

sredney Sibiri: sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya: mat-ly Mezhhregionalnoy nauch-praktich. konf. s mezhdunarodnym uchastiem. – Abakan, 2017. – S. 40-44.

11. Soloshenko V.A. i dr. Razvedenie myasnogo skota v Sibiri // Nauchno-tekhnicheskii progress v selskokhozyaystvennom proizvodstve. Agrarnaya nauka – selskokhozyaystvennomu proizvodstvu Sibiri, Kazakhstana, Mongolii, Belarusi i Bolgarii: mat-ly

mezhd. nauch.-praktich. konf. – Minsk, 2016. – S. 38-44.

12. Sheveleva O.M., Bakharev A.A. Adaptatsiya i khozyaystvenno-biologicheskie osobennosti myasnogo skota v Tyumenskoy oblasti // Sibirskiy vestnik selskokhozyaystvennoy nauki. – 2009. – No. 2. – S. 63-70.

13. Sheveleva O.M., Bakharev A.A., Krinitsina T.P. i dr. Myasnoe skotovodstvo Tyumenskoy oblasti // Mir innovatsiy. – 2017. – No. 1. – S. 112-117.



УДК 619:615.272:636.028

Ю.А. Чекунова, Н.Ю. Беляева,
Ю.А. Хаперский, А.И. Ашенбреннер
Yu.A. Chekunkova, N.Yu. Belyayeva,
Yu.A. Khaperskiy, A.I. Aschenbrenner

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦИТОГУМАТА

EVALUATION OF TOXIC PROPERTIES OF CYTOHUMATE

Ключевые слова: цитогумат, эндометрит, белые мыши, острая токсичность, хроническая токсичность, летальная доза, класс токсичности.

Обязательным этапом доклинического исследования нового препарата является изучение его токсикологических свойств. Цель исследования – изучить острую и хроническую токсичность Цитогумата®. Работа выполнялась в лаборатории ветеринарии ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий». Токсические свойства изучены в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве». Цитогумат® – 4-6%-ный водный раствор гумата калия-натрия, на основе леонардита, производимый по уникальной технологии ООО НПК «Агрофармика», г. Новосибирск. Острую токсичность препарата определяли на белых мышах массой 18-22 г. Всего было сформировано 5 групп по 10 животных в группе. Цитогумат® в различной

концентрации вводили мышам внутривентрально. Объем препарата не превышал 0,5 мл. Наблюдения за животными вели 14 дней. Хроническую токсичность Цитогумата® также изучали на белых мышах с исходной массой 14-16 г, распределенных на опытную и контрольную группы по 20 гол. в каждой. Цитогумат® вводили в основной рацион мышей опытной группы в количестве 10%. Продолжительность опыта – 90 дней. Каждые 7-10 дней – взвешивание. В конце опыта проведено патологоанатомическое вскрытие, взвешивание внутренних органов и расчет массовых коэффициентов. При изучении острой токсичности Цитогумата® установлено, что его однократное введение мышам в дозах 2000, 3000, 4000 и 5000 мг/кг не вызывает видимых изменений в их общем состоянии и гибели на протяжении 14 дней. Среднесмертельную дозу (LD₅₀) установить не удалось. При изучении хронической токсичности установили, что его ежедневное скармливание в дозе 2000 мг/кг в течение 90 дней не оказывает токсического действия. Итак, Цитогумат® не

обладает острой токсичностью и согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу токсичности. Длительное скармливание препарата также не вызывает у мышей токсического действия.

Keywords: *Cytohumate, endometritis, white mice, acute toxicity, chronic toxicity, lethal dose, toxicity class.*

The study of the toxic properties of a new biological product is a mandatory stage of its pre-clinical research. The research goal was to study of acute and chronic toxicity of the Cytohumate® product. The research was conducted in 2018 at the Veterinary Medicine Laboratory of the Federal Altai Research Center of Agro-Biotechnologies. The toxic properties were studied in accordance with the "Methodology guidelines for determining the toxic properties of the products used in veterinary medicine and animal husbandry". Cytohumate® is a 4-6% aqueous solution of potassium and sodium humate based on leonardite; it is produced as per unique technology by the OOO NPK "Agrofarmika" in the City of Novosibirsk. Acute toxicity of the product was determined on white mice weighing 18-22 g. Altogether, 5 groups of 10 animals were formed. Different concentrations of Cytohumate®

were administered to mice intragastrically. The volume of the product did not exceed 0.5 mL. The animals were monitored for 14 days. Chronic toxicity of Cytohumate® was also studied on white mice with basic weight of 14-16 g; the mice were divided into trial and control groups of 20 animals each. Cytohumate® was introduced into the basic diet of the test group in an amount of 10%. The experiment lasted for 90 days. The mice were weighed every 7-10 days. At the end of the experiment, mice bodies were dissected, the internal organs were weighed and internal organ-to body weight ratios were calculated. The study of acute toxicity of Cytohumate® revealed that its single administration to mice at doses of 2000, 3000, 4000 and 5000 mg per kg did not cause visible changes in their general condition and death within 14 days. The median lethal dose (LD50) could not be determined. The study of chronic toxicity of Cytohumate® product revealed that its daily feeding at a dose of 2000 mg per kg during 90 days did not exerted any toxic effect. Therefore, Cytohumate® does not have any acute toxicity and according to the state standard GOST 12.1.007-76 it belongs to the Toxicity Category 4. Prolonged feeding of the product does not cause any toxic effect in mice.

Чекункова Юлия Александровна, к.в.н., с.н.с., лаб. ветеринарии, ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий», г. Барнаул. E-mail: 89130847532@mail.ru.

Беляева Нина Юрьевна, с.н.с., лаб. ветеринарии, ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий», г. Барнаул. E-mail: nglab@mail.ru.

Хаперский Юрий Александрович, к.в.н., доцент, вед. н.с., лаб. ветеринарии, ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий», г. Барнаул. E-mail: uax23@mail.ru.

Ашенбреннер Александр Иванович, к.в.н., с.н.с., лаб. ветеринарии, ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий», г. Барнаул. E-mail: nglab@mail.ru.

Chekunkova Yuliya Aleksandrovna, Cand. Vet. Sci., Senior Staff Scientist, Veterinary Medicine Lab., Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. E-mail: 89130847532@mail.ru.

Belyayeva Nina Yuryevna, Senior Staff Scientist, Veterinary Medicine Lab., Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. E-mail: nglab@mail.ru.

Khaperskiy Yuriy Aleksandrovich, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Leading Staff Scientist, Veterinary Medicine Lab., Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. E-mail: uax23@mail.ru.

Aschenbrenner Aleksandr Ivanovich, Cand. Vet. Sci., Senior Staff Scientist, Veterinary Medicine Lab., Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. E-mail: nglab@mail.ru.

Введение

Для интенсификации отрасли животноводства решающая роль отводится активизации воспроизводительной функции. В связи с этим необходимо изыскание новых методов профилактики акушерско-гинекологических болезней коров, с учетом комплексного анализа причин их возникновения [1]. Нарушения репродуктивной функции могут проявляться в виде патологических родов, задержания последа, субинволюции матки, эндометрита, дисфункций яичников [2, 3]. Их развитие во многом определяется состоянием гормонально-метаболического, антиоксидантного и иммунного статуса беременных коров [4].

Известно, что перед отелами, в период отелов, а также в первые два месяца лактации у коров, особенно молочного направления, отмечаются характерные изменения иммунной системы, отражающиеся, в частности, в изменении лейкоцитарной формулы. За один месяц до отела отмечаются наибольшие показатели Т-лимфоцитов, что определяет высокий уровень Т-клеточного иммунитета. Перед отелами количество лимфоцитов снижается и падает их функциональная активность [5]. Во время лактации вначале идет возрастание (на 43%) числа иммуноглобулинов первичного ответа (IgM), в более поздние сроки – иммуноглобулинов вторичного ответа IgG [6].

Итак, у коров в период глубокой стельности, отела и начале лактации возникают дисфункции иммунной системы, так как происходит адаптация организма к более высокому уровню метаболизма. Для профилактики и лечения функциональных нарушений иммунной системы применяют иммуномодуляторы на основе биологически активных веществ природного происхождения, обладающие высокой биодоступностью, широким спектром регуляторных эффектов, отсутствием побочных воздействий на организм [7]. К иммуномодуляторам относятся также различные средства на основе гуминовых соединений, эффективность применения которых не уступает известным растительным адаптогенам – женьшень, элеутерококк, солодка [8]. Так, результаты исследования кормовой добавки Гумитон в качестве средства профилактики и повышения эффективности терапии осложненных отелов и послеродовой патологии у коров молочного направления показали, что частота патологических отелов и послеродовых осложнений составляла в контрольной группе 60%, в опытной – 20,7%. Различия между группами высокодостоверны $P < 0,01$ [9].

В настоящее время в ветеринарной акушерско-гинекологической практике используется много новых препаратов на основе природного сырья, обладающих обширным комплексом биологически активных веществ, которые применяются в критические физиологические периоды у коров. Следует отметить, что обязательным этапом доклинического исследования нового препарата является изучение его токсикологических свойств.

В связи с вышеизложенным поставили **цель** – изучить острую и хроническую токсичность перспективного биостимулятора природного происхождения – Цитогумата® «Zootechnics».

Материалы и методы исследований

Работа выполнялась в лаборатории ветеринарии ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий». Изучение токсических свойств препарата Цитогумат® «Zootechnics» проводилось в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств

препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» [10].

Цитогумат® «Zootechnics» – 4-6%-ный водный раствор гумата калия-натрия на основе леонардита – мягкого бурого угля. Препарат содержит соли гуминовых кислот – 40-60 г/л, фульвовую кислоту – 0,1-1%, растворимые соли кремниевой кислоты, макро-, микроэлементы, сквален, этиловые эфиры пальмитиновой, олеиновой и пальмитолеиновой кислот. Производится по уникальной технологии ООО НПК «Агрофармика», г. Новосибирск.

Острую токсичность препарата определяли на клинически здоровых нелинейных белых мышах массой 18-22 г, содержащихся согласно санитарным нормам. Всего было сформировано 5 групп по 10 животных в группе (5 самок и 5 самцов), в том числе 4 опытных и 1 – контрольная. Цитогумат® в различной концентрации вводили мышам внутривентрикулярно с помощью инъекционного шприца с обрезанной и отшлифованной иглой с напоем в форме оливы, натошак после 12-часовой голодной выдержки, держа их в вертикальном положении. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. Объем вводимого препарата и воды не превышал 0,5 мл. Корм животным задавали через 1-2 ч после введения препарата. Наблюдения за животными вели 14 дней (с особым вниманием в первые 30 мин., 4 и 24 ч). В течение всего периода опыта учитывали клиническое состояние опытных и контрольных животных, поедаемость кормов, поведение, массу тела и их сохранность. В конце опыта было проведено диагностическое вскрытие с целью изучения макроскопического состояния внутренних органов.

Исходя из вводимого объема, мы провели расчёт дозы препарата (табл. 1).

На мышах IV опытной группы была испытана предельная доза препарата – 5000 мг/кг, так как известно, что вещества природного происхождения с содержанием гуминовых соединения являются нетоксичными.

Таблица 1
Расчет доз препарата

Показатель	Расчётные значения для контрольных групп			
	I	II	III	IV
Концентрация препарата в растворе, %	8	12	16	20
Вводимый объём, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
Содержание препарата в растворе, мг	40	60	80	100
Доза препарата на 1 кг массы, мг	2000	3000	4000	5000

Хроническую токсичность Цитогумата® изучали на здоровых белых нелинейных мышах с исходной массой 14-16 г. Животные были распределены на опытную и контрольную группы по 20 голов в каждой (10 самок и 10 самцов, содержащихся отдельно). Цитогумат® вводили в основной рацион мышей опытной группы в количестве 10% от его основной массы, что соответствовало дозе 2000 мг/кг. Животные контрольной группы получали стандартный рацион из расчета 20 г на голову в сутки. Опыт продолжался в течение 90 дней. За мышами вели постоянное наблюдение, учитывая их общее состояние и поведение. Через каждые 7-10 дней проводили взвешивание животных опытной и контрольной групп. По окончании опыта мышей умертвляли гуманным способом, с последующим патологоанатомическим вскрытием, взвешиванием внутренних органов и расчетом их массовых коэффициентов, по формуле: $MK = \text{масса органа (г)} / \text{масса тела (г)} * 100\%$. Взвешивание животных и внутренних органов проводили на электронных весах.

Результаты исследований

В опыте по изучению острой токсичности Цитогумата® установлено, что его однократное внутрижелудочное введение мышам в дозах 2000, 3000, 4000 и 5000 мг/кг не вызывает видимых изменений в их общем состоянии и гибели на протяжении 14 дней наблюдения. Все опытные животные имели нормальные поведенческие реакции, хороший аппетит, удовлетворительно росли и развивались. Клинических признаков токсикоза у животных не наблюдали. При патологоанатомическом

исследовании внутренних органов у мышей видимые отклонения от нормы не выявлены.

Среднесмертельную дозу (LD₅₀) для Цитогумата® установить не удалось, так как за весь период наблюдения в контрольных группах не погибла ни одна мышь. В результате исследований установлено, что Цитогумат® не обладает острой токсичностью.

При изучении хронической токсичности Цитогумата® установлено, что его ежедневное скормливание в дозе 2000 мг/кг в течение 90 дней не оказывает токсического действия на организм мышей. Животные опытной группы в течение всего срока опыта оставались клинически здоровыми. Их шерстный покров был чистым, гладким, белым, блестящим. Кожа и слизистые оболочки имели розовый цвет. Поведение мышей характеризовалось активной подвижностью. Аппетит и поедаемость кормов были хорошими. Отклонений и нарушений в пищеварении и работе органов дыхания не обнаружено. Гибели животных за время опыта не регистрировали. Результаты взвешивания мышей при изучении хронической токсичности препарата приведены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 следует, что в группах на всем протяжении опыта прослеживается положительная динамика привесов. Динамика массы тела у мышей обоих полов контрольной и опытной групп достоверных различий не имеет ($p < 0,05$). Так, среднесуточный прирост живой массы у самцов в опытной группе составляет 0,178 г, в контрольной – 0,172 г, у самок – 0,199 и 0,190 г соответственно. Следует отметить, что среднесуточный привес у самок белых нелинейных мышей в опыте и контроле в 1,1 раза больше, чем у самцов в изучаемых группах.

При патологоанатомическом вскрытии нарушений в топографии, форме, строении и величине внутренних органов у мышей контрольной и опытной групп не выявлено. Для оценки состояния внутренних органов в токсикологии используется анализ показателя, характеризующего соотношение массы органа к массе тела. Массовый коэффициент дает возможность определить орган-мишень токсиканта. Мы рассчитали массовые коэффициенты некоторых внутренних органов у мышей контрольной и опытной групп (табл. 3).

Таблица 2

Динамика массы тела мышей опытной и контрольной групп, $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$, г

Период опыта	Опытная группа		Контрольная группа	
	♂	♀	♂	♀
Начало опыта	15,8±1,06	13,6±1,44	16,1±0,57	14,3±1,82,
10-й день	18,5±0,96	15,3±0,99	17,9±0,61	17,2±0,59
20-й день	20,0±1,21	18,3±0,61	20,4±0,73	18,2±1,10
30-й день	22,4±1,47	20,8±1,07	22,1±0,69	20,9±1,01
40-й день	24,3±1,53	22,8±0,98	24,7±0,66	22,6±1,27
50-й день	26,2±1,69	25,0±0,92	27,0±0,99	25,1±0,71
60-й день	28,1±1,33	27,0±0,83	28,1±1,25	27,2±1,39
70-й день	29,4±1,03	29,1±0,50	29,0±1,04	28,9±1,01
80-й день	31,1±1,25	30,2±0,77	31,3±1,04	30,1±1,26
Конец опыта	31,8±1,15	31,5±1,02	31,6±0,84	31,4±0,73

Таблица 3

Массовые коэффициенты органов, $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$, %

Орган	Опытная группа		Контрольная группа	
	♂	♀	♂	♀
Печень	6,96±0,242	6,72±0,197	7,17±0,413	6,75±0,189
Почки	1,88±0,042	1,54±0,042	1,79±0,087	1,58±0,09
Селезенка	0,74±0,053	0,72±0,041	0,93±0,143	0,71±0,101
Сердце	0,55±0,027	0,55±0,018	0,46±0,012	0,49±0,03

Данные таблицы 3 показывают, что различия в значениях весовых коэффициентов основных внутренних органов у мышей опытных и контрольной групп недостоверны ($p < 0,05$). Однако у самок белых мышей в обеих группах масса почек в среднем в 1,18 раз меньше, чем у самцов, что объясняется анатомо-физиологическими особенностями их организма.

Заключение

Таким образом, из результатов исследований следует, что Цитогумат® не обладает острой токсичностью, так как LD₅₀ установить не удалось. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 препарат Цитогумата® «Zootechnics» относится к IV классу токсичности –

вещества малоопасные [11]. Длительное скармливание препарата белым мышам в дозе 10% от общей массы рациона не вызывает у животных токсического действия.

Библиографический список

1. Дмитриева Т.О. Профилактика послеродовых заболеваний и алиментарной анемии у коров в сухостойный период // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2010. – № 4. – С. 77-79.
2. Кузьмич Р.Г. Клиническое акушерство и гинекология животных: учебник для вузов. – Витебск: ВГАВМ, 2002. – 313 с.

3. Bellows D.S., Ott S.L., Bellows R.A. (2002). Review: Cost of reproductive diseases and conditions in cattle. *Prof. Anim. Sci.* Vol. 18. P. 26-32.
4. Татарникова Н.А., Жданова И.Н. Профилактика послеродовых заболеваний репродуктивной системы у молочных коров // Научно-практический журнал Пермский аграрный вестник. – 2016. – № 2 (14). – С. 140-144.
5. Волкова С.В., Мелешкина С.Р., Семенов С.Н. Иммунологическая реактивность организма коров и их потомства // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 3. – С. 126-127.
6. Таирова А.Р., Молоканов В.А. Иммунологические свойства хитинового препарата // Ветеринария. – 2002. – № 1. – С. 45-48.
7. Деева А.В., Мехдикханов Г.Г., Соколов В.Д., Белоусова Р.В. Применение иммуномодуляторов продуктивным животным // Ветеринария. – 2008. – № 6. – С. 8-12.
8. Удинцев С.Н., Жияякова Т.П. Коррекция нарушений функции печени глубокостельных и лактирующих коров препаратом Гумитон // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2009. – № 12. – С. 67-73.
9. Применение в животноводстве кормовой добавки Гумитон на основе биологически активных соединений торфа / Н.М. Белоусов, С.Н. Удинцев, Т.П. Жияякова и др. – М.: Изд-во ООО «Редакция журнала «Достижения науки и техники АПК», 2012. – 232 с.
10. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве / Ветеринарные препараты: справочник / Л.П. Маланин и др.; под ред. А.Д. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 239-246.
11. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76. – М.: ФГУП «Стандартинформ», 2007. – 7 с.
1. Dmitrieva T.O. Profilaktika poslerodovykh zabolevaniy i alimentarnoy anemii u korov v sukhostoynyy period // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii. – 2010. – No. 4. – S. 77-79.
2. Kuzmich R.G. Klinicheskoe akusherstvo i ginekologiya zhivotnykh: uchebnik dlya vuzov. – Vitebsk: VGAVM, 2002. – 313 s.
3. Bellows D.S., Ott S.L., Bellows R.A. (2002). Review: Cost of reproductive diseases and conditions in cattle. *Prof. Anim. Sci.* Vol. 18. P. 26-32.
4. Tatarnikova N.A., Zhdanova I.N. Profilaktika poslerodovykh zabolevaniy reproduktivnoy sistemy u molochnykh korov // Nauchno-prakticheskiy zhurnal Permskiy agrarnyy vestnik. – 2016. – No. 2 (14). – S. 140-144.
5. Volkova S.V., Meleshkina S.R., Semenov S.N. Immunologicheskaya reaktivnost organizma korov i ikh potomstva // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. – 2004. – No. 3. – S. 126-127.
6. Tairova A.R., Molokanov V.A. Immunologicheskie svoystva khitinovogo preparata // Veterinariya. – 2002. – No. 1. – S. 45-48.
7. Deeva A.V., Mekhdikhanov G.G., Sokolov V.D., Belousova R.V. Primenenie immunomodulyatorov produktivnym zhivotnym // Veterinariya. – 2008. – No. 6. – S. 8-12.
8. Udintsev S.N., Zhilyakova T.P. Korrektsiya narusheniy funktsii pecheni glubokostelnykh i laktiruyushchikh korov preparatom Gumiton // Sibirskiy vestnik selskokhozyaystvenoy nauki. – 2009. – No. 12. – S. 67-73.
9. Primenenie v zhivotnovodstve kormovoy dobavki Gumiton na osnove biologicheskii aktivnykh soedineniy torfa / N.M. Belousov, S.N. Udintsev, T.P. Zhilyakova [i dr.]. – M.: Izdatelstvo OOO «Redaktsiya zhurnala «Dostizheniya nauki i tekhniki APK», 2012. – 232 s.
10. Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu toksicheskikh svoystv preparatov, primenyaemykh v veterinarii i zhivotnovodstve / Veterinarnye preparaty: spravochnik / Sost.: L.P. Malanin [i dr.]; pod red. A.D. Tretyakova. – M.: Agropromizdat, 1988. – S. 239-246.
11. Vrednye veshchestva. Klassifikatsiya i obshchie trebovaniya bezopasnosti: GOST 12.1.007-76. – M.: FGUP «Standartinform», 2007. – 7 s.

References

