

УДК 6196616.98:616.3-053.1:615.37

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ТЕЛЯТ

Красочко П.А., Усеня М.М., Красочко И.А.

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

В настоящее время наряду с развитой промышленностью большой удельный вес занимает сельское хозяйство, которое полностью обеспечивает продовольственную безопасность Республики Беларусь, а перерабатывающую промышленность сырьем. Одной из важнейших отраслей сельского хозяйства является животноводство, продукция которого обеспечивает свыше 30% поступающей валютной выручки в страну. При этом одним из важнейших условий повышения рентабельности животноводческой отрасли является обеспечение охраны здоровья сельскохозяйственных животных и птицы. Известно, что в условиях промышленного содержания, при воздействии различных экстремальных факторов, в том числе алиментарных нарушений, высокой степени обсемененности помещений условно-патогенными бактериями и вирусами, загрязнения токсическими веществами, у животных развиваются иммунодефицитные состояния, приводящие к повышению уровня респираторных, желудочно-кишечных и других патологий [1, 2].

Так, по данным П.А. Красочко (2005), Ю.Г. Зелюткова (2006), В.В. Максимовича (2007), В.А. Машеро (2007), В.П. Урбана (1984) указанные болезни носят факторный инфекционный характер и проявляются в виде ассоциативной инфекции с участием условно патогенной микрофлоры, вирусов, хламидий, микоплазм [1, 4 6, 7, 9]. Развивающиеся при этом патологические процессы характеризуются снижением локального и общего иммунного статуса животных и диктуют необходимость комплексного терапевтического подхода. Применение иммунокорректирующих средств, особенно в критические периоды жизни, позволяет восстановить подавленные функции иммунной системы при иммунодефицитах и повысить общую резистентность организма к действию патогенов. Поэтому целесообразно рассматривать средства, корригирующие стрессы, иммунодефициты и продуктивность взаимосвязано. Исходя из этого, очевидна необходимость использования, наряду с широко распространенной антибиотикотерапией для профилактики и терапии желудочно-кишечных и респираторных заболеваний препараты с иммуномодулирующим эффектом. Компоненты препарата должны сочетать многосторонний фармакологический эффект, этиопатогенетическую направленность и не должны вызывать побочных эффектов, т.е. быть комплексными и безвредными [2, 3].

Нами, в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработан комплексный препарат для профилактики и терапии у молодняка крупного рогатого скота вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций, в основе которого использованы сывороточные иммуноглобулины, биоэлементы и иммуномодулирующие субстанции

Цель настоящей работы – изучение токсикологических показателей комплексного препарата для профилактики и терапии у молодняка крупного рогатого скота вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций.

Материалы и методы. Комплексный препарат для профилактики и терапии вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят состоит из сывороточных иммуноглобулинов, полученных из гипериммунной сыворотки, противовирусного и антибактериального компонента (серебра), антиоксидантного и иммуномодулирующего компонента – тиосульфата натрия в оптимальных соотношениях.

Для изучения острой и хронической токсичности, местного раздражающего, кожно-резорбтивного, ирритативного и кумулятивного действия комплексного препарата для профилактики и терапии вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят исследования проводились в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» с использованием следующих видов лабораторных животных обоего пола: белые крысы линии Wistar стадного разведения, беспородные мыши, кролики. Перед началом экспериментов все животные проходили карантин. Исследования проводили в соответствии с Методическими указаниями по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии [5, 8].

Результаты исследований. Нарботанные компоненты и готовый образец комплексного препарата не были контаминированы посторонней бактериальной и грибковой микрофлорой, рН была в пределах 5,8–7,5. Они также были безвредны для лабораторных животных и не вызвали их гибели в течение 10 дней наблюдения при подкожном введении в объеме по 0,5 см³.

Проверку на стерильность готового образца препарата проводили путем посевов на селективные питательные среды МПА, МПБ, МППБ, агар Сабуро. Их образцы высевали в пробирки или флаконы с МПА, агаром Сабуро по 0,5 см³, с МПБ и МППБ под вазелиновым маслом по 1 см³. Посевы проводили в четыре пробирки или четыре флакона с каждой средой. Посевы инкубировали в течение 3 дней. После чего из жидких питательных сред проводили пересевы в 4 пробирки (флакона) с МПА, МПБ и МППБ под вазелиновым маслом.

Питательные среды с посевами выдерживали в течение 10 дней, а с пересевами – в течение 7 дней при температуре (37±0,5) °С (для агара Сабуро от 20 до 24 °С).

Безвредность определяли на белых мышах при подкожном однократном введении в тест-дозе в объеме 0,5 см³ (ГОСТ 28085-89).

При изучении **острой токсичности** комплексного препарата использовали белых крыс линии Wistar массой 180±5 г и белых беспородных мышей массой 21±1 г. (по 5 самцов и 5 самок в каждой группе). С целью выявления LD₅₀ комплексный препарат и дистиллированную воду вводили опытным животным однократно перорально, в максимально допустимом объеме 4,0 мл/крыса, 0,8 мл/мышь (дозы препарата составили соответственно 22,2 мл/кг и 26,3 мл/кг). По результатам испытаний образца, LD₅₀ установить не удалось. Все животные выжили.

Наблюдение за подопытными животными осуществляли в течение 14 суток. После введения препарата на протяжении опыта не выявлено каких-либо отклонений в состоянии и поведении животных в сравнении с контрольной группой. После окончания опыта всех животных подвергли моментальной декапитации. При патологоанатомическом вскрытии животных опытных и контрольной групп не выявлено каких-либо видимых изменений во внутренних органах.

Изучение **кумулятивного** действия комплексного препарата проводили на крысах линии Wistar стадного разведения массой 180±5 г. Группы животных формировали с учетом половых отличий, по 5 животных в каждой группе. Опытным животным комплексный препарат вводили в объеме по 2 мл/крыса один раз в сутки в течение 20 суток (доза препарата составляла 40 мл/крыса), контрольные животные по аналогичной схеме получали дистиллированную воду. В течение эксперимента регистрировали общее состояние животных опытных и контрольных групп. В ходе эксперимента признаков интоксикации, а также гибели животных не

наблюдала. После окончания эксперимента макроскопическими исследованиями внутренних органов, каких-либо отклонений у животных опытных групп, в сравнении с контрольными животными, не установлено. По результатам исследования индекс кумуляции определить не удалось, что подтверждает низкую токсичность препарата и отсутствие у него кумулятивного эффекта.

Таблица 1 – Изучение острой токсичности комплексного препарата для профилактики и терапии вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят

Группа (вид) животных (крысы)	Препарат, доза (мл/кг)	Количество животных в группе, гол.	Результат					
			в зависимости от пола				в целом	
			самцы		самки		Выжило, абс. число (%)	Погибло, абс. число (%)
Выжило, абс. число (%)	Погибло, абс. число (%)	Выжило, абс. число (%)	Погибло, абс. число (%)					
Комплексный препарат (мыши)	38,09	5	5 (100,0)	0	5 (100,0)	0	10 (100,0)	0
Контроль	дист. вода	5	5 (100,0)	0	5(100,0)	0	10 (100,0)	0
Комплексный препарат (крысы)	22,22	5	5 (100,0)	0	5 (100,0)	0	10 (100,0)	0
Контроль	дист. вода	5	5 (100,0)	0	5 (100,0)	0	10 (100,0)	0

Изучение **местного раздражающего** действия «комплексного препарата» проведено на 8 крысах линии Wistar стадного разведения массой 180±5 г. и 8-ми морских свинок массой 420 ±10 г. У крыс и морских свинок на боковых участках туловища выстригали шерсть в виде «окошек» размером 2х2, 2х3 см соответственно. На правый бок в «окошки» наносили образец «комплексного препарата» в объеме по 0,02 г/см², на левый бок плацебо (дистиллированная вода). Испытания проводили в виде однократной 4-х часовой аппликации. По окончании экспозиции образец «комплексного препарата» смывали дистиллированной водой и вытирали сухим ватным тампоном. Через 1 и 16 часов после снятия аппликации определяли на опытных и контрольных участках функциональное состояние кожи: эритематозную реакцию – по выраженности тона гиперемии, а также толщину кожной складки, измеряемую микрометром. Оценку функционального состояния кожи на опытных и контрольных участках проводили в баллах.

Четырехчасовая аппликация «комплексного препарата» не выявила развития каких-либо видимых клинических признаков интоксикации и раздражения кожных покровов у опытных животных. Эритематозная реакция оценивалась, как равная нулю. Измерение толщины кожной складки у опытных и контрольных животных не обнаружило достоверных отличий. Полученные данные свидетельствуют о том, что комплексный препарат не оказывает местного раздражающего действия на кожу опытных животных. Индекс кожно-раздражающего действия исследованного образца равен нулю.

Изучение **кожно-резорбтивного** действия «комплексного препарата» проведено на 10 крысах линии Wistar массой 180±5 г. и 8-ми морских свинок массой 420±10 г. У крыс и морских свинок на участках спины выстригали «окошечки» размером 2х2 и 2х3 см соответственно. На правый бок в «окошечки» наносили образец «комплексного препарата» в дозе 0,02 г/см² в течение 20 суток, на левый бок по аналогичной схеме – дистиллированную воду. Во время всего эксперимента фиксировали состояние животных, эритематозную реакцию, толщину кожной складки. При исследовании образца в течение 20-ти дней каких-либо видимых нарушений в состоянии и поведении животных, а также изменения кожных покровов в виде шелушения, гиперемии, отеков отмечено не было. По результатам испытаний индекс кожно-резорбтивного действия «комплексного препарата» равен нулю.

При изучении **ирритативного** действия «комплексного препарата» использовали конъюнктивальную пробу. Исследования проводили на кроликах массой 2500–3000 г. При постановке опыта животным в нижний конъюнктивальный свод правого глаза пипеточным дозатором вводили по 0,05 мл «комплексного препарата», а в левый - аналогичный объем дистиллированной воды. Результаты постановки конъюнктивальной пробы, учтенные через 15 минут, 24 часа, а также в последующем в течение 8-ми суток не выявили видимой реакции слезотечения со стороны слезного протока, покраснения конъюнктивы и склеры, а также отека век. Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод, что исследованный образец препарата не обладает ирритативным действием, индекс ирритативного действия равен нулю.

Изучение **хронической токсичности** «комплексного препарата» проводили на белых крысах линии Wistar массой 180±5 г. по 5 животных в каждой при пероральном пути введения. Препарат вводили опытным животным per os в течение 10 суток в дозе 16,7 мл/кг, контрольным животным по аналогичной схеме вводили соответствующий объем дистиллированной воды. В течение всего эксперимента проводили систематическое наблюдение за животными. Для определения динамики изменения исследуемых параметров часть животных опытной и контрольной групп моментально декапитировали на 10-е сутки и по окончании восстановительного периода (30 суток).

Общее состояние и поведение животных опытной группы не отличалось от таковых у контрольной группы. Крысы были активными, хорошо поедали корм и имели гладкий шерстный покров. Масса тела подопытных крыс соответствовала возрастным нормам (табл. 2)

Таблица 2 – Динамика изменения массы (г) тела крыс при пероральном введении комплексного препарата

Препарат, доза (мл/кг)	Пол животных	Кол-во животных	Срок наблюдения		
			Исходные данные	10 суток	Восстановительный период
Контроль (дист. вода) (16,7)	Самцы	5	178,01±5,56	189,0±7,81	224,0±11,7
	Самки	5	175,5±7,60	183,0±8,36	211,0±7,5
комплексный препарат (16,7)	Самцы	5	181,5±5,60	193,0±9,5	229,5±10,3
	Самки	5	179,0±4,94	188,0±8,4	213,0±9,5

Визуальный осмотр внутренних органов экспериментальных животных на всех сроках наблюдения не выявил каких-либо видимых изменений.

**Розділ 8. Ветеринарна фармакологія та токсикологія. Якість і безпечність продуктів тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Екологічна та хімічна безпека**

При сравнении относительной массы внутренних органов опытной и контрольной групп животных, выведенных из эксперимента в разные сроки наблюдения, достоверных изменений не обнаружено (табл. 3, 4).

Таблица 3 – Весовые коэффициенты органов крыс (%) при пероральном введении комплексного препарата (10 суток введения)

Препарат, доза (мл/кг)	Пол животных	ОРГАНЫ						
		Сердце	Легкие	Печень	Почки	Мозг	Селезенка	Надпочечники
Контроль (дист. вода) (16,7)	Самцы	0,41±0,02	0,96±0,12	4,22±0,12	0,7±0,03	0,58±0,03	0,48±0,07	0,019±0,001
	Самки	0,39±0,01	0,96±0,02	3,8±0,07	0,72±0,02	0,58±0,02	0,5±0,04	0,02±0,002
комплексный препарат (16,7)	Самцы	0,39±0,02	0,90±0,04	4,00±0,1	0,77±0,01	0,53±0,02	0,48±0,05	0,02±0,004
	Самки	0,43±0,03	0,88±0,04	3,88±0,1	0,70±0,03	0,59±0,05	0,58±0,08	0,025±0,002

Таблица 4 – Весовые коэффициенты органов крыс (%) при пероральном введении комплексного препарата (восстановительный период)

Препарат, доза (мл/кг)	Пол животных	ОРГАНЫ						
		Сердце	Легкие	Печень	Почки	Мозг	Селезенка	Надпочечники
Контроль (дист. вода) (16,7)	Самцы	0,33±0,01	0,83±0,02	3,82±0,08	0,63±0,06	0,44±0,04	0,46±0,03	0,02±0,0
	Самки	0,36±0,01	0,91±0,04	4,02±0,2	0,65±0,03	0,57±0,03	0,48±0,02	0,026±0,002
комплексный препарат (16,7)	Самцы	0,38±0,02	0,82±0,045	3,80±0,07	0,66±0,03	0,45±0,02	0,37±0,01	0,015±0,003
	Самки	0,39±0,03	0,88±0,05	3,98±0,2	0,71±0,04	0,50±0,03	0,44±0,05	0,03±0,002

Результаты изучения хронической токсичности комплексного препарата позволили сделать заключение об отсутствии у него токсического эффекта на организм подопытных животных.

Таким образом, анализ результатов, полученных при токсикологическом исследовании нового лекарственного препарата под условным названием «Антидиарейный арготиоглобулин», позволяет сделать заключение о том, что конструируемый препарат характеризуется низкой токсичностью и в изученных концентрациях является безвредным для организма животных. Препарат относится к 4 группе токсичности.

Выводы. 1. Согласно классификации веществ по степени воздействия на организм лабораторных животных (ГОСТ 12.1.007-76) комплексный препарат – Антидиарейный арготиоглобулин относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

2. Антидиарейный арготиоглобулин не оказывает местного раздражающего действия на кожу опытных животных, не обладает раздражающим и кожно-резорбтивным действием и у него отсутствует кумулятивный эффект.

3. При пероральном введении в максимально допустимом объеме 4,0 мл/крыса, 0,8 мл/мышь (дозы препарата составили соответственно 22,2 мл/кг и 26,3 мл/кг) препарат не вызывает гибели лабораторных животных.

Список литературы

1. Болезни сельскохозяйственных животных [Текст] / П. А. Красочко [и др.] ; науч. ред. П. А. Красочко – Минск, Бизнесофсет, 2005. – 800 с.
2. Государственная фармакопея [Текст]. – 11-е изд. – М., 1990. – С. 200–261.
3. Государственная фармакопея Республики Беларусь [Текст]. В 3-х т. / под ред. А.А. Шерякова ; МЗХ РБ. – Молодечно, 2009. – Т. 2. – С. 227 ; т. 3. – С. 529.
4. Зелютков, Ю.Г. Инфекционные энтериты новорожденных телят [Текст] : монография / Ю.Г. Зелютков. – Витебск : Витеб. гос. акад. вет. медицины, 2006. – 188 с.
5. Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования [Текст] : учеб. пособие / И.А. Зупанец [и др.] ; под ред. И.А. Зупанца. – Х. : Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2005. – 200 с.
6. Максимович, В.В. Мониторинг за эпизоотической ситуацией по инфекционным болезням животных в Республике Беларусь [Текст] / В.В. Максимович // Ученые записки : сб. науч. тр. : науч.-практ. журн. / УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 78–81.
7. Машеро, В.А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь [Текст] / В.А. Машеро, П.А. Красочко // Ученые записки : сб. науч. тр. : науч.-практ. журн. / УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 83–86.
8. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов применяемых в ветеринарии [Текст] : утв. Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 16.03.2007. – Минск : РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», 2007. – 156 с.
9. Урбан, В.П. Болезни молодняка в промышленном животноводстве [Текст] / В.П. Урбан, К.П. Найманов. – М. : Колос, 1984. – 357 с.

THE TOXICOLOGICAL CHARACTERISTIC OF A COMPLEX PREPARATION FOR PREVENTION AND THERAPY OF VIRUS AND BACTERIAL GASTROINTESTINAL INFECTIONS AT CALVES

Krasochko P. A. Usenya M. M., Krasochko I.A.

RUE "Institute of Experimental Veterinary Medicine named S.N. Vyshellesski", Minsk, Republic of Belarus

The results of toxicological researches of a complex preparation for prevention and therapy at young growth of cattle of virus and bacterial gastrointestinal infections are given. The complex preparation belongs to 1V to a danger class (substances small and dangerous).