією організму, розвитком катарального або катарально-геморагічного ентероколіту, виснаженням та високою летальністю. Україна є стаціонарно неблагополучною державою щодо коронавірусної інфекції великої рогатої худоби, тому успішна боротьба з цією інфекцією досягається завдяки своєчасній лабораторній діагностиці [1, 2].

Реакція імунофлуоресценції (РІФ) визнана високочутливою, специфічною та експресною реакцією для діагностики багатьох вірусних захворювань. РІФ дозволяє в короткий термін отримувати точний результат щодо наявності або відсутності коронавірусу в клінічному або патологічному матеріалі [3, 4]. У лабораторії вірусології ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» вперше в Україні розроблено набір для діагностики коронавірусної інфекції великої рогатої худоби в реакції імунофлуоресценції.

Згідно з наказом № 50 від 09.07.2010 р. директора Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів проведені міжвідомчі комісійні випробування „Набору для діагностики коронавірусної інфекції великої рогатої худоби в реакції імунофлуоресценції”. У проведенні досліджень крім авторів даної статті приймали участь: директор державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, доктор ветеринарних наук Ушкалов В.О. (голова комісії); в. о. начальника головного управління ветеринарної медицини в Харківській області Головачов В.Ф.

**Матеріали та методи.** Випробування проводили згідно з затвердженою програмою за наступними показниками: зовнішній вигляд, колір; наявність сторонніх домішок, тріщин флаконів; щільність укупорки флаконів; наявність вакууму у флаконах; масова частка вологи; розчинність; стерильність; активність та специфічність. Для чого використовували: мікроскоп люмінесцентний; термостат з температурою підігріву 37 °С; холодильничка побутовий; предметні знежирені скельця; накривні скельця; піпетки мірні на 1, 2, 5, 10 см<sup>3</sup>; колби мірні; фільтрувальний папір; ацетон хч; 0,2 М розчин фосфатно-буферний (рН 7,2-7,4); специфічний флуоресціюючий імуноглобулін до коронавірусу ВРХ; позитивну та негативну до коронавірусу сироватки; розчин синьки Еванса; препарати з культурою клітин трахеї теляти (ТрТ), котра була інфікована коронавірусом, вірусом інфекційного ринотрахеїту (ІРТ), вірусної діареї (ВД), парагрипу-3 (ПГ-3) та препарати з не інфікованою культурою клітин.

#### **Проведення досліджень та результати.**

**1. Визначення зовнішнього вигляду, кольору.** Визначення зовнішнього вигляду та кольору проводили візуально в пронизуючому світлі відповідно до ТУ У 24.4-00497087-106:2010.

**Результат:** Специфічний флуоресціюючий імуноглобулін до коронавірусу ВРХ мав вигляд сухої, гомогенної, аморфної маси жовтогарячого кольору. Позитивна та негативна до коронавірусу ВРХ сироватки мали вигляд сухої, гомогенної, аморфної маси сіро-жовтого кольору. Синька Еванса мала вигляд рідини синього кольору.

**2. Наявність сторонніх домішок, тріщин флаконів.**

Визначення сторонніх домішок та тріщин флаконів проводили візуально в пронизуючому світлі. Сторонні домішки та тріщини флаконів згідно з ТУ У 24.4-00497087-106:2010 повинні бути відсутні.

**Результат:** Сторонні домішки та тріщини флаконів відсутні.

**3. Визначення щільності укупорки флаконів.**

Щільність укупорки визначали шляхом прокручування ковпачка. Укупорка повинна бути щільною.

**Результат:** Укупорка щільна.

**4. Наявність вакууму у флаконах.**

Наявність вакууму у флаконах визначали за допомогою апарату типу Д'Арсенваль.

**Результат:** спостерігали яскраве фіолетове світіння, що свідчило про наявність вакууму у флаконах.

**5. Визначення масової частки вологи.**

Масову частку вологи визначали відповідно до ГОСТ 24061-89.

**Результат:** Масова частка вологи складала 3,0 %.

**6. Визначення розчинності.**

Розчинність визначали шляхом додавання дистильованої води в об'ємі, що відповідає об'єму препаратів до висушування (1,0 см<sup>3</sup>).