

УДК 619:615.281:616.33/34-002:636.2.053

РАЗРАБОТКА, ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ АБОМАЗОЭНТЕРИТОМ

Напреенко А.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. По данным литературных источников, в последние годы на фоне снижения иммунного статуса телят резко возросла роль условно-патогенной микрофлоры в развитии факторных или оппортунистических инфекций (от англ. opportunity - подходящий, удобный случай), которые осложняют протекание болезней желудочно-кишечного тракта незаразного профиля, в частности абомазоэнтеритов у телят [5,6]. Условно-патогенная микрофлора является транзитным представителем микробиоценоза кишечника молодняка жвачных, вирулентность которого проявляется при снижении колонизационной резистентности энтероцитов, обеспечиваемой индигенными микроорганизмами, к которым относят бифидо- и лактобактерии [5,6]. Снижению естественной защитной функции слизистых оболочек кишечника способствуют как болезни пищеварительного тракта, так и применение антимикробных препаратов (в частности антибиотиков), традиционно используемых для лечения животных с расстройством пищеварения [2]. Данное обстоятельство приводит к количественно-качественным изменениям микробной экологии кишечника и развитию дисбактериоза, нередко антибиотикоассоциированного. Таким образом, с одной стороны, антибиотики являются безальтернативными средствами при лечении факторных болезней, с другой – приводят к широкому спектру негативных побочных действий на организм. Вышеизложенное формирует весомые предпосылки для создания новых стандартов антибактериальной терапии. Концепция работы: разработка «экобиотика» - эффективного безопасного антибиотика, обладающего избирательной противомикробной активностью в отношении условно-патогенной микрофлоры, но при этом не нарушающего кишечный нормобиоз. Данный аспект может быть достигнут сочетанием в одном препарате традиционных антибиотических субстанций в терапевтических дозах и пребиотиков (бифидус-факторов), селективно способствующих росту и/или метаболической активности индигенной микрофлоры толстой кишки, активизируя тем самым иммунную систему организма.

Материал и методы исследования. Разработка и токсикологическая оценка экобиотика проводилась в условиях кафедры клинической диагностики УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины».

Состав антимикробного препарата был разработан после нескольких серий поисковых опытов путем подбора в различных комбинациях антибиотиков и пребиотиков, наиболее эффективных в антимикробном и технологическом аспектах.

Чувствительность микроорганизмов к антимикробному препарату изучали методом диффузии в агар с применением дисков согласно методическим рекомендациям [4]. Для исследования использовались музейные штаммы кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ.

Изучение общетоксических характеристик экобиотика включало определение острой токсичности, кумулятивных и местнораздражающих свойств.

Объем проведенных исследований соответствует «Инструкции о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь», утвержденной МСХ и П РБ21 июня 2007 года.

Опыты проводились на мышах, крысах и кроликах в соответствии с рекомендациями [3]. При постановке опытов мы руководствовались правилами проведения работ с экспериментальными животными, предусматривающими соблюдение основных биоэтических принципов.

Установление параметров острой токсичности и класса опасности экобиотика при внутрижелудочном поступлении проводили на белых мышах и крысах. В

предварительных опытах были установлены ориентировочные уровни смертельных доз: ЛД₀, которая не вызывала гибели животных и ЛД₁₀₀, которая вызвала 100% гибель мышей и крыс, что составило 7000 и 15000 мг/кг по препарату соответственно. На следующем этапе было сформировано 6 групп белых мышей и 9 групп крыс по 5 животных в каждой, одна - служила контролем. Препарат вводили мышам 1-5 и крысам 1-8 подопытных групп внутривенно в объеме 0,5 мл и 3 мл соответственно, после 12 часовой диеты в дозах, представленных в таблице 1. Контрольным животным вводилась дистиллированная вода в аналогичном объеме. Общая продолжительность наблюдения составила 14 суток. Особое внимание уделялось времени возникновения признаков интоксикации и срокам гибели животных. Погибшие и выжившие животные были подвергнуты патологоанатомическому исследованию.

Расчет параметров острой токсичности испытуемого препарата для подопытных животных проводился методом Беренса (без построения графика). Полученные данные представлены в таблице 1.

Ускоренное определение кумулятивного эффекта проводилось на 10 белых мышях, препарат вводился внутривенно однократно в течение 21 суток в следующих дозах: в первые 4 дня – 916 мг/кг, на пятые сутки дозу увеличили в 1,5 раза, что составило 1374 мг/кг, на 9-е сутки эту дозу увеличили в 2 раза и животным вводили 2748 мг/кг в течение 6 дней, на 15-е сутки вводимую дозу довели ½ ЛД₅₀ полученной в остром опыте (4580 мг/кг массы), она вводилась мышам до конца опыта.

Таблица 1 - Результаты эксперимента по изучению острой токсичности на лабораторных животных

Вид животного	№ группы	Доза, мг/кг (по препарату)	Пало животных	Выжило животных	% гибели
Мыши	1	11000	5	0	100
	2	10000	3	2	75
	3	9000	2	3	35,5
	4	8000	1	4	10
	5	7000	0	5	0
	6 (контрольная)	-	0	5	0
Крысы	1	11500	5	0	100
	2	11000	4	1	93,3
	3	10500	3	2	76,9
	4	10000	3	2	58,3
	5	9500	2	3	30,7
	6	9000	1	4	13,3
	7	8500	1	4	5,6
	8	8000	0	5	0
	9 (контрольная)	-	0	5	0

За подопытными животными велось наблюдение в течение 21 суток, при этом регистрировалось их поведение, внешний вид, аппетит, жажда, степень проявления реакции на внешние раздражения, наличие рвоты, нервных явлений (судороги, параличи) и другие признаки интоксикации. Оценку результатов исследования и определение степени кумуляции препарата проводили путем расчета коэффициента кумуляции (K_к).

Изучение местнораздражающих свойств проводилось на кроликах живой массой 1,9 – 2,3 кг. Для оценки степени воздействия на кожу 3 животным выстригали участки кожных покровов 2x3 см и предварительно снимали фоновые показатели – температуру кожи, толщину кожной складки. После этого наносили испытуемый препарат в нативном виде в дозе 0,1 мл. Через 4 часа остатки вещества аккуратно удаляли тёплой водой с мылом, избегая повреждений кожи. Наблюдение за животными вели в течение 14 дней. Реакцию кожи оценивали сразу после окончания

экспозиции, а также через 1 и 16 часов, в качестве контроля служил противоположный участок кожи.

Исследование местнораздражающего действия препарата на слизистые оболочки проводилось методом конъюнктивальных проб: 4 кроликам глазной пипеткой вводили под верхнее веко по 1 капле препарата, второй глаз служил контролем. Учет реакции проводили спустя 5 минут, 1 час, 10 часов, 24 часа, 48 часов, 3, 4 и 5 суток. При этом обращали внимание на изменение цвета конъюнктивы, реакцию склеры, развитие зуда и других признаков, указывающих на раздражающее действие препарата.

Автор выражает благодарность сотрудникам кафедры фармакологии и токсикологии УО ВГАВМ профессору Ятусевичу И.А. и ассистенту Смаглей Т.Н. за оказанную методическую и консультативную помощь в проведении исследований.

Результаты исследований. После ряда поисковых опытов нами была разработана оригинальная фармацевтическая композиция из офлоксацина, колистина сульфата и лактулозы. Выбор компонентов обусловлен тем, что данная комбинация проявила наиболее высокую бактерицидную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов родов *Proteus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, вызывая зону задержки их роста на агаре от 40 мм и более. Лактулоза является активным бифидус-фактором и обладает самым высоким индексом пребиотической активности (IP). Экспериментальный образец препарата представляет собой однородную жидкость, не изменяющую своих физических свойств при хранении и максимально удобную в технологическом плане ее использования.

При изучении острой пероральной токсичности препарата на белых мышах было установлено, что в 1-4 группах смертность составила 100%, 87,5%, 42,9% и 11,1 % мышей соответственно, в опыте на крысах в 1-7 группах - 100%, 93,3%, 76,9%, 58,3%, 30,7%, 13,3% и 5,6% особей соответственно. Клиническая картина острого отравления у обоих видов животных не имела отличий и характеризовалась первоначальным кратковременным возбуждением, сменявшимся сопорозным состоянием, тахикардией, одышкой, гипергидрозом, судорогами и парезами конечностей. Гибель мышей в первой подопытной группе наступала в течение 5-20 минут, во второй - в течение суток, в третьей и четвертой - на 5-9 сутки, у животных отмечалась взъерошенность шерсти, особенно в области головы, угнетение. При патологоанатомическом вскрытии трупов павших животных отмечались следующие изменения: в трахее и бронхах пенистая жидкость, легкие неспавшиеся, цвет от бледно-розового до темно-красного в нижних долях, с поверхности разреза выдавливается пенистая жидкость, при погружении легких в воду – большая часть не тонет, погружаясь до половины своего объема, печень несколько увеличена в размере, цвет пестрый, отмечается чередование коричнево-красных и серых участков. За весь период наблюдения, составивший 14 суток, мыши пятой подопытной и контрольной групп вели себя активно, охотно принимали корм и воду, шерсть была гладкая и блестящая.

Результаты расчета параметров острой токсичности эубиотика для белых мышей и крыс методом Беренса (без построения графика) представлены в таблице 2.

В ходе определения степени кумулятивного действия исследуемого препарата было установлено, что на 11 сутки погибла одна мышь, а в последующие 10 суток – остальные.

Таблица 2 - Параметры острой токсичности антимикробного препарата для лабораторных животных (пероральное введение)

Вид животных	LD ₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	LD ₁₀₀ , мг/кг
Мыши	7000	9159	11000
Крысы	8500	9850	11500

Клинические признаки и патологоанатомическая картина при отравлении подопытных животных практически не отличались от описанных ранее у животных, погибших в остром опыте. В результате расчёта кумулятивного эффекта эубиотика был получен коэффициент кумуляции, равный 4,7, что свидетельствует об умеренной

(средней) кумулятивной активности – $3,1 < K_k > 5,0$ (Л.И. Медведь, 1965).

В итоге изучения местнораздражающих свойств препарата на кожные покровы было установлено, что на месте аппликации препарата за весь период наблюдения у кроликов не отмечалось эритем и отёчностей, толщина кожной складки не изменялась, не наблюдалось расчёсов, трещин и болезненности кожи. Спустя 8-12 дней выстриженные участки покрывались равномерным шерстным покровом. При исследовании раздражающего действия на слизистые оболочки методом конъюнктивальных проб у всех животных первоначально отмечали незначительное слезотечение, беспокойство, гиперемию, указанные признаки исчезали спустя 2 – 2,5 часа.

Заключение. Таким образом, на основании полученных результатов было установлено, что по классификации ГОСТ 12.1.007-76 разработанный препарат при пероральном введении относится к IV классу опасности – вещества малоопасные (LD_{50} выше 5000 мг/кг), характеризуется умеренной кумулятивной активностью и слабораздражающим действием на кожные покровы и слизистые оболочки.

Литература. 1. Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений/ под ред. Л.И. Медведя. - Киев : Здоров'я, 1965. - 590 с. 2. Захарченко С.М. Клиническая микробиология и антимикробная терапия/ С.М. Захарченко -2001. Т. 3, № 1. - С. 79-80. 3. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов применяемых в ветеринарии: утв. МСХПРБ № 10 – 1-5/198 от 16.03.2007 г. – Мн. : РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», 2007. – 156 с. 4. Справочник по бактериологическим методам исследования в ветеринарии / сост. А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская. – Минск: Белтаможсервис, 2008. – С. 229 – 240. 5. Тимошко, М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М.А. Тимошко; Академия наук Молдавской ССР, Институт зоологии и физиологии. - Кишинев.: Штиинца 1990. – С.- 52-53. 6. Пинегин, Б.В. Дисбактериозы кишечника /Б.В. Пинегин и [др.]. - М. : Медицина, 1984. – С. – 6–7.

УДК 619:614.539

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАДИОЗАЩИТНОГО ПРЕПАРАТА, ОБЛАДАЮЩЕГО ЛЕЧЕБНО-СОРБЦИОННЫМИ СВОЙСТВАМИ

Низамов Р.Н, Конюхов Г.В, Гайзатуллин Р.Р., Сычев К.В., Юнусов И.Р.
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань, Россия

Введение. Известно, что при сочетанном внешнем и внутреннем облучении лучевое поражение протекает тяжелее, чем при общем облучении (Козлов А.В., 1957). Полиорганная и полисистемная радиационная патология, вызванная сочетанным воздействием на организм животных внешнего и инкорпорированного облучения создает существенные трудности для терапии таких поражений, что диктует необходимость изыскания более эффективных методов и средств противорадиационной защиты (Калистратова В.С., и др; 1970).

Материалы и методы. В качестве доноров лечебных сывороток и глобулинов использовали кроликов. Объектами исследования служили пробы крови иммунизированных защитным полиантигеном (МПАГ), подвергнутых двукратному внешнему гамма-облучению в малой (0,1 Гр) и через 24 часа – большой (10,9 Гр) дозе животных – доноров, а также леченых противорадиационным лечебно-профилактическим иммуноглобулином (ПЛПИ). В качестве потенциальных сорбентов использовали фитосорбенты (травяную муку, хвойную муку, препараты «Эра-Н», «Эраконд», чагу, а также апипродукты, содержащие хитин (пчелиный подмор, трутневый расплод, прополис, воск, пергу, восковую моль и ее личинки, обножку, кормовую добавку «Вита-Форце», а в качестве традиционных сорбентов – «Бифеж», «ХЖ-90», ферроцин).