

## СТАН ГІПОБІОЗУ ПРИ ЕШЕРИХІОЗІ: ЧАСОВІ РАМКИ ВИЖИВАНOSTІ ТВАРИН І УСПІШНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ЗА РАННЬОЇ ТА ПІЗНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБИ

Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ)

ilonatekdemir@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дана робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри біохімії і фізіології тварин імені академіка М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України «Вивчення молекулярних механізмів регуляції метаболічних процесів та продуктивних функцій організму тварин» (державний реєстраційний № 110/94-ф 0117U001252).

**Вступ.** Дослідження стану штучного гіпобіозу і використання цього явища на благо людства – одна з найбільш обговорюваних та обнадійливих для дослідників тем останніми роками [1,2]. Дослідження специфіки молекулярних підґрунть гіпобіозу, часові інтервали та прийнятність застосування методу у різних випадках непокоять науковців, адже відповіді на ці та супутні питання можуть забезпечити людство гідним, а основне безпечним альтернативним шляхом лікування багатьох хвороб. Мрії фантастів стають реальністю не тільки в світі техніки, але й в медичних починаннях, адже застосування гіпобіозу вже дозволяє проводити оперативні втручання із мінімальним набором анестетиків, що полегшує перебіг післяопераційного періоду у хворих. У стані гіпобіозу тварини несприйнятливі до штучного інфікування мікроорганізмами, радіоактивного ураження [3,4]. Це наштовкує на думку, що гіпобіоз мав би кардинально змінювати типову картину перебігу інфекційних захворювань і, ймовірно, його застосування може похитнути сучасні уявлення та методики лікування інфекцій, наприклад, ешерихіозу.

Ешерихіоз (колібактеріоз, коліінфекція) – це хвороба інфекційного характеру, що провокується деякими штамми бактерії *Escherichia coli* Migula і від хвороби не застраховані ні тварини, ні люди. Інфекція часто супроводжується порушенням загального стану організму, лихоманкою, млявістю, зниженням апетиту, блідістю шкіри, діареєю, гепатомегалією. Інтенсивність прояву симптомів залежить від штаму, що спровокував захворювання, стану організму, віку хворого, тощо [5]. Найнебезпечніші ешерихіози для дітей та людей похилого віку, причому несвоєчасно проведене лікування підвищує статистику смертності від хвороби, адже часті діареї приводять до зневоднення організму що, в свою чергу, провокує порушення водно-солевого балансу, блокує нормальне функціонування серцево-судинної, дихальної і центральної нервової систем. Згідно даних ВООЗ смертність від гострих кишкових інфекцій поступається лише гострим респіраторним захворюванням.

При ешерихіозі дуже важливі часові рамки від ідентифікації до правильного підібраного лікування хвороби (для більшості штамів максимальний розвиток симптоматики хвороби і виснаження організму складає 3-4 дні), тому постає питання нових підходів у нейтралізації хвороби. Одним із таких потенційно результативних і максимально комфортних для організму ми розглядаємо застосування стану штучного гіпобіозу.

**Метою роботи** було дослідження впливу стану штучного гіпобіозу та виведення із цього стану на часові рамки виживаності тварин при нелікованому ешерихіозі за умов застосування гіпобіозу при початкових ознаках хвороби, прогресуючій симптоматиці та на стадії виснаження організму.

**Об'єкт і методи дослідження.** У дослідах використовували молодих білих безпородних щурів масою  $60 \pm 5$  г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Експерименти проводилися відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою», за загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими І національним конгресом України з біоетики (2001 р.), та згідно закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р. Введення в стан штучного гіпобіозу проводили методом Бахметьєва-Джайя-Анжуса (модель закритої посудини) [6,7] поступово (упродовж 3 год.) охолоджуючи тварин у герметичній камері об'ємом 3 дм<sup>3</sup> при температурі зовнішнього середовища 3-5 °С.

Моделювання інфекційно-запального процесу (ешерихіозу) у піддослідних тварин проводили використовуючи ентеротоксигенний штам *Escherichia coli* 06:K – (ATCC 25922) [8]. Інфікування піддослідних тварин проводили перорально (*per os*), в дозі  $3 \times 10^8$  Кюо/50 г маси тіла щура. Для цього використовували добову (24 год.) культуру бактерій, які попередньо інкубували в м'ясо-пептонному поживному бульйоні, дозу бактерій стандартизували за МкFarland [9]. Ці тварини (n=20 особин) слугували контрольною групою, для них попередньо було встановлено, що перші симптоми розвитку хвороби мали місце переважно на 4-у добу від моменту інфікування (тобто інкубаційний період тривав 3 доби). Тварини в цей момент ставали малорухливими, відмовлялися від корму, але потребували багато пиття. Оскільки на другу добу у тварин спостерігалось неодноразове блювання та діарея, а на 3-4 добу кількість рясних водянистих випорожнень підвищувалася до 10, то

нами було прийнято рішення відбирати тварин в експеримент на 4-у добу після інфікування, а 1-у добу появи симптомів характеризувати як початкову стадію хвороби, 2-у добу – вважати добою прогресуючої симптоматики, а 3-у добу ми розглядали як період тотального виснаження організму. Отримані нами попередні експериментальні дані узгоджуються із відомими часовими рамками клініки розвитку інфекційного процесу у людей, спровокованого ентеротоксигеними штамами [10]. Слід відмітити, що на 4-5 добу симптоми ешерихіозу слабшали і лише 30 % особин, в яких симптоми ешерихіозу були чіткими, гинуло, отже відсоток виживання для тварин контрольної групи склав 70 %.

Виходячи із мети дослідження дослідних тварин було поділено на III групи по 10 щурів у кожній та апробовано наступну схему експерименту (табл.).

Після виведення інфікованих тварин I-III груп із стану штучного гіпобіозу через 1, 3 і 6 діб оцінювали виживаність/смертність тварин, яку вираховували як кількість тварин певної групи, що вижили при певному терміні перебування у стані гіпобіозу, до загальної кількості тварин у цій групі та виражали у відсотках. Також оцінювали наявність/відсутність симптомів ешерихіозу після виведення із стану гіпобіозу на 1, 3 і 6 добу. Розрахунки проводили, враховуючи кількість тварин із симптомами ешерихіозу певної групи при певному часовому інтервалі гіпобіозу, до кількості тварин, що вижили у цій групі і теж виражали у відсотках [11]. Слід відмітити, що тварин, виведених із стану гіпобіозу розміщали в клітках по одній (для уникнення можливого повторного зараження від потенційних носіїв хвороби) та пропонували стандартний для віварію корм, не обмежуючи потребу в воді.

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Statistica 8.0. із використанням t-критерію Стюдента, вираховували середнє арифметичне та стандартну похибку ( $M \pm m$ ), достовірність відмінностей вказана при  $P \leq 0,05$ .

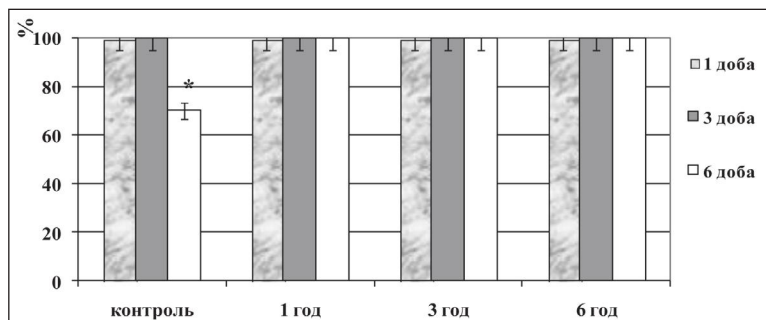
**Результати досліджень та їх обговорення.** Застосування стану гіпобіозу в умовах проведення оперативних втручань, усунення порушень фізіологічного характеру чи покращення витривалості при фізичних навантаженнях сьогодні дуже актуальне. В літературі, залежно від виду піддослідного організму та мети дослідника, подаються різні терміни утримання тварин в стані гіпобіозу. Так, в експериментах з гіпобіозу, проведених на рибі, з метою економічної вигідності її транспортування, відмічено, що максимальна тривалість стану гіпобіозу без нанесення непоправної шкоди організму – 72 год. [12]. Максимальна зареєстрована експериментальна тривалість стану гіпобіозу для щурів, після якого фізіологічні показники тварин поверталися до стану норми – 24 години [4]. Однак більшість дослідників у своїх роботах керу-

**Таблиця – Схема дослідження впливу стану гіпобіозу на перебіг ешерихіозу у тварин, відібраних в експеримент на різних стадіях розвитку інфекції**

Тривалість перебування в стані штучного гіпобіозу	Стадія хвороби	Початкова стадія хвороби Група I	Прогресуюча симптоматика Група II	Тотальне виснаження організму Група III
1 год		n=10	n=10	n=10
3 год		n=10	n=10	n=10
6 год		n=10	n=10	n=10

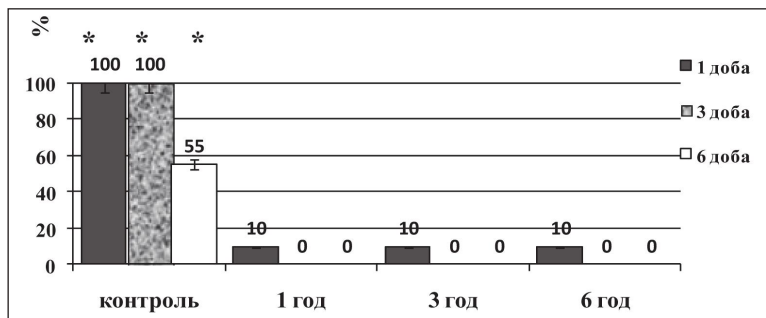
ються часовим інтервалом в 0-3 години [7,13]. Таким чином, вибір часового проміжку, в якому тварина буде перебувати в стані штучного гіпобіозу залишається за експериментатором і це є фактично новим для науки інформаційним полем. В нашому експерименті стан гіпобіозу був змодельований упродовж 1, 3 і 6 годин. В результаті проведених досліджень встановлено, що введення тварин в стан штучного гіпобіозу на етапі початкової стадії хвороби, незалежно від обраної тривалості досліді супроводжується практично повним усуненням симптомів ешерихіозу після виведення тварин із штучної сплячки і зупинкою розвитку інфекційного процесу як такого. При цьому, загибель тварин від ешерихіозу, що протікає на фоні гіпобіозних змін організму, нівельована до 0 % (100 % виживаності, рис. 1).

Встановлено, що для 10% тварин після виведення із стану гіпобіозу спостерігалися такі симптоми як відмова від їжі, млявість, загальмованість реакції, нечасті (менше 1 разу на годину) блювотні позиви. Весь цей перелік симптомів вже не дублювався ні наступного дня, ні в інші дні спостережень (рис. 2).



**Рисунок 1 – Відсоток тварин, що вижили, введених у стан гіпобіозу на етапі початкової стадії хвороби (група I) через добу, 3 і 6 діб.**

Примітка: \* – різниця вірогідна, порівняно із показниками дослідних тварин на 6-у добу експерименту,  $P \leq 0,05$ .



**Рисунок 2 – Частота виявлення симптомів ешерихіозу у тварин I групи, що вижили через 1, 3 і 6 діб після виведення зі стану гіпобіозу.**

Примітка: \* – різниця вірогідна, порівняно із дослідними тваринами на 1, 3 і 6-у добу експерименту.

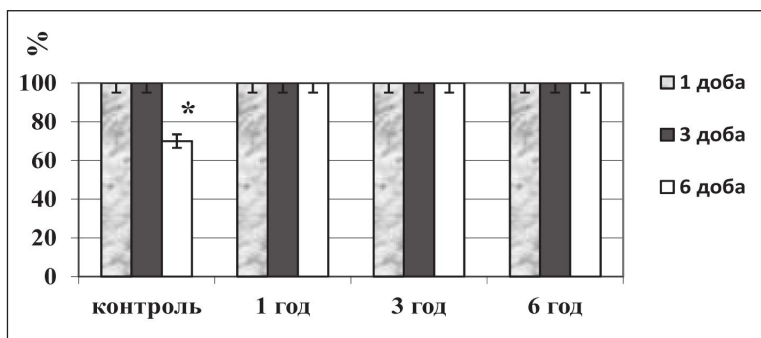


Рисунок 3 – Відсоток тварин, що вижили, введених у стан гіпобіозу на етапі прогресуючої симптоматики хвороби (група II) через 1, 3 і 6 днів від застосування стану гіпобіозу.

Примітка: \* – різниця вірогідна, порівняно із показниками дослідних тварин на 1, 3 і 6-у добу експерименту,  $P \leq 0.05$ .

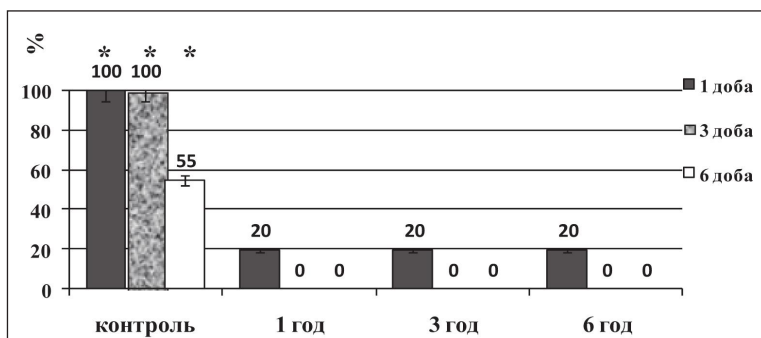


Рисунок 4 – Частота виявлення симптомів ешерихіозу у тварин II групи, що вижили через 1, 3 і 6 днів після виведення із стану гіпобіозу.

Примітка: \* – різниця вірогідна, порівняно із показниками дослідних тварин на 1, 3 і 6-у добу експерименту,  $P \leq 0.05$ .

Отже, стан гіпобіозу попри те, що є стресовим для організму, не тільки призупиняє розвиток інфекційного процесу, але й усуває його причини. Що ж може лежати в основі такого ефекту? Наразі однією із можливих причин фактично бактерицидного (а не бактериостатичного) ефекту гіпобіозу нам видається справа в біології бактерій. Потрапивши в організм піддослідної тварини і активно використовуючи його як середовище існування, бактерії інтенсивно розмножуються в сприятливих для них умовах (чим власне і провокують появу типових при ешерихіозі симптомів). Гіпобіоз, входження в який триває 3 години, супроводжується змінами макроорганізму, які можна вважати несприятливими для розмноження аеробної бактерій – це і зниження температури тіла до 17 °C, і, як відомо, зміни в енергетичному обміні клітин – пригнічення використання кисню мітохондріями клітин, дихальних та фосфорилуючих процесів в їх структурах [13]. Як відомо, несприятливі умови провокують мікроорганізми формувати спори, однак *E. coli*, як і більшість грам-негативних бактерій, не здатна їх формувати. Звісно, такі міркування чисто теоретичного характеру, однак, самі результати узгоджуються із дослідженнями, де згадано, що у стані гіпобіозу тварини не гинуть і не хворіють від штучного зараження мікробами, вірусами та ін. [3].

Подібну картину досліджуваних показників реєстрували і для II дослідної групи, в яку відбирали тварин на стадії прогресуючої симптоматики хвороби. Всі інфіковані тварини, після введення у стан штучного гіпобіозу і виведення з нього через 1, 3 і 6 годин,

зберігали життєздатність і через 1, 3 і 6 днів не було втрати експериментальних матеріалів (рис. 3).

При цьому невиразна симптоматика ешерихіозу (млявість, нечасті блювання і акти дефекації, відмова від їжі) мала місце тільки на 1-у добу після виведення із стану гіпобіозу у кожного 5-го піддослідного щура (рис. 4).

Подальші спостереження за цією групою дозволили виявити, що серед дослідних тварин не було жодного випадку розвитку ешерихіозу з типовими для нього стадіями. Вважаємо, що симптоми, які спостерігали на першу добу після виходу із стану гіпобіозу, можна розглядати як залишкові – організм очищувався від мікротіл загинлих бактерій природним шляхом. Окрім цього, тривалість самого стану гіпобіозу – 1, 3 чи 6 годин не впливало на кінцевий результат, отримані показники були ідентичними в цих дослідях.

Для тварин групи III, яких вводили в стан штучного гіпобіозу на стадії тотального виснаження організму від ешерихіозу, зафіксований певний відсоток смертності – 20 %, 10 % і 30 % залежно від того, який часовий термін перебування тварин у стані гіпобіозу був апробований – 1, 3 чи 6 годин (рис. 5). Причому загибель тварин реєстрували тільки упродовж перших 24 годин після виведення їх із стану гіпобіозу, хоча типові для хвороби симптоми реєстрували серед тварин, що вижили, і на 3-у добу після експерименту (рис. 6).

Отримані результати ми намагалися пояснити, виходячи із відомого механізму розвитку ешерихіозної інфекції, що провокується ентеротоксигенними штамами *E. coli*. Отже, після потрапляння у шлунково-кишковий тракт, бактерії починають активно розмножуватися в ньому. Цей процес супроводжується колонізацією кишківника за допомогою фімбрії, формування яких характерне для ентеротоксигенних штамів. Наступним «кроком» бактерій є продукція термостабільних або термолабільних ентеротоксинів які, в свою чергу, викликають розлади водно-електролітного обміну, порушення проникності слизових оболонок кишок. Симптоматично це проявляється у вигляді діареї, разом із слизом та водянистими каловими масами під час якої у зовнішнє середовище потрапляють нові «екземпляри» кишкової палички. Фактично макроорганізм виконав необхідне для збереження штаму призначення для *E. coli* – побув в ролі інкубатора. При цьому токсини, утворення яких супроводжує життєдіяльність ешерихій, завдяки порушенню проникності слизових оболонок кишок, мають змогу потрапити в кров, чим спричиняють токсикоз і супутні цьому процесу симптоми.

З наукової точки зору стан початкових симптомів, середньої важкості та тотального виснаження організму відрізняється кількістю бактерій, які встигли розмножитися в цьому організмі та заповнити його внутрішньокішковий простір, а їх секрети – потрапити в кров. Для організму стан початку захворюван-

ня, і повного виснаження відрізняється кількістю неуражених ділянок (площі) шлунково-кишкового тракту та кількістю ендотоксинів у крові, що провокує утворення білків гострої фази, відповідь імунної системи, біохімічні зміни, спрямовані на утилізацію чужорідного чинника та відновлення гомеостазу. Отже, успішна протидія ешерихіям можлива або за рахунок застосування препаратів, що блокують функціональну активність бактерій, або ж підвищують резистентність організму до них.

Що ж відбувається, коли організм, що знаходиться на стадії тотального виснаження, ввести в стан гіпобіозу? Діяльність імунної системи в стані гіпобіозу можна назвати «сплячою», «бездіяльною»: індекс завершеності фагоцитозу, фагоцитарне число, будь яка фагоцитарна активність не виявляються, перебувають у стані «нуля». Через це не реєструється розвиток запальних процесів, відторгнення трансплантатів, тощо [2]. Отже, ефективно протидіяти ешерихіям, титр яких в організмі на момент його виснаження значно вищий, ніж на початкових стадіях хвороби, не можливо. Однак не слід забувати, що організм у стан гіпобіозу потрапить не тільки з неліквідованими збудниками інфекції, але й тими, які в цей момент знаходилися на стадії лізису фагоцитами (чи фагоцитозу). Оскільки рівень метаболізму при гіпобіозі знижений до 50 %, а процеси газообміну, структура ліпідного бішару плазмалеми, імунні і реактивні властивості організму змінені, то резистентність організму різко зростає, і інфекція не проявлятиме себе. Однак при виході із стану гіпобіозу та відновленні всіх функцій організму мікроорганізми, їх фрагменти та ендотоксини повинні бути утилізовані, а до того їх присутність, очевидно, спричиняє імунологічні реакції та супроводжується стресом. Оскільки на першу добу після виходу тварин групи III із стану гіпобіозу ми визначили смертність 20-30 % (виживаність 70-80 % відповідно), а незначні симптоми спостерігали і через 3 доби, але не через 6, то вважаємо причиною цього є не повторний розвиток ешерихіозу, а результат ліквідації організмом наслідків експериментального інфікування.

Слід відмітити, що для групи III реєструються відмінності у виживаності, що залежали від тривалості апробованого стану гіпобіозу. Найкращий результат був зареєстрований для тварин, які перебували 3 години в умовах гіперкапнії та гіпоксії. Серед них же і було достовірно менше тварин із симптомами ешерихіозу через 1 та 3 доби. Крім цього, саме при такій тривалості гіпобіозу (3 години) рівень смертності (10 %) достовірно нижчий від контрольних величин тварин, які в стані гіпобіозу не перебували (30 %), що дозволяє говорити про те, що шляхом застосування гіпобіозу навіть на останніх стадіях розвитку ешерихіозу можна знизити ризик смертності від хвороби принаймні на 20 %.

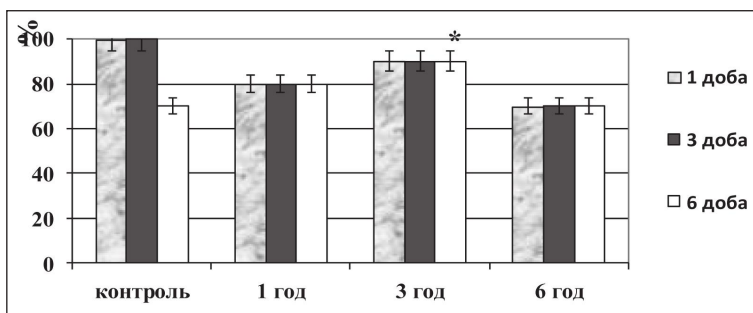


Рисунок 5 – Відсоток тварин, що вижили, введених у стан гіпобіозу на етапі тотального виснаження організму від хвороби (група III) через 1, 3 і 6 днів від застосування стану гіпобіозу.

Примітка: \* – різниця вірогідна, порівняно із показниками контрольних тварин на 6-у добу експерименту,  $P \leq 0.05$ .

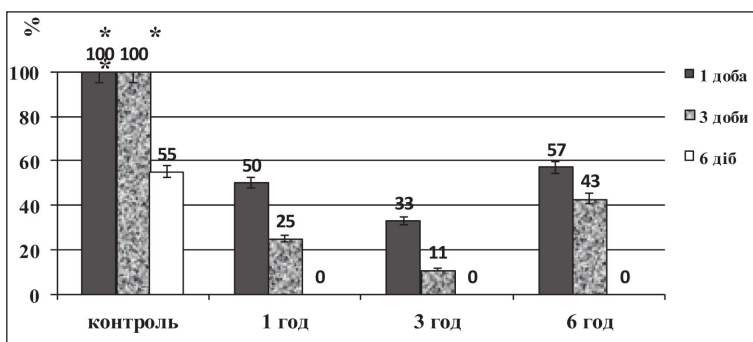


Рисунок 6 – Частота виявлення симптомів ешерихіозу у тварин III групи, що вижили через 1, 3 і 6 днів після виведення із стану гіпобіозу.

Примітка: \* – різниця між контрольними та дослідними показниками вірогідна на відповідну добу експерименту,  $P \leq 0.05$ .

### Висновки

1. В результаті проведених досліджень встановлений чіткий алгоритм моделювання експериментального ешерихіозу. Виявлено, що при пероральному інфікуванні організму молодих щурів ентеротоксигенним штамом *Escherichia coli* O6:K – (ATCC 25922) в дозі  $3 \times 10^8$  Кюо/50 г маси тіла щура, розвиток інфекційного процесу тривав 6-7 днів, з яких інкубаційний період становив 3 доби. На 1-у добу інфекції спостерігались перші симптоми хвороби, на 2-у добу фіксувалась стадія прогресуючої симптоматики ешерихіозу, 3-4 доба інфекції – стадія тотального виснаження організму. Без лікування виживаність тварин становила 70 %.

2. Встановлено позитивну роль гіпобіозу на динаміку інфекційного процесу. Введення тварин у стан гіпобіозу на 1, 3 і 6 годин на етапі перших симптомів хвороби (I група) і на стадії прогресуючої симптоматики (II група) знижувало смертність щурів до 0 %. В той же час для 10 % тварин I групи і 20 % тварин II групи на першу добу після виведення їх із стану гіпобіозу відмічена млявість, відмова від їжі та нечасті блювотні позиви.

3. Виявлено підвищення виживаності в стадії тотального виснаження хворих на ешерихіоз тварин III групи на 20% за умови 3-х годинного введення їх в стан штучного гіпобіозу.

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні кластеру механізмів, які лежать в основі бактерицидного ефекту стану гіпобіозу на збудники ешерихіозу.

**Література**

1. Melnychuk SD, Morozova VS, Khyzhniak SV, Voitsitskiy VM. Pryroda ta bioenerhetychni mekhanizmy shtuchnoho hipobiozu. Naukovi pratsi. Tekhnohenna bezpeka. 2013;198(210):92-5. [in Ukrainian].
2. Melnychuk SD, Khyzhniak SV, Morozova VS, Boiko VV, Babich LV, Voitsitskiy VM. Biokhimichni pokaznyky krovi shchuriv za umov shtuchnoho hipobiozu. Bioresursy i pryrodokorystuvannya. 2013;5(3-4):5-11. [in Ukrainian].
3. Vykhoanets VI. Pokaznyky enerhetychnoho obminu v orhanizmi tvaryn za umov shtuchnoho hipobiozu [avtoreferat]. Kyiv, 2005. 23 s. [in Ukrainian].
4. Timofeev NN. Iskusstvenny'j gipobioz [monografiya]. Pod redakciej Gogolinoj EA. M.: Mediczina; 1983. 192 s. [in Russian].
5. Olkhovska OM. Osoblyvosti klinichnoho perebihu i shliakhy udoskonalennia likuvannia kyshtkovykh infektsii u ditei na suchasnomu etapi. Annals of Mechnikov Institute. 2011;4:258-61. [in Ukrainian].
6. Andjus RK, Smith AU. Reanimation of adult rats from body temperatures between 0 and +2 °C. J. Physiol. 1956;128(3):446-72.
7. Melnychuk SD, Vykhoanets VI. Vplyv umov shtuchnoho hipobiozu na enerhetychnyi obmin u shchuriv. Ukrainyskiy biokhimichnyi zhurnal. 2005;77(3):131-5. [in Ukrainian].
8. ATCC Escherichia coli (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 25922™) Strain Designations: FDA strain Seattle 1946 [DSM 1103, NCIB 12210] /Type Strain: no/ Biosafety Level: 1. Available from: [https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/25922.aspx?geo\\_country=ru](https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/25922.aspx?geo_country=ru)
9. McFarland Standart -For in vitro use only- Catalogue No. TM50-TM60/ Available from: [http://www.dalynn.com/dyn/ck\\_assets/files/tech/TM53.pdf](http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf)
10. Baluta IM, Voronkina IA. Sovremennye podkhody k etiopatogenezu esherikhiozov. Annals of Mechnikov Institute. 2009;4:10-4. [in Russian].
11. Panasenko OS. Esherykhioz perepeliv (biolohichni vlastyvoli zbudnyka, diahnozyka ta profilaktyka) [avtoreferat]. Kharkiv, 2008. 17 s. [in Ukrainian].
12. Sysoliatin S. Shtuchnyi vuhlekyslotnyi hipobioz – alternatyvnyi shliakh zberezhennia ryby pidchas transportuvannya. Natsionalne vyrobnytstvo y ekonomika v umovakh reformuvannya: stan i perspektyvy innovatsiinoho rozvytku ta mizhrehionalnoi intehtatsii: zb. nauk. prats mizhnar. nauk.-prakt. konf. 28 zhovtnia 2016 r. (PDATU, m. Kamianets-Podilskyi). Ternopil: Krok; 2016. s. 109-11. [in Ukrainian].
13. Melnychuk SD, Khyzhniak SV, Morozova VS, Stepanova LI, Umanska AO, Voitsitskiy VM. Enerhetychna funktsiia mitokhondrii kardiomiotsytiv shchuriv za shtuchnoho hipobiozu. Fiziolohichnyi zhurnal. 2015;61(2):15-22. [in Ukrainian].

**СТАН ГІПОБІОЗУ ПРИ ЕШЕРИХІОЗІ: ЧАСОВІ РАМКИ ВИЖИВАНІСТІ ТВАРИН І УСПІШНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ЗА РАННЬОЇ ТА ПІЗНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБИ****Цвіліховський В. І., Текдемір І. О., Махендірараса Л. П.**

**Резюме.** В результаті проведених досліджень виявлено, що при пероральному інфікуванні організму молодих щурів ентеротоксигенним штамом *Escherichia coli* ATCC 25922 в дозі  $3 \times 10^8$  Куо/50 г маси тіла щура, розвиток інфекції можна поділити на стадію перших симптомів хвороби (1-а доба), стадію прогресуючої симптоматики ешерихіозу (2-а доба), стадію тотального виснаження організму (3 доба). Без відповідного лікування смертність тварин сягала 30 %.

Виявлена позитивна роль стану гіпобіозу на організм в ракурсі динаміки інфекційного процесу, що залежало від етапу розвитку ешерихіозу, на якому тварин було відібрано в експеримент. Введення тварин у стан гіпобіозу на 1, 3 і 6 годин на етапі перших симптомів хвороби і на стадії прогресуючої симптоматики знижувало смертність щурів до 0 %. При цьому тільки для 10 % і 20 % тварин на першу добу після виведення із стану гіпобіозу відмічена млявість, відмова від їжі, нечасті блювотні позиви, чого надалі не фіксувалося. Таким чином, впровадження гіпобіозу на цих стадіях носить виражений бактерицидний ефект, адже після виведення тварин із стану гіпобіозу інфекція більше не турбує їх. Тривалість гіпобіозу у 1, 3 і 6 годин на початковій стадії хвороби і стадії прогресуючої симптоматики є ефективною. Введення у стан гіпобіозу хворих на ешерихіоз тварин на стадії тотального виснаження їх організму є ефективним за умови, що тварини в стані штучної гібернації проведуть 3 години. Це підвищує виживаність тварин на 20 % порівняно із контрольними.

**Ключові слова:** гіпобіоз, ешерихіоз, стадія початку хвороби, стадія прогресуючої симптоматики, стадія тотального виснаження організму.

**СОСТОЯНИЕ ГИПОБИОЗА ПРИ ЭШЕРИХИОЗЕ: ВРЕМЕННЫЕ РАМКИ ВЫЖИВАЕМОСТИ ЖИВОТНЫХ И УСПЕШНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА В УСЛОВИЯХ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ****Цвилюховский В. И., Текдемир И. А., Махендирараса Л. П.**

**Резюме.** В результате проведенных испытаний установлено, что при пероральном инфицировании организма молодых крыс энтеротоксигенным штаммом *Escherichia coli* ATCC 25922 в дозе  $3 \times 10^8$  КуЕ/50 г массы тела крысы, развитие инфекции можно разделить на стадию первых симптомов болезни (первые сутки), стадию прогрессирующей симптоматики эшерихиоза (вторые сутки), стадию полного истощения организма (3 сутки). Без соответствующего лечения смертность животных достигала 30 %.

Виявлена положителна роль стану гіпобіоза на організм в ракурсі динаміки інфекційного процесу, що зависело від етапу розвитку ешерихіоза, в якому тварини були відібрані в експеримент. Введення тварин у стан гіпобіоза на 1, 3 і 6 годин на етапі перших симптомів хвороби і на стадії прогресуючої симптоматики знижувало смертність щурів до 0 %. При цьому тільки для 10 % і 20 % тварин на першу добу після виведення із стану гіпобіозу відмічена млявість, відмова від їжі, нечасті блювотні позиви, чого надалі не фіксувалося. Таким чином, впровадження гіпобіозу на цих стадіях носить виражений бактерицидний ефект, адже після виведення тварин із стану гіпобіозу інфекція більше не турбує їх. Тривалість гіпобіозу у 1, 3 і 6 годин на початковій стадії хвороби і стадії прогресуючої симптоматики є ефективною. Введення у стан гіпобіозу хворих на ешерихіоз тварин на стадії тотального виснаження їх організму є ефективним за умови, що тварини в стані штучної гібернації проведуть 3 години. Це підвищує виживаність тварин на 20 % порівняно із контрольними.

**Ключевые слова:** гипобиоз, эшерихиоз, стадия начала болезни, стадия прогрессирующей симптоматики, стадия полного истощения организма.

**STATE OF HYPOBIOSIS DURING *E. COLI* INFECTION: A TIME FRAMEWORK OF ANIMAL SURVIVAL AND SUCCESS OF METHOD APPLICATION IN CONDITIONS OF EARLY AND LATER DIAGNOSIS OF DISEASES**

**Tsvilikhovskiy V., Tekdemir I., Makhendirarasa L.**

**Abstract.** Escherichiosis is an infectious disease whose intensity of manifestation depends on the strain that triggered the disease, the condition of the organism, the age of the patient, etc., and the effectiveness of treatment is determined by timely identification of the disease and adequately selected therapeutic agents. The use of hypobiosis in case of escherichiosis can be a fundamentally new and most effective way of eliminating the disease and recovering the body.

**Goal.** Investigate the influence of the state of hypobiosis and removal from this state on the time frames of survival potential of animals with untreated escherichiosis in the context of the hypobiosis application at the initial signs of the disease, progressive symptoms and at the stage of exhaustion of the organism.

**Methods.** The introduction into the state of artificial hypobiosis of rats weighing  $60 \pm 5$  g was performed using the Bakhmetev-Andjus method, tested duration of hypobiosis was 1, 3, and 6 hours. Escherichiosis was modelled using *Escherichia coli* ATCC 25922, at a dose of  $3 \times 10^8$  CVE/50 g. The first, second and third days from the onset of symptoms were considered as the initial stage of the disease, progressing and the stage of total exhaustion of the organism. The percentage of survival/mortality of animals and the presence/absence of symptoms of the disease were evaluated in 1, 3 and 6 days after removal from the state of hypobiosis.

**Results.** The introduction of animals into the state of artificial hypobiosis at the initial stage of the disease, regardless of the chosen duration of the experiment, is accompanied by almost complete elimination of the symptoms of escherichiosis after removing the animals from artificial hibernation and stopping the development of the infectious process. In this case, the death of animals from escherichiosis occurring against the background of hypobiotic changes in the body, is levelled to 0 %. Rejection of food, lethargy, inhibition of reaction, infrequent vomiting was observed only in 10 % of animals after removal from the state of hypobiosis. This whole list of symptoms was no longer duplicated the next day or the other days of observations. Animals selected for the experiment at the stage of progressive symptoms of the disease after removal from the state of hypobiosis in 1, 3 and 6 hours showed 100 % survival. Inexpressive symptoms of escherichiosis occurred in 20 % of animals only on day 1 after removal from hypobiosis. Subsequently, no cases of development of infection with the typical stages were recorded for these animals, therefore, the recorded symptoms can be considered as a result of self-purification of the body from the dead bacteria. Among animals introduced into the state of artificial hypobiosis at the stage of total exhaustion of the body from escherichiosis, 20 %, 10 % and 30 % mortality in accordance with the duration of 1, 3 and 6 hours of experimental hypobiosis were recorded. The deaths were only recorded within the first 24 hours after removal from artificial hibernation. Symptoms typical of the disease were recorded in surviving animals and on day 3 after the experiment. Therefore, the highest survival rate is characteristic of animals that have been in hypercapnia and hypoxia for 3 hours. Among them, there were significantly fewer animals with symptoms of escherichiosis after 1 and 3 days. Thus, by applying hypobiosis, the risk of death from the disease can be reduced by at least 20 % even at the last stages of escherichiosis.

**Conclusions.** A clear algorithm for simulation of experimental escherichiosis in young animals is established – in case of oral infection the development of the infectious process lasts 6-7 days: the incubation period is 3 days, the animals are sick for 3-4 days. The first day of infection is the initial stage of the disease, the second day is the stage of progressive symptoms of escherichiosis, the third or fourth day of infection is the stage of total exhaustion of the body.

The use of hypobiosis has a positive effect on the dynamics of the infectious process, depending on the stage of development of escherichiosis, at which the animals were selected for experiment and the duration of action of this state. The introduction of hypobiosis, irrespective of its duration, reduced the mortality of rats to 0 % at the initial stage and the stage of progressive symptoms. Once the animals have been removed from the state of hypobiosis, the infection does not return. The introduction of animals with escherichiosis into a state of hypobiosis at the stage of total exhaustion of their body is effective, provided that the animals spend 3 hours in the state of artificial hibernation. This increases animal survival by 20 % compared to controls.

**Key words:** hypobiosis, *E. coli* disease, initial stage of the disease, stage of progressive symptoms, stage of total exhaustion of the body.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 13.11.2019 року*