УДК 619:615.37(476)

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРЕПАРАТА ФАНИФЕРОН НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАТНОГО А- И Г-ИНТЕРФЕРОНА

П.А. Красочко[1], В.А. Прокулевич[2], М.М. Усеня[1], Е.Е. Патиевская[1]

[1] – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

[2] – УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 16.07.2014 г.)

Аннотация. *Приведены результаты изучения токсикологических свойств препарата Фаниферон на основе рекомбинатного α- и γ-интерферона. При изучении максимально переносимой дозы, раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки, аллергенных свойств и безвредности препарата Фаниферон на собаках и кошках установлена безопасность препарата.*

Summary. *Results of studying of toxicological properties of a preparation Faniferon on the basis of recombinant α-and γ-interferons are given. The safety of the preparation is established after studying on dogs and cats the most transferable dose with an irritant action on skin and mucous membranes, allergenic properties and harmlessness of the preparation Fanniferon.*

Введение. Заболевания вирусной этиологии плотоядных животных наносят большой экономический ущерб пушному звероводству и собаководству. В патогенезе этих заболеваний существенную роль играет иммунная система животных и высокая степень их инфицированности возбудителями инфекционных заболеваний, что ведет к повышенной заболеваемости и гибели животных.

В патогенезе вирусных заболеваний плотоядных определяющую роль играет вирусный фактор, так называемый «вирусный эффект проникновения». Данный эффект состоит в том, что даже слабопатогенный вирус, обладающий цитопатическим действием, разрушает покровный эпителий респираторного или желудочно-кишечного тракта на фоне низкого уровня неспецифической и специфической резистентности организма. Вирусы-возбудители заболеваний плотоядных животных в процессе своей репродукции способствуют угнетению основных звеньев клеточного иммунитета. Например, вирус чумы плотоядных из-за своей пантропности репродуцируется в иммунокомпетентных клетках – Т- и В-лимфоцитах, нейтрофилах, гомеопатических клетках селезенки. В этой связи происходит уменьшение активности Т- и В-лимфоцитов, мононуклеарных фаготицирующих клеток – нейтрофилов и моноцитов.

При данных заболеваниях, наряду с изменениями в клеточном звене иммунитета, важное место принадлежит и изменениям гуморального звена. Факторы специфического гуморального иммунитета (иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, антитела) являются ответом иммунной системы на воздействие вирусов-возбудителей респираторных инфекций биосинтезом специфических антител, а факторы неспецифического иммунитета (лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови, содержание бета-лизинов, интерферона и др.) свидетельствуют о состоянии защитных механизмов организма животного и об их взаимодействии с возбудителями инфекции [4].

Лечение вирусных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных является одной из важных и актуальных проблем ветеринарии. Применяемые с лечебной целью антибиотики и химиопрепараты воздействуют только на возбудителей бактериальных инфекций, но наряду с положительным воздействием на течение заболевания вызывают ряд негативных побочных эффектов: аллергические реакции, возникновение антибиотикоустойчивых форм микроорганизмов, повреждающее действие костной ткани, развитие дисбактериоза кишечника, угнетение иммунологической реактивности организма, гиповитаминозы, нарушение обмена аминокислот, микро- и макроэлементов.

Поэтому в современной ветеринарии все шире применяются иммуностимуляторы. Однако их применение при вирусных инфекциях должно избирательно и специфически подавлять репродукцию вирусов и не затрагивать процессов жизнедеятельности клеток и систем организма. Из известных в настоящее время средств противовирусного действия практическое применение смогли найти лишь отдельные, одними из которых являются интерфероны. Интерфероны относятся к биологическим противовирусным неспецифическим средствам. Они представлены практически во всех клетках организма и направлены на подавление репликации вирусов, их элеменацию и санацию организма.

Накопленная в последние годы информация приблизила нас к пониманию контрольно-регуляторных функций систем интерферона и иммунитета и их роли в поддержании биологического гомеостаза. Несмотря на тесные прямые и обратные связи между этими системами, становятся все более ясными основные отличия в направленности их действия. Если главной функцией иммунной системы является контроль за белковым постоянством многоклеточных популяций организма, то ведущую роль в надзоре за генетическим постоянством организма принадлежит системе интерферона. Соответственно иммунная система имеет специализированные клетки и органы, для нее харак-

терна специфичность реагирования на чужеродную информацию. Но наиболее перспективной является система интерферона, которая не имеет ни специализированных клеток, ни специализированных органов, т. к. каждая клетка может быть заражена вирусом и должна иметь систему распознавания и элиминации чужеродной генетической информации. Интерфероновый ответ может быть активирован с самого раннего времени и реализован фактически во всех клетках.

Схематически механизм действия интерферонов можно представить следующим образом: интерфероны связываются в клетке со специфическим рецептором, что ведет к синтезу клеткой около тридцати протеинов, обеспечивая тем самым различные эффекты интерферона. В частности, синтезируются регуляторные пептиды, которые препятствуют проникновению вируса в клетку, синтезу новых вирусов в клетке, стимулируют активность цитотоксических Т-лимфоцитов и макрофагов. Антивирусное действие интерферонов происходит не непосредственно при взаимодействии их с вирусом, а опосредованно через клеточные реакции. Ферменты и ингибиторы, синтез которых индуцирован интерфероном, блокируют начало трансляции чужеродной генетической информации, разрушают молекулы информационных РНК. Взаимодействуя с клетками иммунной системы, стимулируют фагоцитоз, активность естественных киллеров, экспрессию главного комплекса гистосовместимости. Непосредственно воздействуя на В-клетки, интерферон регулирует процесс антителообразования.

В лаборатории Биотехнологии кафедры микробиологии Белорусского государственного университета разработан препарат Фаниферон, активным веществом в котором является смесь рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферонов.

Противовирусные химиопрепараты обладают высокой токсичностью. Но интерферон, по данным литературы, обладает низкой степенью токсичности.

Цель работы – изучение токсикологических свойств препарата Фаниферон на основе рекомбинатного α- и γ-интерферона.

Материал и методика исследований. Изучение токсичности смеси рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферонов (препарат Фаниферон) проводили в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В экспериментах использовали следующие материалы и реагенты: препарат Фаниферон, вода дистиллированная, белые мыши, крысы, кролики, морские свинки, собаки, кошки.

Образцы препарата Фаниферон, активным веществом в котором является смесь рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферо-

нов, изготовлены в лаборатории Биотехнологии кафедры микробиологии Белорусского государственного университета.

Опыты проводили на лабораторных животных (белых мышах). Испытание безвредности ветеринарного препарата Фаниферон проводили на целевых животных – собаках и кошках, поступающих на прием в ветеринарную станцию Советского района г. Минска.

Все испытания проводили в соответствии с «Методическими указаниями по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» (Минск, 2007) и «Инструкцией о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь» (2007)

Объем проведенных исследований соответствует «Инструкции о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь».

Препарат Фаниферон представляет собой прозрачную, нелетучую, слегка опалесцирующую жидкость от зеленовато-желтого до коричневого цвета, без видимых механических примесей и плесени. В 1 $см^3$ препарата содержится не менее $1{,}0x10^4$ МЕ/$см^3$ суммарной антивирусной активности смеси белков альфа- и гамма-интерферонов собачьих рекомбинантных. Действующие вещества растворены в неионогенном растворителе с добавлением стабилизаторов.

В соответствии с «Инструкцией о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь» (2007) токсикологическая оценка биологически активных препаратов для ветеринарного использования проводится только по безвредности препарата в тест-дозе и после оценки предельно допустимой дозы.

Результаты исследований и их обсуждение. *Оценка максимально переносимой дозы ветеринарного препарата Фаниферон.* Оценку максимально переносимой дозы ветеринарного препарата Фаниферон проводили на белых мышах массой 20 г путем подкожного одно- или многократного введения в тест-дозе в течение 1-2 часов.

Было сформировано 5 групп белых мышей (5-я группа – контроль) по 4 головы в каждой.

Мышам вводили подкожно следующие дозы препарат:

Опытной группе № 1 – 2,0 мл (по 0,6-0,7 мл с интервалом в 1,2 часа);

Опытной группе № 2 – 1,6 мл (по 0,8 мл с интервалом в 1,5-2 часа);

Опытной группе № 3 – 1,5 мл (по 0,6 мл с интервалом в 1,5-2 часа);

Опытной группе № 4 – 0,8 мл (однократно).

Животным контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида.

Схема эксперимента и результаты представлены в таблице.

Срок наблюдения за животными составлял 14 суток после введения. В первые сутки наблюдение велось ежечасно. При наблюдении за подопытными животными регистрировали массу, поведение (возбуждение или угнетение), общее состояние, внешний вид, координацию движения, тактильную, болевую, звуковую и световую чувствительность, состояние волосяного и кожного покрова, окраску слизистых оболочек, консистенцию каловых масс, наличие аппетита, уровень водопотребления, степень проявления реакции на внешние раздражители. После окончания опыта все оставшиеся в живых животные были усыплены. После усыпления подопытных и контрольных животных было проведено патологоанатомическое вскрытие не позднее, чем через 2 часа после смерти.

В ходе проведения опыта 100% падеж животных отмечался в 1, 2 и частично (25%) в 3 группе. У животных 4 группы признаки отравления были менее выражены. Падеж в этой группе отсутствовал. Через 1-1,5 суток животные были клинически здоровы, поведение было активным, животные адекватно реагировали на внешние раздражители, потребление корма и воды хорошее. Координация движения, тактильная, болевая, звуковая и световая чувствительность, состояние волосяного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек и консистенция каловых масс у животных 4-й опытной и контрольной групп были одинаковыми.

Патологоанатомическое вскрытие усыпленных животных показало, что состояние внутренних органов у опытных групп было таким же, как в контрольной группе, патологии отмечено не было.

Таблица – *Оценка максимально переносимой дозы ветеринарного препарата – рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферонов Фаниферон*

№ группы	Вид животного	Доза препарата на животное (активность МЕ)	Доза препарата на 1 кг живой тмассы (активность МЕ)	Доза		Гибель (пали/ живые)
				мл/кг	мл/ на животное в сутки	
1	мыши	$2{,}0x10^4$ МЕ/голову	$100x10^4$ МЕ/кг	100,0	2,0	4/0
2	мыши	$1{,}6x10^4$ МЕ/ голову	$80x10^4$ МЕ/кг	80,0	1,6	4/0
3	мыши	$1{,}2x10^4$ МЕ/ голову[3]	$60x10^4$ МЕ/кг	60,0	1,2	1/3
4	мыши	$0{,}8x10^4$ МЕ/ голову	$40x10^4$ МЕ/кг	40,0	0,8	0/4
5	мыши	контроль		-	-	0/4

Таким образом, результаты проведенных испытаний показали, что максимально переносимая доза препарата Фаниферон для белых мышей составляет 40 000 МЕ на 1 кг живой массы, в связи с чем определять острую токсичность нецелесообразно.

В связи с тем, что терапевтическая доза ветеринарного препарата – рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферонов Фани-

ферон была в переделах 1,0 мл на 10 кг живой массы животного при активности $1,0x10^4$ МЕ/см^3, а исследуемые животные – мыши выдерживали $0,8x10^4$ МЕ/голову или $40x10^4$ МЕ/кг массы, то дальнейшие исследования по определению хронической токсичности проводить нецелесообразно.

Определение раздражающего действия препарата Фаниферон на кожу. Местное раздражающее действие препарата исследовали на кроликах. Исследования проводили в однократном опыте. На кожные покровы равномерно наносили препарат в дозе 20 мг/см^2. Экспозиция составляла 4 часа. Период наблюдений за клиническими проявлениями интоксикации и состоянием кожных покровов составлял две недели. Предварительно снимали фоновые показатели – температуру кожи, толщину кожной складки. Реакцию кожи регистрировали по окончании экспозиции, через 1 и 16 часов после однократной аппликации.

О наличии у препарата раздражающих свойств судили по появлению на месте аппликации гиперемии, отека, утолщения кожной складки и расчесов. О болезненности участка судили по реакции животного на пальпацию очага поражения, кутиметром определили толщину кожной складки.

При нанесении на кожу кроликов препарата в месте аппликации через 4 часа и через 14 дней после нанесения гиперемии, отека, утолщения кожной складки и расчесов не наблюдалось. При пальпации участка болезненности не наблюдалось, толщина кожной складки оставалась без изменений. Таким образом, препарат Фаниферон местное раздражающее действие на кожу не оказывает.

Определение раздражающего действия препарата Фаниферон на слизистые оболочки. Раздражающее действие препарата исследовали методом конъюнктивальной пробы. В опыте использовались 3 морские свинки массой 500 г. Одну каплю препарата вводили глазной пипеткой под верхнее веко морской свинке, а во второй глаз (контроль) – 1 каплю воды. Реакцию учитывали дважды: через 5 минут и спустя 24-48 часов по покраснению конъюнктивы и по реакции склеры.

При закапывании препарата в конъюнктивальный мешок морских свинок через 5 мин, через 24 и 48 часов покраснения конъюнктивы и истечения экссудата у всех свинок не наблюдалось. Роговица глаза прозрачная, гладкая, без изъязвлений и помутнения. Контроль был отрицательный, т.е. препарат Фаниферон не обладает раздражающим действием на слизистые оболочки.

Определение аллергенных свойств препарата Фаниферон. Определение аллергенных свойств препарата проводили методом накожных аппликаций на морских свинках. Из морских свинок было сформиро-

вано 2 группы животных (опытная и контрольная) по 10 голов в каждой группе. Сенсибилизацию проводили многократными аппликациями изучаемого препарата на один и тот же участок кожи. Перед сенсибилизацией у морских свинок выстригали участок кожи размером 2х3 см. На выстриженный участок кожи ежедневно в течение 15 суток наносили суспензию препарата. Препарат наносили на 4 часа, затем удаляли ватным тампоном, смоченным в теплой воде. Контролем служили животные, которым ежедневно в течение 15 суток наносили в той же дозе дистиллированную воду. После 14-дневного интервала с момента последней аппликации на выстриженные участки кожи наносили разрешающую дозу соответственно препарата и воды в том же количестве. После нанесения разрешающей дозы наблюдения проводили каждые 24 часа в течение 3-х дней. У животных учитывали общее клиническое состояние организма, а также наличие на месте нанесения веществ эритемы, отека кожи, геморрагий и некроза.

При проведении опыта по определению сенсибилизирующей (аллергенной) способности препарата Фаниферон у всех животных не отмечалось поражения кожных покровов на месте нанесения препарата. При нанесении разрешающей дозы препарата реакция кожи и организма животных была отрицательной, что свидетельствует об отсутствии сенсибилизации организма.

Таким образом, препарат Фаниферон не обладает аллергенными свойствами.

Определение безвредности препарата Фаниферон на собаках и кошках. Для изучения влияние препарата Фаниферон на организм собак и кошек отобрали по 10 голов каждого животного в возрасте 2-5 лет. Отобранной группе внутримышечно вводился препарат Фаниферон в концентрации в 2-х кратной рекомендуемой дозе (1 мл на 10 кг живой массы) 1 раз в день в течение 5 дней.

Ежедневно на протяжении 20 дней с момента начала введения препарата проводился клинический осмотр общего состояния животных.

Заключение. Результаты клинического осмотра показали, что за период проведения опыта все животные были клинически здоровы. Поедание корма и водопотребление удовлетворительное, слизистые оболочки гладкие, блестящие, розовые, движения активные, отклонений со стороны отдельных органов и систем не наблюдалось. На основании проведенных исследований установлено, что препарат Фаниферон является безвредным для собак и кошек.

Таким образом, по параметрам токсичности смеси рекомбинатного собачьего альфа- и гамма- интерферонов препарат Фаниферон относится к безвредным препаратам.

УДК 636.2:619:616.2(476.6)

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И УЩЕРБ ОТ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

П.А. Красочко[1], И.В. Чуенко [2].

[1] – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

[2] – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 16.07.2014 г.)

Аннотация. *В статье представлены данные по распространению респираторных инфекций крупного рогатого скота среди поголовья хозяйств Гродненской области. С этой целью был проведен анализ заболеваемости и летальности крупного рогатого скота респираторными инфекциями по Гродненской области за период с 2008 г.*

Summary. *The data on propagation of respiratory infections of cattle among livestock on the farms in Grodno area is presented in the article. The analysis of disease and mortality of cattle due to virus respiratory infections on the Grodno area for the period since 2008 has been made.*

Введение. Повышение сохранности поголовья крупного рогатого скота и состояние его здоровья имеют большое значение в системе мероприятий по увеличению производства животноводческой продукции на сельскохозяйственных предприятиях Республики Беларусь. Значительное распространение заболеваний молодняка сдерживает развитие животноводства, служит одной из причин снижения продуктивности и племенных качеств животных.

У сельскохозяйственных животных при традиционной технологии ведения скотоводства болезни дыхательной системы занимают второе место после болезней органов пищеварения.

По широте распространения, смертности, вынужденному убою, недополучению привесов заболевания органов дыхания у молодняка КРС превалируют над всеми другими. До 80-100% молодняка подвержено респираторным болезням.