

УДК 615.28:615.9

UDC 615.28:615.9

16.00.00 Ветеринарные науки

Veterinary Sciences

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ
ПРЕПАРАТА РОКСАЦИН****DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY
OF ROKSATSIN**

Лифенцова Мария Никитична
к.в.н., ассистент
SPIN-код: 9283-2062

Lifentsova Mariya Nikitichna
Candidate of Veterinary Sciences, assistant
RSCI SPIN-code 9283-2062

Горпинченко Евгений Анатольевич
к.в.н., доцент
SPIN-код: 1292-3414

Gorpinchenko Evgeny Anatolyevich
Candidate of Veterinary Sciences, assistant profes-
sor, RSCI SPIN-code 1292-3414

*Кубанский государственный аграрный универ-
ситет, Краснодар, Россия*

*Kuban State Agrarian University, Krasnodar,
Russia*

В данной работе авторами определена острая токсичность препарата роксацин, который представляет собой 20 %-ный водный раствор полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ). Острую токсичность препарата роксацин в первой серии опыта изучали на белых мышах при внутрижелудочном его введении. Во второй серии опыта препарат роксацин назначали белым крысам подкожно, а в третьей серии опыта препарат вводили интрацистернально коровам. Результаты первой серии опыта показали, что препарат роксацин при внутреннем методе назначения является малотоксичным для белых мышей. В данном опыте не отмечено ни одного случая острой интоксикации и гибели животного. Опыты по определению острой токсичности препарата роксацин для белых крыс были проведены в трех повторностях. В первой серии эксперимента LD_{50} составила 4,8 мл/кг. Установлено, что вычисленные коэффициенты LD_{50} двух других серий были близки к приведенному: 2-я серия 4,2 мл/кг и 3-я – 4,5 мл/кг. Среднестатистическая LD_{50} по результатам всех трех серий составила 4,5 мл/кг массы тела. Таким образом, авторами установлено, что препарат роксацин при подкожном введении согласно ГОСТ 12.1.007-76 является малотоксичным соединением (4-й класс опасности). В результате проведения третьей серии опытов было установлено, что интрацистернальное введение коровам препарата роксацин в дозе 5 мл не оказывает токсического действия на организм животного, а также существенно не влияет на морфологические и биохимические показатели крови. Таким образом, препарат роксацин при разных путях введения является малотоксичным и может быть рекомендован для клинических исследований

In this article, the authors have defined the acute toxicity of Roksatsin preparation, which represents a 20 % aqueous solution of polyhexamethylene guanidinehydrochloride (PHMG). The acute toxicity of Roksatsin in the first series of experiments was studied on white mice upon intragastric administration. In the second series of the experiments, Roksatsin was administered subcutaneously to white rats and in the third series of experiments the preparation was administered intracisternally to cows. The results of the first series of experiments showed that Roksatsin by the internal method of appointment is slightly toxic to white mice. In this experiment not been a single case of acute intoxication and death of animals. Experiments to determine the acute toxicity of the preparation for white rats were performed in triplicate. In the first series of experiment, the LD_{50} was 4.8 ml/kg. It is found, that the calculated coefficients LD_{50} for other two series were close to the first one: the second - 4.2 ml/kg and the third - 4.5 ml/kg. Therefore, the authors found that the Roksatsin preparation upon subcutaneously administration according GOST 12.1.007-76 is a low-toxic compound (4th class of danger). As a result of the third series of the experiments, it was found that the intracisternally administration of Roksatsin preparation to cows in a dose of 5 ml is not toxic to the animal organism. Intracisternal administration of Roksatsin does not have a significant impact on the morphological and biochemical indices of blood. On this basis, Roksatsin preparation with different routes of administration is low-toxic and it can be recommended for clinical researches

Ключевые слова: ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ГУАНИДИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, РОКСАЦИН, ГИДРОХЛОРИД ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН, ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, ЛЕТАЛЬНАЯ ДОЗА, ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ, ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Doi: 10.21515/1990-4665-121-124

Keywords: SURFACTANTS, GUANIDINE COMPOUNDS, ROKSATSIN, HYDROCHLORIDE POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE, ACUTE TOXICITY, LETHAL DOSE, LABORATORY ANIMALS, TOXICOLOGICAL RESEARCH

Введение. На сегодняшний день перед ветеринарной наукой поставлена задача по обеспечению разработки и внедрения в практику более современных методов и средств профилактики и лечения болезней сельскохозяйственных животных, а также поиску эффективных ветеринарных препаратов [2,5,7,10].

В последнее время наблюдается существенное увеличение заболеваемости животных из-за снижения эффективности традиционных методов терапии, а также в связи с ростом устойчивости патогенных микроорганизмов к применяемым лекарственным препаратам [1,4,8,9].

Поверхностно-активные вещества вызывают большой интерес, как для здравоохранения, так и для ветеринарии, в связи с тем, что лекарственная устойчивость к ним развивается довольно медленно, токсичность их низкая, а действие комплексное (антимикробное, химиотерапевтическое, местноанестезирующее, репаративное, противовоспалительное, фунгицидное, противовирусное, иммуномодулирующее). Наилучшими в этом отношении являются катионноактивные детергенты, которые вследствие сочетания поверхностной активности и бактерицидных свойств являются перспективными для применения в фармацевтической технологии [3].

Одним из представителей группы катионных поверхностно-активных веществ является полигексаметиленгуанидин гидрохлорид. В связи с этим значительный практический интерес представляет определение фармако-токсикологических свойств и нового отечественного препарата на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида – роксацина [6].

Материалы и методы исследования. Общетокические свойства препарата роксацин оценивали согласно рекомендаций: «Методические рекомендации по изучению общетокического действия фармакологических средств» (Е.В. Арзамасцев, 1997), «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Р.У. Хабриев, 2005), «Методические указания по определению токических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» (Л.П. Маланин с соавт., 1988).

Токсикологические исследования были проведены на 25 белых нелинейных мышах массой 18,0-20,0 г, 90 белых беспородных крысах массой 150,0-160,0 г и 5 коровах.

Исследование острой токичности препарата роксацин проводили в трех сериях опыта для белых мышей, белых крыс и коров. Острую токичность препарата роксацин в первой серии опыта изучали на белых мышах при внутрижелудочном его введении. Во второй серии опыта препарат роксацин назначали белым крысам подкожно, а в третьей серии опыта препарат вводили интрацистернально коровам.

Первую серию опытов проводили с использованием 25 белых мышей, которые были сформированы в 5 групп по 5 мышей в каждой. В первой группе исследуемый препарат вводили внутрь в дозе 0,025 мл на одно животное, во второй группе - 0,05 мл, третьей – 0,075 мл, четвертой – 0,1 мл и пятой 0,2 мл. Для проведения данной манипуляции нами был использован шприц с изогнутой иглой и оливой на конце.

В предварительных опытах на белых мышах были проведены исследования по определению чувствительности животных к препарату в зависимости от пола.

Опыты по определению острой токичности препарата роксацин для белых крыс были проведены в трех повторностях. В данном эксперименте нами было использовано 90 белых беспородных крыс массой тела

150,0 - 160,0 г. В каждом повторе они были разделены на 5 групп по 6 животных в каждой. Для определения острой токсичности препарата при подкожном введении были испытаны дозы в диапазоне 10-1,5 мл/кг. Контрольным животным назначали дистиллированную воду.

Расчет ЛД₅₀ проводили по методу Кёрбера (М.Л. Беленький, 1963) с использованием формулы:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(Zd)}{m}, \text{ где}$$

ЛД₁₀₀ – доза изучаемого вещества, которая вызывала учитываемый эффект у всей группы животных;

d – интервал между каждыми двумя смежными дозами;

Z – среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждых двух смежных доз;

m – число животных в каждой группе.

В третьей серии опытов острую токсичность препарата роксацин изучали на 5-ти клинически здоровых коровах. Препарат вводили однократно в дозе 5 мл внутрицистернально в правые передние доли вымени. Левые передние доли служили контролем. До и после введения препарата роксацин через 12 и 24 часа брали кровь для гематологических исследований.

Результаты исследований. Острая токсичность – токсическое действие вещества, введенного в однократной дозе или в многократных дозах в течение не более 24 ч, которое может выражаться в расстройстве физиологических функций или нарушении морфологии органов экспериментальных животных, а также гибели животного.

Исследование острой токсичности препарата роксацин проводили в трех сериях опыта для белых мышей, белых крыс и коров.

Первую серию опытов проводили с использованием 25 белых мышей, которые были сформированы в 5 групп по 5 мышей в каждой. В первой группе исследуемый препарат вводили внутрь в дозе 0,025 мл на одно животное, во второй группе - 0,05 мл, третьей – 0,075 мл, четвертой – 0,1 мл и пятой 0,2 мл.

В результате проведения предварительных опытов на белых мышах не было выявлено чувствительности животных к препарату в зависимости от пола, поэтому во всех последующих экспериментах фактор пола не учитывали.

В течение 14 дней после введения изучаемого препарата в указанных дозах за всеми животными были установлены постоянные клинические наблюдения, в ходе которых учитывали их внешний вид и поведение, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, аппетит, подвижность, ритм и частоту дыхания. Обращали внимание на время возникновения и характер интоксикации, ее тяжесть, обратимость, сроки гибели животных или их выздоровления. Все выжившие животные подверглись патологоанатомическому вскрытию.

Расчет значения полумлетальной дозы (LD_{50}) проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона (М.Л. Беленький, 1963).

ТАБЛИЦА 1 - РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА РОКСАЦИН ПРИ ВНУТРЕННЕМ ВВЕДЕНИИ БЕЛЫМ МЫШАМ

Доза, мл	Количество животных, голов	Погибло, голов	Выжило, голов
0,025	5	-	5
0,05	5	-	5
0,075	5	-	5
0,1	5	-	5
0,2	5	-	5

Согласно таблицы 1, результаты первой серии опыта показали, что препарат роксацин при внутреннем методе назначения является малоток-

сичным для белых мышей. В данном опыте не отмечено ни одного случая острой интоксикации и гибели животного. Даже при назначении препарата роксацин белым мышам в максимально возможных дозах для введения внутрь (1 мл) не регистрировали их гибели, поэтому полученные результаты не позволили вычислить коэффициент летальности.

В течение 1-4-х часов у опытных мышей после введения изучаемого препарата отмечали кратковременное и слабовыраженное угнетение, которое характеризовалось понижением подвижности и вялостью, но в последующем активность животных восстановилась. Также регистрировали снижение аппетита в течение 1-3-х дней, которое связано с насильственным введением больших доз препарата.

Опыты по определению острой токсичности препарата роксацин для белых крыс были проведены в трех повторностях. В данном эксперименте нами было использовано 90 белых беспородных крыс массой тела 150,0 - 160,0 г. В каждом повторе они были разделены на 5 групп по 6 животных в каждой. Для определения острой токсичности препарата при однократном подкожном введении были испытаны дозы в диапазоне 10 - 1,5 мл/кг. Контрольным животным назначали дистиллированную воду. В течение 14 дней с начала введения препарата за животными устанавливали наблюдение, в ходе которого учитывали общее состояние, аппетит, картину интоксикации, количество погибших крыс и сроки их гибели. Всех павших животных подвергли патологоанатомическому вскрытию.

В ходе исследования было установлено, что результаты всех трех повторов были в основном аналогичными (таблица 2).

Доза препарата роксацин 1,5 мл/кг являлась максимально переносимой и не вызывала токсичного эффекта на организм белых крыс. Препарат в указанной дозировке не вызывал гибели животных, но с увеличением дозы токсическое действие его нарастало и отмечалась гибель животных. Картина интоксикации характеризовалась общим угнетением и отсутстви-

ем аппетита, крысы сидели сгорбившись и забившись в угол. В течение 1-3-х суток при явлениях угнетения и комы наступала их гибель.

ТАБЛИЦА 2 - ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА РОКСАЦИН ПРИ ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ БЕЛЫМ КРЫСАМ

Доза препарата роксацин, мл/кг						
	10	6	3,5	2,5	1,5	ЛД ₅₀
1-я серия						
Выжило	0	1	5	5	6	4,8 мл/кг
Пало	6	5	1	1	0	
2-я серия						
Выжило	0	1	3	5	6	4,2 мл/кг
Пало	6	5	3	1	0	
3-я серия						
Выжило	0	1	4	5	6	4,5 мл/кг
Пало	6	5	2	1	0	
ЛД ₅₀ из 3-х серий	4,5 мл/кг					

В первой серии эксперимента ЛД₅₀ составила 4,8 мл/кг. Установлено, что вычисленные коэффициенты ЛД₅₀ двух других серий были близки к приведенному: 2-я серия 4,2 мл/кг и 3-я – 4,5 мл/кг. Среднестатистическая ЛД₅₀ по результатам всех трех серий составила 4,5 мл/кг массы тела.

Таким образом, препарат роксацин при подкожном введении согласно ГОСТ 12.1.007-76 является малотоксичным соединением (4-й класс опасности).

В третьей серии опытов острую токсичность препарата роксацин изучали на 5-ти клинически здоровых коровах. Препарат вводили однократно в дозе 5 мл внутрицистернально в правые передние доли вымени. Левые передние доли служили контролем. До и после введения препарата роксацин через 12 и 24 часа брали кровь для гематологических исследований.

В результате проведения третьей серии опытов было установлено, что интрацистернальное введение коровам препарата роксацин в дозе 5 мл не оказывает токсического действия на организм животного. Общее состояние и аппетит животных, а также все физиологические показатели (температура, пульс, дыхание, число сокращений рубца) оставались в пределах нормы и отклонений в виде токсических проявлений не регистрировали. Показатели температуры, пульса, дыхания на протяжении всего срока наблюдения оставались в пределах физиологических границ.

Данные о биохимических и морфологических показателях крови коров после внутрицистернального введения препарата роксацин в дозе 5 мл представлены в таблице 3.

ТАБЛИЦА 3 – ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КОРОВ ДО И ПОСЛЕ ВНУТРИЦИСТЕРНАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА РОКСАЦИН (n=5), (M±m)

Показатели	До применения препарата	После применения препарата	
		через 12 часов	через 24 часа
Гемоглобин, г/л	97,9±1,03	100,8±1,24	98,7±1,03
Эритроциты, Ч10 ¹² /л	6,2±0,43	6,7±0,31	6,4±0,32
Лейкоциты, Ч10 ⁹ /л	8,7±0,55	9,1±0,55	8,8±0,21
Базофилы, %	0,6±0,4	0,4±0,24	0,2±0,2
Эозинофилы, %	3,8±0,37	3,8±0,49	3,8±0,37
Нейтрофилы, %:			
Юные,	0,4±0,24	0,2±0,2	-
Палочкоядерные,	3,8±0,2	4,2±0,37	4,6±0,4
Сегментоядерные	28,6±0,68	28,2±0,49	28,6±0,51
Лимфоциты, %	59,6±0,93	59,0±0,71	59,2±0,37
Моноциты, %	3,2±0,2	4,2±0,66	3,6±0,4
Общий белок, г/л	79,4±1,91	80,2±1,77	79,6±1,89
Альбумины, %	42,2±0,37	43,0±0,45	43,4±0,51
б - глобулины, %	14,4±0,51	14,8±0,37	14,2±0,73
в - глобулины, %	15,2±0,37	15,4±0,24	14,8±0,58
г - глобулины, %	28,2±0,58	26,8±0,8	27,6±0,81

Согласно данным, приведенным в таблице 3, при внутрицистернальном введении препарата роксацин клинически здоровым коровам в дозе 5 мл достоверные различия в содержании эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина отсутствовали. Препарат роксацин также не оказывает существенного влияния на содержание в крови общего белка и белковых фракций.

Выводы. Препарат роксацин относится к 4-му классу опасности – вещества малоопасные, в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007.-76. Минимально переносимой дозой препарата роксацин для белых крыс является доза 1,5 мл/кг, а ЛД₅₀ составляет 4,5 мл/кг.

Рекомендации. Препарат роксацин при разных путях введения является малотоксичным и может быть рекомендован для клинических исследований.

Список литературы:

1. Горпинченко, Е.А. Профилактическая эффективность препарата микробиостим при осложненном отеле и послеродовом периоде у коров / Е.А. Горпинченко, И.С. Коба, А.Н. Турченко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2008. - № 40. – С. 210-216.
2. Зеркалев, Д.Ю. Разработка средств специфической профилактики и лечения вирусной геморрагической болезни кроликов в Краснодарском крае: автореф. дисс. канд. биол. наук / Д.Ю. Зеркалев; КубГАУ. – Краснодар, 2004. – 29 с.
3. Лифенцова, М.Н. Эффективность применения препарата роксацин при первичной хирургической обработке ран у крупного рогатого скота / М.Н. Лифенцова, А.И. Сидоренко // Вестник ветеринарии. – 2011. - № 4 (59). – С. 39-40.
4. Назаров, М.В. Индукция и синхронизация воспроизводительной функции молочных коров в промышленных комплексах / М.В. Назаров, Е.А. Горпинченко, Е.А. Аганин, А.С. Скрипникова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. - № 98. – С. 1497-1510.
5. Новикова, Е.Н. Применение пробиотика гипролам для профилактики послеродового эндометрита / Е.Н. Новикова, И.С. Коба, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. - № 40. – С. 146-147.
6. Сидоренко, А.И. Эффективность аэрозольного применения препарата роксацин для профилактики респираторных заболеваний молодняка / А.И. Сидоренко, М.Н. Лифенцова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2011. - № 1-2. – С. 39-41.
7. Сиренко, В.В. Применение препарата «Биоген» для профилактики нарушения обмена веществ у коров / В.В. Сиренко // Инновационные процессы и технологии в

современном мире: материалы Международной научно-практической конференции. – Уфа, 2013. – С. 9-12.

8. Скрипникова, А.С. Применение препарата роксацин при остром гнойно-катаральном эндометрите коров / А.С. Скрипникова, М.Н. Лифенцова, Ю.И. Белик, В.В. Сиренко, Д.П. Винокурова // Молодой ученый. – 2015. - № 7. – С. 1045-1048.

9. Турченко, А.Н. Пробиотики в животноводстве и ветеринарии Краснодарского края / А.Н. Турченко, И.С. Коба, Е.Н. Новикова, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. - № 34. – С. 184-186.

10. Турченко, А.Н. Перспектива решения акушерско-гинекологической патологии у коров на промышленной ферме / А.Н. Турченко, И.С. Коба, Е.Н. Новикова, М.Б. Решетка, Е.А. Горпинченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. - № 34. – С. 194-196.

References

1. Gorpichenko, E.A. Profilakticheskaja jeffektivnost' preparata mikrobiostim pri oslozhnennom otele i poslerodovom periode u korov / E.A. Gorpichenko, I.S. Koba, A.N. Turchenko // Politematicheskij setевой jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2008. - № 40. – S. 210-216.

2. Zerkalev, D.Ju. Razrabotka sredstv specificheskoy profilaktiki i lechenija virusnoj gemorragicheskoy bolezni krolikov v Krasnodarskom krae: avtoref. diss. kand. biol. nauk / D.Ju. Zerkalev; KubGAU. – Krasnodar, 2004. – 29 s.

3. Lifencova, M.N. Jeffektivnost' primeneniya preparata roksacin pri pervichnoj hirurghicheskoy obrabotke ran u krupnogo rogatogo skota / M.N. Lifencova, A.I. Sidorenko // Vestnik veterinarii. – 2011. - № 4 (59). – S. 39-40.

4. Nazarov, M.V. Indukcija i sinhronizacija vosproizvoditel'noj funkcii molochnyh korov v promyshlennyh kompleksah / M.V. Nazarov, E.A. Gorpichenko, E.A. Aganin, A.S. Skripnikova // Politematicheskij setевой jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2014. - № 98. – S. 1497-1510.

5. Novikova, E.N. Primenenie probiotika giprolam dlja profilaktiki poslerodovogo jendometrita / E.N. Novikova, I.S. Koba, E.A. Gorpichenko // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2013. - № 40. – S. 146-147.

6. Sidorenko, A.I. Jeffektivnost' ajerozol'nogo primeneniya preparata roksacin dlja profilaktiki respiratornyh zabolevanij molodnjaka / A.I. Sidorenko, M.N. Lifencova // Vestnik Michurinskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2011. - № 1-2. – S. 39-41.

7. Sirenko, V.V. Primenenie preparata «Biogen» dlja profilaktiki narusheniya obmena veshhestv u korov / V.V. Sirenko // Innovacionnye processy i tehnologii v sovremennom mire: materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. – Ufa, 2013. – S. 9-12.

8. Skripnikova, A.S. Primenenie preparata roksacin pri ostrom gnojno-kataral'nom jendometrite korov / A.S. Skripnikova, M.N. Lifencova, Ju.I. Belik, V.V. Sirenko, D.P. Vinokurova // Molodoj uchenyj. – 2015. - № 7. – S. 1045-1048.

9. Turchenko, A.N. Probiotiki v zhivotnovodstve i veterinarii Krasnodarskogo kraja / A.N. Turchenko, I.S. Koba, E.N. Novikova, M.B. Reshetka, E.A. Gorpichenko // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2012. - № 34. – S. 184-186.

10. Turchenko, A.N. Perspektiva reshenija akushersko-ginekologicheskoy patologii u korov na promyshlennoj ferme / A.N. Turchenko, I.S. Koba, E.N. Novikova, M.B. Reshetka, E.A. Gorpichenko // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2012. - № 34. – S. 194-196.