стлактационного мастита у коров / Л. Г. Роман // Ветеринарная патология. – 2010. – № 4. – С. 106–111.

УДК 619:618:615.454.1:615.9

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «ВИСТИН» ДЛЯ ЗАПУСКА КОРОВ В СУХОСТОЙНЫЙ ПЕРИОД

Смотренко Е.М., Бобрик Д.И.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Изучены токсикологические свойства ветеринарного препарата «Вистин». В результате исследований установлено, что по показателям острой оральной токсичности препарат относится к IV классу опасности. ***Ключевые слова:*** *вистин, висмут нитрат, этоний, токсичность, мыши.*

TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF THE VETERINARY DRUG "VISTIN" FOR STARTING COWS DURING THE DRY PERIOD

Smotrenko E.M., Bobryk D.I.
"Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The toxicological properties of the veterinary drug "Vistin" were studied. As a result of the research, it was found that in terms of acute oral toxicity, the drug belongs to the IV hazard class. ***Keywords:*** *wistine, bismuth nitrate, aethonium, toxicity, mice.*

Введение. Актуальной задачей ветеринарной науки и практики считается разработка экологически безопасных средств и способов профилактики и терапии воспаления вымени у коров, которая является одной из приоритетных задач ветеринарного акушерства и гинекологии. В настоящее время широкое и бессистемное применение антибиотик содержащих препаратов привело к образованию лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов и распространению мастита грибковой этиологии. Необходимо учесть, что генетика высокопродуктивных животных позволяет им сохранить высокий надой практически до отела, а запускать коров, дающих порой более 25 л в день, весьма трудно. Окунание сосков в дезинфекторы в период запуска малоэффективно. Имеющийся зарубежный опыт, основанный на применение висмута нитрата, позволяет значительно снизить процент новых инфекций в период запуска [4].

Механизм действия висмута нитрата основного базируется на его способности коагулировать белки, с образованием плотных альбуминатов. Таким способом на поверхности слизистой оболочки образуется своеобразная защитная пленка, состоящая преимущественно из прошедших процесс денатурации белков. Под действием ионов висмута микроорганизмы теряют способность к адгезии, снижается их подвижность, происходит вакуолизация и фрагментация клеточной стенки, подавление ферментных систем бактерий, т. е. достигается бактерицидный эффект [5]. Ионы висмута преимущественно проникают и

локализуются в области клеточной стенки микроорганизма. Он активно взаимодействует с нуклеотидами и аминокислотами, пептидами и белками. Основными мишенями в микроорганизме все же являются белковые молекулы (в том числе ферменты). Экспрессия примерно восьми белков подвергается *up*- или *down*-регуляции при действии ионов висмута.

Основные молекулярные механизмы препаратов висмута нитрата: блокада адгезии микроорганизмов к поверхности эпителиальных клеток; подавление различных ферментов, продуцируемых микроорганизмами (уреаза, каталаза, липаза/фосфолипаза, и др.), и трансляционного фактора (Ef-Tu); прямое взаимодействие с белками теплового шока (HspA, HspB), нарушение структуры и функции других белков; нарушение синтеза АТФ; нарушение синтеза, структуры и функции клеточной стенки; индукция свободнорадикальных процессов.

Одним из механизмов антибактериального действия ионов висмута является их взаимодействие с комплексом клеточной стенки у некоторых микроорганизмов, с вытеснением двухвалентных катионов Mg^{2+} и Ca^{2+}, необходимых для построения полисахаридных цепочек. При этом происходит локальное ослабление участков гликокаликса и выпирание клеточной стенки через образовавшиеся “окна”, что приводит к нарушению функционирования микроорганизма и может активировать аутолитические процессы, приводящие к его гибели.

Висмута нитрат, способен индуцировать мощный окислительный стресс проникая в микроорганизм, что приводит к торможению деятельности многих ферментов в целом. Потенцируется прооксидантное действие подавлением активности тиоредоксина и алкилгидропероксидредуктазы микроорганизмов [7].

Большое внимание привлекает взаимодействие висмута с ферментами цикла трикарбоновых кислот микроорганизмов (фумаратредуктазы, фумаразы), обеспечивающего образование ряда биохимических прекурсоров (α-кетоглутарат, сукцинил-КоА, оксалоацетат) и работающего как источник образования АТФ. В результате уменьшается продукция макроэргов и подавляются многие энергозависимые процессы, что отражается, например, на скорости колонизации микроорганизмом различных отделов слизистой. Потенцируется этот эффект блокадой локализованного в микробной стенке/мембране дитиольного фермента Na+/K+-АТФазы, с которым ионы висмута образуют стабильный комплекс [6].

В качестве еще одной ферментной мишени препаратов висмута рассматривается алкогольдегидрогеназа, участвующая в продукции ацетальдегида, который, секретируясь микроорганизмом, оказывает подавляющее действие на локальные защитные факторы слизистой, ингибируя секрецию белка и нарушая связывание пиридоксальфосфата с зависимыми ферментами.

Этоний в составе ветеринарного препарата «Вистин», который относится к производным аммиака и оказывает бактериостатическое и бактерицидное действие, эффективен в отношении стрептококков и других микроорганизмов позволяет не только усилить антисептическое действие в канале соска, но и обладает местноанестезирующей активностью, стимулирует заживление раневых поверхностей слизистой.

Целью нашей работы – изучение токсикологических свойств ветеринарного препарата «Вистин».

Материалы и методы исследований. Изучение токсичности ветеринарного препарата «Вистин» проводили в условиях вивария УО Витебская государственная академии ветеринарной медицины на клинически здоровых белых нелинейных мышах в соответствии с «Методическими указаниями по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» [2, 3].

Для опытов использовали препарат «Вистин» опытной серии 0001 производства унитарного предприятия «Могилевский завод ветеринарных препаратов». Объем проведенных исследований был выполнен в соответствии с положением о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь.

Вистин (Vistin) представляет собой гладкую масляную пасту белого цвета с серым оттенком. В состав препарата входит висмут азотнокислый основной, этоний, алюминия стеарат, диоксид кремния, вазелиновое масло. Вистин применяют внутрицистернально в период проведения одномоментного запуска коров с целью профилактики маститов в сухостойный период.

Изучение острой оральной токсичности препарата «Вистин» проводили на белых нелинейных мышах массой 21-23г.

Животных отбирали случайным образом, помечали уникальным для каждого индивидуума способом и содержали в своих клетках 7 дней перед началом введения, чтобы произошла акклиматизация к условиям лаборатории Вивария. Содержание самок и самцов раздельное. Площадь пола на одно животное составляла 77 см^2.

Размещение животных в клетках обеспечивало каждому животному: - удовлетворение нормальных физиологических и поведенческих потребностей: (мочеиспускание, дефекацию, поддержание температуры тела, нормального характера движения и поз; - видовые социальные взаимоотношения; - адекватную вентиляцию; - доступ к пище и воде; - безопасность животного; - возможность свободного наблюдения за животным.

На момент введения препарата животные (самки и самцы) находились в возрасте 8-9 недель, самки мышей были нерожавшие и небеременные. Исследования проводились в два этапа.

Для опытов на первом этапе были сформированы четыре опытных группы и одна контрольная по 8 животных в каждой группе. Животных лишали пищи перед введением препарата «Вистин» в течении 12-ти часов, но доступ к воде не ограничивали. По прошествии периода голодания животных взвешивали и вводили тестируемое вещество.

Мышам первой подопытной группы внутрижелудочно ввели 0,1 мл препарата «Вистин», что соответствует дозе 8227,0 мг/кг. Мышам второй подопытной группы внутрижелудочно ввели 0,2 мл препарата «Вистин», что соответствует дозе 16363,0 мг/кг. Мышам третьей подопытной группы внутрижелудочно ввели 0,3 мл препарата «Вистин», что соответствует дозе 24545,0 мг/кг. Мышам четвертой подопытной группы внутрижелудочно ввели 0,4 мл препарата «Вистин», что соответствует дозе 32727,0 мг/кг. Мышам пятой контрольной группы внутрижелудочно ввели 0,4 мл растворителя (вазелиновое масло) для препарата «Вистин».

Кормление животных проводили через 4 часа после введения препарата. За каждым животным наблюдали отдельно, один раз в течение первых 30 минут после введения дозы, затем периодически в течение 24 часов (уделяя особое

внимание первым 4 часам), и далее ежедневно, в общей сложности на протяжении 14 дней.

Результаты исследований. Клиническая картина проявлялась в кратковременном беспокойстве, умеренной бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные были активными, принимали корм и воду реагировали на внешние раздражители.

За период наблюдения гибели подопытных животных не было. В третьей и четвертой подопытных группах через 15-20 минут после введения препарата отмечали угнетение животных, мыши сидели скученно. Состояние животных нормализовалось спустя 2-4 часов.

В последующий период времени, животные всех опытных и контрольной групп были подвижны, хорошо принимали корм и воду. Таким образом, $ЛД_{50}$ при оральном введении установить не удалось.

В связи с отсутствием летальных исходов от воздействия максимально возможных однократных объемов вводимого препарата за один прием на втором этапе исследований нами проведен «тест накопления».

Мышам подопытной группы после голодной диеты внутрижелудочно вводили по 0,2 мл (доза 16363мг/кг) препарата «Вистин» каждые 2 часа в течение суток, что соответствует общей дозе 196363,6 мг/кг. Согласно методическим рекомендациям, мы вводили Вистин из расчета 1,64% от массы тела мыши.

Мышам контрольной группы после голодной диеты внутрижелудочно вводили по 0,2 мл вазелинового масла каждые 2 часа в течение суток.

У животных, получавших препарат, в течение суток отмечались заторможенность, вялость, снижение потребления корма и воды. Аналогичное состояние отмечалось и у животных контрольной группы. Последнее позволяет предполагать, что ухудшение общего состояния животных являлось не результатом токсического действия препарата, а связано со стрессом, вызванным многократными введениями.

На протяжении последующего периода наблюдения общее состояние и поведение животных обеих групп нормализовалось и соответствовало обычному. Различий по этим показателям между опытной и контрольной группами не отмечалось.

Достоверных различий в динамике массы тела в группах животных, получавших препарат, также не выявлено.

На пятнадцатые сутки мышей умерщвляли путем декапитации под местной анестезией шейной области. У декапитированных животных извлекали внутренние органы и проводили их макроскопическое исследование. При макроскопическом исследовании обращали внимание на размер, внешний вид и консистенцию внутренних органов.

Постановка экспериментального исследования с использованием лабораторных животных осуществлена в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях и Директивой Совета ЕЭС [6].

При макроскопическом исследовании обращали внимание на расположение органов, их величину, форму, консистенцию, цвет, структуру на разрезе, при этом в результате исследований видимых морфологических изменений обнаружено не было – органы имели нормальное расположение, величину и форму, они имели естественный цвет, консистенцию и структуру на разрезе, коэффициент массы

внутренних органов не отличался от контроля.

В результате проведенного макроскопического исследования установлено, что препарат “Вистин” не вызывает видимых дистрофических и других изменений, характерных для острой или хронической интоксикации.

Физиологические, гематологические и биохимические исследования проводились до начала опыта и через 14 дней после начала исследования. Статистически достоверных различий в исследуемых показателях среди животных сравниваемых групп не установлено.

Для изучения раздражающего действия препарата «Вистин» использовали метод конъюнктивальных проб. Для опытов использовали 3 кроликов.

Для этого глазной пипеткой по 0,1 мл препарата ввели под верхнее веко кроликам. Второй глаз кроликов служил контролем. Учет реакции проводили в течение одного часа и спустя 2 часа, 3 часа, 5 часов, 10 часов, 24 часа, 48 часов.

У всех животных первоначально отмечали незначительное слезотечение, беспокойство, которое исчезало спустя 3-5 минут.

Таким образом, местно-раздражающее действие препарата «Вистин» на слизистую оболочку глаза было незначительным и носило кратковременный характер и может быть классифицировано как невыраженное.

Опыты по изучению раздражающего действия на кожу препарата «Вистин» провели на трех кроликах. Для этого на выстриженную (участок 4х4 см) и обезжиренную кожу трехкратно нанесли препарат «Вистин» в дозе 1,0 г с интервалом 24 часа.

При учете реакции сразу после нанесения препарата отмечали кратковременное беспокойство животных в течение (1-2) минут. В дальнейшем животные были спокойны, признаков воспаления или раздражения не было. Через 10 дней кожа начала покрываться равномерным шерстным покровом.

Заключение. Ветеринарный препарат «Вистин» по классификации ГОСТ 12.1.007-76 [1] относится к IV классу опасности - вещества малоопасные (LD_{50} свыше 5000 мг/кг); не обладает кожно-резорбтивной активностью и раздражающим действием на кожу и коньюнктиву.

Литература. *1. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76. – Введ. 01.01.77. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – С. 81–85. 2. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / НАН Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского ; сост. А.Э. Высоцкий [и др.] – Минск, 2007.– 156 с. 3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» / Р.У. Хабриев [и др.]; под ред. Р.У. Хабриева. – М. : ЗАО ИИА «Медицина», 2005. – 892 с. 4. Филпот, В.Н . Как победить мастит / В. Н. Филпот, Ш. С. Никерсон // GEA Farm Technologies. 2012.– 240 с. 5. Beil, W., Studies on the mechanism of action of colloidal bismuth subcitrate. I. Interaction with sulfhydryls / W. Beil, S. Bierbaum, K. F. Sewing // Pharmacology. – 1993. – Vol. 47, – № 2. – P. 135–140. 6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes. – Strasbourg, Council of Europe. –1986 – 51 p. 7. Bismuth subsalicylate increases intracellular Ca2+, MAP-kinase activity, and cell proliferation in normal human gastric mucous epithelial cells / J.Gilster [et al.] // Dig Dis Sci. 2004. – Vol. 49. – № 3. – P. 370–378.*