

УДК 619.615.9-07.615.2

<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2022-1-68-74>

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор

Савчук Т.М., научный сотрудник

Кучинская Г.М., научный сотрудник

Баянков А.С., магистрант

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесского», г. Минск

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ АНТИПРОТОЗОЙНОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНОГО ХИНАЗОЛИНОНА

Резюме

В статье приводятся результаты токсикологических исследований нового ветеринарного препарата, предназначенного в качестве лечебно-профилактического средства при криптоспориidioзе телят. Установлено, что испытуемый образец относится к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

Ключевые слова: токсичность, крысы, кролики, морские свинки, препараты, производное хиначолинона, криптоспориidioз.

Summary

The article presents the results of toxicological studies of a new veterinary drug intended as a therapeutic and prophylactic agent for cryptosporidiosis of calves. It is established that the test sample belongs to hazard class 4 (low-hazard substances).

Keywords: animals, toxicity, rats, rabbits, guinea pigs, drugs, quinazolinon, cryptosporidiosis.

Поступила в редакцию 29.04.2022 г.

Зооантропонозные заболевания являются актуальной проблемой как ветеринарной, так и гуманной медицины. Одним из них является криптоспориidioз, вызываемый паразитированием простейших из рода *Cryptosporidium* [8]. Болезнь протекает с признаками угнетения, снижения аппетита, нарушения обмена веществ и иммунитета, а также поражения пищеварительного тракта [2, 6]. Естественным резервуаром криптоспориидий чаще являются животные. У некоторых из них (крысы, мыши, кролики, собаки, кошки, птицы, рептилии и др.) криптоспориidioзная инвазия протекает без клинических проявлений, а у других (телята, козлята, ягнята, поросята, олени, обезьяны) – с многообразными и выразительными клиническими симптомами. Факторы передачи возбудителя – корм, вода, вымя коров, загрязнённые ооцистами, возможно внутриутробное заражение [2, 7].

Исследования показывают, что криптоспориидии в организме животных часто обнаруживаются в комплексе с эшерихиями, кластридиями, сальмонеллами, что значительно отягощает течение болезни и может приводить к их гибели [2].

Криптоспориidioз животных имеет широкое распространение. В Республике Беларусь возбудитель криптоспориidioза диагностируется у крупного рогатого скота, овец и свиней, причем более интенсивно поражается крупный рогатый скот, особенно телята до 20-дневного возраста. Источником инвазии для телят является взрослый крупный рогатый скот, другие виды животных, а также обслуживающий персонал. Ооцистами, которые выделяют больные телята, могут инфицироваться другие животные, а также люди [2, 4, 6].

В настоящее время криптоспориidioз молодняка крупного рогатого скота до-

статочно широко распространен и диагностируется во все сезоны года, но пик инвазии все же приходится на конец зимы и весну, когда новорожденные телята находятся в состоянии иммунодефицита и влажная погода этого периода способствует высокой выживаемости ооцист криптоспоридий [2, 6].

Ущерб, причиняемый простейшими вида *Cryptosporidium parvum*, очень высок и складывается из убытков, причиняемых падежом молодняка, отставанием в росте и развитии переболевших животных, а также из расходов, связанных с организацией профилактических и лечебных мероприятий [3, 7].

В течение длительного времени в практике ветеринарной медицины для борьбы с криптоспориозом используются фармакологические препараты различных групп, однако практически все они имеют определенные недостатки, в том числе высокую токсичность и недостаточную эффективность [2, 5, 7].

В последние годы эффективная защита животных от эндо- и эктопаразитов базируется на применении современных высокоэффективных противопаразитарных средств. Их разработка является процессом трудоёмким и длительным, в котором важная роль отводится токсикологической оценке. Она является первым и обязательным этапом доклинических исследований новых ветеринарных препаратов. Именно доклиническое исследование на лабораторных животных определяет их дальнейшую судьбу.

Из литературных данных известно, что выраженной антипротозойной активностью обладают производные хинозалинона, относящиеся к группе азотсодержащих полигетероциклических соединений [3, 7].

С учетом вышеизложенного был создан экспериментальный образец препарата с рабочим названием «Ветгалофугинон», который содержит в 1,0 мл в качестве действующего вещества 0,5 мг галофугинона лактата, а также вспомогательные вещества. По внешнему виду он пред-

ставляет собой прозрачную жидкость желтого цвета.

Ветгалофугинон планируется применять в практике ветеринарной медицины как лечебно-профилактическое средство при криптоспориозе телят.

Цель работы – проведение токсикологических исследований экспериментального образца инъекционного препарата на основе производного хиназолинона – галофугинона лактата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение острой токсичности экспериментального образца ветеринарного препарата проведено на белых крысах массой тела 180–200 г в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Исследования выполнены согласно нормативному документу [1].

Среднесмертельную дозу (LD_{50}) рассчитывали по методу Кёрбера. Класс опасности определяли по ГОСТ 12.1.007-76 (Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности).

Ориентировочная среднесмертельная доза была определена в предварительном эксперименте на 8 крысах, на основании результатов которого был поставлен развернутый опыт.

В развернутом опыте было испытано 5 доз препарата: 27500, 25000, 22500, 20000 и 17500 мг/кг массы тела, что составляет соответственно 5,2; 4,7; 4,3; 3,8 и 3,3 мл на крысу, или 13,75; 12,50; 11,25; 10,0 и 8,75 мг/кг по действующему веществу. На каждую дозу было взято по 6 животных. Для контроля было отобрано 6 крыс, которым внутривентриально вводили по 5,0 мл дистиллированной воды. За опытными и контрольными животными в течение 14 дней вели постоянные клинические наблюдения с регистрацией общего состояния, реакций на корм, воду и внешние раздражители.

Хроническую токсичность препарата определяли на белых крысах массой 170–220 г. При этом руководствовались резуль-

татами, полученными при изучении острой токсичности. Изучена 1/10, 1/20 и 1/50 от ЛД₅₀, что составляет 2250 мг/кг (1-я группа), 1125 мг/кг (2-я группа) и 450 мг/кг (3-я группа) массы тела. Перед испытанием препарат разводили дистиллированной водой 1:10 и вводили с учетом динамики живой массы 4,4–5,8; 2,1–2,6 и 0,8–1,0 мл на крысу соответственно ежедневно внутрижелудочно в течение 30 дней. На каждую дозу препарата брали по 10 крыс. Животным контрольной группы (4-я группа) в количестве 10 голов вводили по 5,0 мл дистиллированной воды.

В течение всего эксперимента за крысами вели наблюдение, учитывая потребление корма и воды, состояние шерстного покрова, поведение, прирост живой массы. В конце опыта крыс убивали, брали кровь для биохимического исследования, производили патологоанатомическое вскрытие для установления характера повреждающего действия препарата и взвешивали внутренние органы.

Для оценки местно-раздражающего действия экспериментального образца препарата на кожу и слизистые оболочки глаз было использовано 4 взрослых кролика массой тела 2,6–2,8 кг. На кожный покров кроликов после выстригания шерсти в области спины размером 7×8 см наносили препарат в нативном виде в дозе 20,0 мг/см², или 0,02 мл/см². Экспозиция составляла 4 ч. За клиническим состоянием и возможным проявлением интоксикации наблюдали в течение 2 недель. При этом регистрировали функциональные изменения на коже, характеризующиеся проявлением различной степени выраженности эритемы и отека.

Аллергизирующее действие ветгалофугинона изучали в условиях вивария института на 10 морских свинок массой 250–300 г методом накожных аппликаций. Сенсибилизацию проводили путем ежедневных аппликаций в количестве 0,1 мл на выстриженный участок кожи боковой поверхности туловища размером 2×3 см в течение 15 дней. Остатки препарата с кожи удаляли через 4 ч. Разрешающую дозу в

той же концентрации наносили после 14-дневного интервала. Сенсибилизирующую способность экспериментального образца созданного препарата учитывали регулярно, оценивая реакцию со стороны кожи.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ результатов изучения острой токсичности показал, что после введения препарата в дозе 17500 мг/кг массы тела у белых крыс отмечалось кратковременное снижение двигательной активности, аппетит был сохранен, гибели животных не было.

Доза препарата 20000 мг/кг массы у лабораторных животных вызывала в начале легкую гиподинамию, затем крысы активизировались, аппетит был ослаблен, в течение суток пала 1 крыса.

С увеличением дозы вводимого препарата (22500, 25000 мг/кг) клинические признаки интоксикации усиливались. У животных наблюдалась гипо- и адинамия, крысы ложились, аппетит был ослаблен, а некоторые отказывались от приема корма и воды, дыхание учащалось, реакция на внешние раздражители была снижена. В течение двух суток погибли 2 и 4 крысы соответственно.

В дозе 27500 мг/кг массы отмечена 100%-ная гибель животных. Основная масса животных погибала в течение первых 24 ч.

В контрольной группе у крыс признаков интоксикации не наблюдалось. В течение всего периода наблюдений они были активны, охотно принимали корм и воду.

Результаты изучения хронической токсичности препарата «Ветгалофугинон» показали, что на протяжении всего опыта крысы опытных и контрольной групп охотно поедали корм и пили воду. По внешним признакам животные всех групп не отличались между собой: были подвижны, реагировали на внешние раздражители. Шерсть у всех крыс была гладкая, блестящая, кожный покров розового цвета без видимых повреждений, слизистые оболочки глаз влажные, блестящие, розового цвета.

В течение всего опыта не было случаев заболеваемости и гибели крыс всех четырех групп.

Результаты биохимического исследования сыворотки крови лабораторных животных в конце опыта приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Биохимические показатели сыворотки крови опытных и контрольных крыс в конце опыта

Показатель	Группа			
	1	2	3	4 (контроль)
Общий белок, г/л	105,04±8,91	90,10±7,76*	107,14±6,62	117,80±3,60
Альбумин, г/л	48,24±4,42	41,66±3,32*	48,76±3,20	52,52±2,11
Амилаза, У/л	783,40±54,31	855,40±78,94	721,80±26,45	759,20±22,72
Аланинаминотрансфераза, У/л	51,12±17,19	33,14±14,99	43,80±16,45	39,34±15,09
Амилаза, У/л	783,40±54,31	855,40±78,94	721,80±26,45	759,20±22,72
Аспаргатаминотрансфераза, У/л	168,20±23,15	160,2±17,96	217,80±17,38	199,2±18,94
Билирубин прямой, мкмоль/л	16,29±3,95	15,67±2,82	17,45±6,10	22,4±3,79
Холестерин, ммоль/л	2,25±0,23	2,08±0,20	2,37±0,10	2,67±0,18
Триглицериды, ммоль/л	1,43±0,14*	2,59±0,94	2,50±0,59	2,97±0,49
Креатининкиназа, У/л	28,04±5,69	22,74±1,10*	22,89±5,41	28,44±2,58
Креатинин, мкмоль/л	72,86±1,56	69,16±3,03	70,96±2,06	72,64±1,77
Мочевая кислота, мкмоль/л	653,00±159,80	599,60±96,96	686,60±119,54	754,10±86,32
Глюкоза, ммоль/л	8,00±0,37	8,97±0,69	8,17±0,54	9,34±0,94
Лактатдегидрогеназа, ЕД/л	2867±351,60	2476,40±480,16	3253,20±270,41	3183,80±212,93
Натрий, ммоль/л	126,00±18,29	132,40±11,75	90,00±15,02	122,40±17,75
Кальций, ммоль/л	2,64±0,12	2,50±0,10	2,69±0,10	2,78±0,08
Магний, ммоль/л	1,15±0,04	1,04±0,08	1,21±0,08	1,24±0,07
Хлор, ммоль/л	118,60±4,74	146,60±33,64	119,20±5,54	120,0±2,10
Железо, мкмоль/л	137,14±33,04	99,9±23,11	148,50±31,52	162,40±16,61
Цинк, мкмоль/л	414,60±63,84	396,40±59,21	492,80±81,40	506,60±49,76

Примечание – *уровень значимости критерия достоверности по отношению к контрольной группе $P < 0,05$

Из таблицы 1 видно, что некоторые биохимические показатели (общий белок, альбумин, триглицериды и креатининкиназа) у лабораторных животных опытных групп в конце срока наблюдения достоверно отличались от аналогичных показателей контрольных крыс. На наш взгляд, сниже-

ние уровня общего белка за счет альбумина может свидетельствовать о гепатотоксическом действии испытуемого препарата.

Данные по динамике прироста массы тела опытных и контрольных крыс приведены в таблице 2.

Таблица 2. – Изменение массы тела опытных и контрольных крыс в течение опыта

Период опыта	Группа и масса крыс (г)			
	1	2	3	4 (контроль)
	M±m	M±m	M±m	M±m
Начало	198,40±3,08	191,20±4,56	175,50±5,20	214,00±4,20
10-й день	226,90±3,04	208,90±5,28	195,50±5,54	239,80±4,54
20-й день	249,20±3,49	226,80±5,70	209,70±6,42	264,00±5,22
30-й день	254,60±3,92	231,00±6,57	221,30±6,06	269,90±5,92
% к исходной массе тела	128,32	120,81	126,09	126,12

Данные таблицы 2 показывают, что в различные периоды эксперимента среди животных опытных и контрольной групп отмечены некоторые различия в темпах прироста массы тела. Тем не менее, у опытных крыс 1-й группы, получавших препарат в максимальной дозе (2250 мг/кг массы тела), на 30-й день опыта масса тела была несколько выше в сравнении с опытными животными 2-й и 3-й групп и лишь на 5,7 % ниже, чем в контрольной группе.

При этом процент прироста к исходной массе тела у опытных крыс 1-й группы оказался даже несколько выше, чем у контрольных животных.

При патологоанатомическом вскрытии трупов белых крыс опытных и контрольной групп каких-либо изменений во внутренних органах не обнаружено.

Значения весовых коэффициентов внутренних органов животных представлены в таблице 3.

Таблица 3. – Влияние экспериментального препарата на весовые коэффициенты внутренних органов опытных и контрольных крыс

Орган	Группа			
	1	2	3	4 (контроль)
	M±m	M±m	M±m	M±m
	Весовые коэффициенты			
Печень	38,32±2,48	42,73±4,13	38,05±1,83	38,26±0,79
Селезенка	3,42±0,17	4,18±0,40	4,27±0,27	3,36±0,11
Легкие	9,14±0,95	11,32±1,55	10,02±1,67	9,80±1,14
Сердце	3,66±0,16	3,97±0,40	3,99±0,21	3,18±0,17
Почки	7,25±0,66	6,92±0,83	5,93±0,12	6,18±0,24

Проанализировав данные таблицы 3, можно заключить, что весовые коэффициенты внутренних органов крыс, подвергшихся хроническому воздействию сконструированным препаратом, находились в

пределах физиологической нормы и статистически не отличалась от данных контрольной группы.

Данные, характеризующие влияние препарата на кожу, приведены в таблице 4.

Таблица 4. – Результаты исследований по оценке функционального состояния кожи при изучении местного раздражающего действия препарата

№ кролика	Интенсивность эритемы	Оценка в баллах	Интенсивность отека, величина нарастания толщины кожной складки, мм	Оценка в баллах
1	отсутствие эритемы	0	отсутствие отека	0
2	отсутствие эритемы	0	отсутствие отека	0
3	отсутствие эритемы	0	отсутствие отека	0
4	отсутствие эритемы	0	отсутствие отека	0
среднегрупповой балл		0	среднегрупповой балл	0

Из данных, представленных в таблице 4, следует, что при однократных накожных аппликациях экспериментального образца препарата в дозе 20 мг/см³ на выстриженные участки кожи спины кроликов внешних признаков интоксикации не наблюдается. В области нанесения препарата кожа оставалась эластичной, естественной окраски. В течение всего периода наблюдений подопытные животные оставались активными, аппетит был сохранен.

В нижний конъюнктивальный мешок правого глаза кроликов однократно

вносили ветгалофугинон в нативном виде в количестве 100,0 мкл, а в левый глаз – по 2 капли дистиллированной воды. Визуальное наблюдение за состоянием слизистой проводили также в течение 2 недель, регистрируя при этом наличие слезотечения, блефароспазм, инъекцию сосудов, набухание век, выраженность симптомов и их длительность.

Данные о влиянии экспериментального препарата на слизистые оболочки глаз приведены в таблице 5.

Таблица 5. – Результаты изучения оценки раздражающего действия препарата на слизистые оболочки глаз по степени выраженности симптомов

Симптомы повреждения	Характеристика выраженности симптомов	Оценка в баллах
Гиперемия конъюнктивы роговицы	отсутствует	0
Отек век	отсутствует	0
Выделения из глаза	отсутствуют	0
Среднегрупповой балл		0

Анализ данных, представленных в таблице 5, показывает, что однократное внесение в конъюнктивальный свод глаз кроликов 100,0 мкл препарата в нативном виде не вызывает изменений со стороны органа зрения и слизистых оболочек.

Анализ результатов опыта на морских свинках по изучению аллергизирующего действия показал, что испытуемый образец созданного препарата при многократной его аппликации на кожу не обладает аллергенной способностью.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза экспериментального образца ветеринарного препарата на основе галофугинона лактата при внутрижелудочном введении белым крысам составляет 22500 мг/кг массы тела.

2. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» созданный

экспериментальный образец препарата относится к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

3. Внутрижелудочное введение ветгалофугинона белым крысам в течение 30 дней в дозах 1/10, 1/20 и 1/50 от ЛД₅₀ не оказывает существенного влияния на клиническое состояние лабораторных животных, не нарушает обмен веществ, не вызывает патологоанатомических изменений во внутренних органах и не влияет на их весовые коэффициенты.

4. По классификации выраженности раздражающих кожу свойств экспериментальный образец ветеринарного препарата на основе производного хиназолинона относится к первому классу (раздражающее действие отсутствует). Он также не оказывает повреждающего действия на слизистые оболочки и орган зрения.

5. Аллергизирующего действия у ветгалофугинона не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
2. Пахноцкая, О. П. Криптоспоририоз телят (патогенез, иммуноморфогенез, разработка и эффективность нового иммуностимулирующего препарата «Янсевит») : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 03.02.11 : Паразитология / О. П. Пахноцкая // Нац. акад. наук Беларуси, РУП «Ин-т экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского». – Минск, 2016. – 24 с.
3. Рекомендации по применению новых лекарственных средств растительного и химического происхождения при гельминтозах и протозоозах мелких жвачных : рекомендации / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2017. – 28 с.
4. Руководство по ветеринарной паразитологии / А. И. Ятусевич [и др.]; под ред. В. Ф. Галата, А. И. Ятусевича. – Минск : ИВЦ Минфина, 2015. – 411 с.
5. Шахов, А. Г. Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях / А. Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2003. – № 2. – С. 6–7.
6. Якубовский, М. В. Показатели гуморального иммунитета у телят при криптоспоририозе / М. В. Якубовский, О. П. Пепеляева // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 4. – С. 44–48.
7. Якубовский, М. В. Криптоспоририоз животных и его профилактика / М. В. Якубовский, Т. Я. Мяцова, С. И. Лавор // Весці Акадэміі навук БССР. Серыя с.-г. навук. – Минск : Навука. – 1991. – № 2. – С. 116–121.
8. Якубовский, М. В. Криптоспоририоз в Республике Беларусь / М. В. Якубовский, Г. Н. Чистенко // Здравоохранение Беларуси. – 1993. – № 3. – С. 34–38.