



Компания: ООО «ТрионисВет»
Тел.: +7 (499) 753-83-93
E-mail: info@trionisvet.ru
www.trionisvet.ru

Авторы: **Афонюшкин В.Н.**, к. б. н.
Сибирский федеральный
научный центр
агробиотехнологий РАН
Институт химической
биологии и фундаментальной
медицины СО РАН

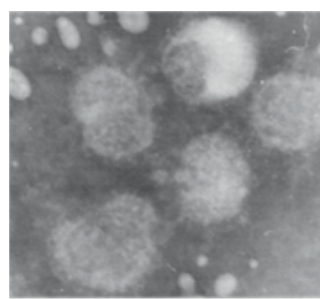
Ширшова А.Н.,
ООО «Ветбиотест»,

Пломодьялов Д.А., к. в. н.
ООО «ТрионисВет»

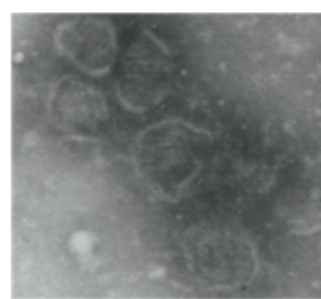
Изучение эффективности аэрозольного применения препарата «Тривирон» в отношении вируса инфекционного бронхита кур



Новый противовирусный препарат для борьбы с РНК-вирусными инфекциями



Результаты электронной микроскопии. Частицы вируса гриппа, не обработанные РНКазами



Результаты электронной микроскопии. Частицы вируса гриппа, обработанные РНКазами

Противовирусный препарат «Тривирон» предназначен для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, вызванных РНК-содержащими вирусами. В качестве действующего вещества в препарате «Тривирон» используются небольшие химически синтезированные молекулы (меньше природных рибонуклеаз), которые благодаря малому размеру и небелковой природе способны эффективно проникать в капсиды вирусных частиц.

Механизм противовирусного действия препарата «Тривирон» основан на разрушении РНК вирусных частиц с помощью низкомолекулярной искусственной рибонуклеазы (artificial ribonucleases).

Доказано, что гидролиз РНК под действием химически синтезированных рибонуклеаз протекает аналогично гидролизу РНК под действием панкреатических

Аэрозольное применение противовирусного препарата «Тривирон» повышает выживаемость цыплят при респираторной форме инфекционного бронхита кур (на 28% при экспозиции более 10 мин.) и снижает возникновение пневмоний (на 60% при экспозиции 40 и более мин.).

РНК-аз. Свойства таких искусственных РНК-аз используются в препарате «Тривирон», обуславливая его противовирусную активность. Еще одним важным свойством, которым обладают искусственные рибонуклеазы, является каталитический характер их действия, т. е. искусственные рибонуклеазы могут действовать многократно – одна молекула РНК-азы может разрушить много молекул РНК, что позволяет использовать противовирусный препарат «Тривирон» в низких дозах.

Для борьбы с респираторными РНК-вирусами была разработана схема аэрозольного применения противовирусного препарата «Тривирон». Аэрозольное применение препарата saniрует носовые ходы, трахею и бронхи от возбудителей РНК-вирусных инфекций, в т. ч. и от метапневмовирусной инфекции (МПВИ), а также способствует



1. Аэрозольная камера

2. Компрессорный небулайзер Microlife

3. Цыплята в аэрозольной камере

4. Аэрозольное распыление препарата «Тривирон»



инактивации вирусных частиц в воздухе. Так как МПВИ является «доза-зависимой» инфекцией, то даже незначительное снижение концентрации вируса в воздухе может иметь клиническое значение.

Материалы и методы

Исследования проводили на базе лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и сектора молекулярной биологии Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН.

Цыплят-бройлеров кросса Hubbard F15 в возрасте двух недель заражали вакцинным штаммом вируса инфекционного бронхита кур IB 4-91 (в составе живой аттенуированной вакцины Nobilis IB4-91, производство Intervet). Цыплятам аэрозольно была введена вакцина в расчете 10 доз на одну голову. Средний диаметр капли – 10,13 мкм, экспозиция – 30 мин.

Цыплята были разделены на четыре опытные (по шесть голов) и одну контрольную (семь голов) группы. Через три часа после заражения цыплят опытных групп подвергали аэрозольной обработке противовирусным препаратом «Тривирон» с экспозицией 10, 20, 40 и 60 мин. Курс лечения составил три обработки (по одной обработке в сутки).

Для контроля биодоступности аэрозоля перед завершением эксперимента (через три часа после последней обработки) цы-

Интересным фактом является то, что в ряде случаев в опытных группах при наличии пневмонии наблюдались абсолютно здоровые трахея и бронхи. Учитывая, что размер частиц аэрозоля позволял санировать трахею и бронхи, но не легкие, можно допустить, что в месте попадания противовирусного препарата «Тривирон» на слизистую оболочку трахеи и бронхов наблюдается защитный эффект.

плетям опытных групп вводили аэрозоль контрольного вещества «Aristest» с той же экспозицией, что и препарат «Тривирон». Объем аэрозольной камеры был 111 120 см³ (с учетом объема оборудования в камере ~ 1 м³). Расход подготовленного для аэрозольного распыления рабочего рас-

творителя препарата «Тривирон» (рабочий раствор препарата «Тривирон» – это препарат «Тривирон», разведенный с водой в 100 раз) составил 3 мл/м³. Генерацию аэрозоля осуществляли с использованием компрессорного небулайзера Microlife. Средний диаметр капли – 10,13 мкм.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Разработка схемы аэрозольной терапии
На первом этапе исследования была разработана и оптимизирована схема подготовки противовирусного препарата «Тривирон» для его аэрозольного применения птице, т. к. для стабилизации действующего вещества и предотвращения его адсорбции на стенках емкостей в составе препарата содержится муравьиная кислота.

После разведения препарата в дистиллированной воде в соотношении 1:100 добавляют компоненты для нейтрализации муравьиной кислоты, содержащейся в препарате, и глицерин, который позволяет стабилизировать размер капли при получении аэрозоля.

При аэрозольной обработке рабочим раствором препарата «Тривирон» цыплята вели себя аналогично тому, как и при аэрозольной обработке дистиллированной водой в смеси с глицерином (контроль). После завершения обработки поведение цыплят не отличалось от их состояния, которое было у них перед обработкой аэрозодем.



Легкие цыпленка из опытной группы с экспозицией 60 мин.



Цыпленок из контрольной группы. Легкие серого цвета, сосуды более кровенаполненные



Трахея у цыпленка из опытной группы с экспозицией 40 мин. Пневмония есть, но трахея чистая

Таблица 1. Выживаемость цыплят, зараженных повышенной дозой вакцинного штамма вируса ИБК, при лечении противовирусным препаратом «Тривирон» (опытные группы) и в контрольной группе

Наименование группы	Кол-во цыплят в группе (n), гол.	Пало цыплят, гол.	Пневмонии, %
Контроль (без лечения)	7	2	100%
Опытная группа, 10 мин. экспозиции	6	1	66,6%
Опытная группа, 20 мин. экспозиции	6	0	50%
Опытная группа, 40 мин. экспозиции	5	0	40%
Опытная группа, 60 мин. экспозиции	6	0	40%

Искусственные рибонуклеазы могут действовать многократно – одна молекула РНК-азы может разрушить много молекул РНК, что позволяет использовать противовирусный препарат «Тривирон» в низких дозах.

Испытание аэрозольной терапии противовирусным препаратом «Тривирон» на модели заражения двухнедельных цыплят десятикратной дозой вакцинного штамма вируса ИБК

Предварительное тестирование трахеи у цыплят в возрасте одних–трех суток методом ПЦР на наличие геномной РНК вируса инфекционного бронхита кур показало отсутствие вируса у большинства цыплят (было положительно три пробы у девяти цыплят в возрасте одних–трех суток). Это свидетельствует, что наличие трансвариальных антител в большинстве случаев препятствует вакцинации цыплят в первые дни жизни. В зарубежной литературе случаи заражения суточных цыплят, полученных от привитого родительского стада, также не были обнаружены.

В связи с этим была предложена модель инфекции ИБК путем аэрозольного заражения цыплят десятикратной дозой вакцинного вариантного штамма ИБК. Для этого использовали живую аттенуированную вакцину Nobilis IB4-91, производство Intervet.

Размер капли аэрозоля (10,13 мкм) был оптимален для попадания вируса в бронхи и трахею, т. е. в отличие от спрей-вакцинации мы обеспечили сразу попадание значительной дозы вируса ИБК в чувствительные

к заражению ткани птицы, что должно было обеспечить эффект переболевания.

Факт гибели 28,5% цыплят в контрольной группе и 16% цыплят в группе, получавшей минимальную дозу противовирусного препарата «Тривирон» (за счет меньшей экспозиции), а также наличие воспалительной реакции в легких и трахее у птиц во всех группах позволяет говорить об успешности предложенной модели инфекционного процесса.

Как следует из табл. 1, при использовании противовирусного препарата «Тривирон» удалось повысить выживаемость цыплят на 28% (при экспозиции более 10 мин.) и снизить встречаемость пневмоний на 60% (при экспозиции 40 мин. и более).

По результатам ПЦР вирус инфекционного бронхита кур встречался во всех группах, что подтверждает успешность заражения вирусом ИБК. Однако вирус ИБК был обнаружен не в каждой пробе трахеи, что может быть обусловлено как разрушением эпителия трахеи, так и наличием гуморального иммунитета у части цыплят после первой вакцинации (по нашим наблюдениям, до 30–40% цыплят могут сформировать гуморальный иммунитет после вакцинации в суточном возрасте).

Интересным фактом является то, что в ряде случаев в опытных группах при наличии пневмонии наблюдались абсолютно здоровые трахея и бронхи. Учитывая, что размер частиц аэрозоля позволял санировать трахею и бронхи, но не легкие, можно допустить, что в месте попадания противовирусного препарата «Тривирон» на слизистую оболочку трахеи и бронхов наблюдается защитный эффект.

Вывод

Аэрозольное применение противовирусного препарата «Тривирон» повышает выживаемость цыплят при респираторной форме инфекционного бронхита кур (на 28% при экспозиции более 10 мин.) и снижает возникновение пневмоний (на 60% при экспозиции 40 и более мин.).

Антибактериальные оральные растворы

Ципрофлоксацин Аква 20% ципрофлоксацин оральный раствор



Применение: при инфекциях желудочно-кишечного и респираторного тракта, мочеполовой системы и других заболеваниях, вызванных микроорганизмами, чувствительными к фторхинолонам.
Дозировки: птица, свиньи - 100 мл препарата на 300-400 л воды, в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5277-10-16 БА от 02.03.2016 г.

Тилозин Аква 20% тилозин оральный раствор



Применение: свиньи - гастроэнтероколиты бактериальной этиологии, дизентерия, энзоотическая пневмония, атрофический ринит, артриты. Птица - респираторный микоплазмоз, инфекционный синусит, колибактериоз, пастереллез и другие заболевания, возбудители которых чувствительны к тилозину.
Дозировки: птица 2-3 мл препарата на 1 л воды в течение 3-5 дней, свиньи - 1,15 мл препарата на 1 л питьевой воды в течение 3-7 дней.
Регистр. № 5332-10-16 БА от 05.03.2016 г.

Колистин Аква колистин 4 млн МЕ/мл оральный раствор



Применение: снижение действия бактериальных эндотоксинов в тканевых жидкостях, колибактериоз, сальмонеллез, пастереллез.
Дозировки: птица - 100-125 мл препарата на 1000 л воды в течение 3-5 дней, свиньи - 300 мл препарата на 1000 л питьевой воды, телята - 0,1-0,25 мл препарата на 10 кг массы животного орально с питьевой водой два раза в сутки в течение 3-5 дней (разводит с питьевой водой в соотношении 1:10)
Регистр. № 5279-10-16 БА от 02.03.2016 г.

Антибактериальные водорастворимые порошки

Амокол 50 50% амоксициллин, колистин 4 млн МЕ/г WSP порошок



Применение: колибактериоз, сальмонеллез, пастереллез, гемофилез, некробактериоз, рожа и другие заболевания, возбудители которых чувствительны к компонентам препарата.
Дозировки: птица - 300 г препарата на 1000 л воды, в течение 3-5 дней; телята, поросята - 3,0 г препарата на 100 кг массы тела, в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5330-10-16 БА от 19.02.2016 г.

Докситил 10% доксициклин, 10% тилозин WSP порошок



Применение: бактериальные инфекции, вызванные микроорганизмами, которые чувствительны к компонентам препарата.
Дозировки: птица - 0,5-1,0 кг/1000 л питьевой воды в течение 3-5 дней, свиньи - 0,5-1 г/1 л питьевой воды в течение 3-5 дней; телята - 5,0 г/100 кг массы животного с водой, молоком или заменителем молока в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5329-10-16 БА от 19.02.2016 г.

Тилтар 80 80% тилозин WSP порошок



Применение: птица - респираторный микоплазмоз кур, инфекционный синусит индеек, свиньи - дизентерия, гастроэнтероколиты бактериальной этиологии и другие заболевания, возбудители которых чувствительны к тилозину.
Дозировки: птица - 0,6 г препарата на 1 л питьевой воды, свиньи - 0,3 г препарата на 2 л питьевой воды в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5328-10-16 БА от 19.02.2016 г.

Доксирил 50 50% доксициклин WSP порошок



Применение: колибактериоз, сальмонеллез, пастереллез, микоплазмоз и другие инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и мочевыводящих путей, вызванных микроорганизмами, чувствительными к доксициклину.
Дозировки: птица - 200-400 г/1000 л питьевой воды в течение 3-5 дней, свиньи - 200 г/1000 л питьевой воды в течение 3-5 дней; телята - 15-20 мг/1 кг массы тела в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5301-10-16 БА от 19.02.2016 г.

Доксифид 10% доксициклин WSP порошок



Применение: колибактериоз, сальмонеллез, пастереллез, микоплазмоз и другие инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и мочевыводящих путей, вызванных микроорганизмами, чувствительными к доксициклину.
Дозировки: свиньи - 0,1 г препарата на 1 кг живой массы, в течение 5-7 дней.
Регистр. № 5711-10-17 БА от 23.03.2017 г.

Амоклав 50% амоксициллин, 12,5% клавулановой кислоты WSP порошок



Применение: бактериальные инфекции свиней и птиц, в том числе: колибактериоз, сальмонеллез, бронхопневмония, мочеполовые инфекции, инфекции кожи и мягких тканей, вызываемые микроорганизмами чувствительными к компонентам препарата
Дозировки: птица - 4 г препарата на 100 кг живой массы, в течение 3-5 дней, свиньи - 2 г препарата на 100 кг живой массы, в течение 3-5 дней.
Регистр. № 5712-10-17 БА от 23.03.2017 г.