



УДК 619:618.19-002:636.2

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

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ТКАНЕВОГО ПРЕПАРАТА

THE STUDY OF ACUTE TOXICITY OF A COMPLEX TISSUE MEDICINAL PRODUCT

Ключевые слова: доклинические исследования, экспериментальный препарат, подкожное введение, белые мыши, острая токсичность, массовый коэффициент.

Существующий в мире высокий интерес к лекарственным средствам природного происхождения (ЛСПП) сопровождается повышением требований к их эффективности и безопасности; методам контроля их качества. Учитывая вышесказанное, мы определили цель работы – изучить острую токсичность комплексного тканевого препарата при однократном подкожном введении белым мышам. Исследования проводились в период 2018 г., в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ФАНЦА. Эксперименты проводили на белых беспородных мышах (n=24, масса 18-20 г) обоего пола. Для определения острой токсичности комплексного тканевого препарата были сформированы 4 группы белых мышей по 6 голов в каждой. Первой опытной группе лабораторных животных подкожно вводили готовую лекарственную форму препарата в дозе 12,5 мл, второй опытной группе – в дозе 25 мл, а третьей – в дозе 50 мл на 1 кг массы тела. Экспериментальный препарат вводили однократно. В ходе эксперимента у животных развивалась сходная клиническая картина. В течение всего периода наблюдения существенных признаков изменения клинического состояния и поведения экспериментальных животных не наблюдалось. Отсроченной гибели животных в период наблюдения не отмечали. Темпы прироста массы тела в группах, получавших тканевой препарат в разных дозах в сравнении с контрольной группой (интактные животные), существенно не отличались и оказались статистически не достоверны. Введение тканевого препарата не привело к достоверному изменению массовых коэффициентов внутренних органов у мышей самок по сравнению с контрольными животными. В то время у самцов мышей установлено достоверное увеличение отношения массы печени к

массе тела. Исходя из того, что однократное подкожное введение не вызывало гибели животных и в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 по степени токсичности исследуемый препарат относится к IV классу опасности – вещества малоопасные.

Keywords: pre-clinical studies, experimental medicinal product, subcutaneous administration, white mice, acute toxicity, internal organ-to body weight ratio.

The existing strong worldwide interest to medicinal natural products is accompanied by increased requirements to their effectiveness and safety, and to their quality control methods. With this background, the research goal was to study acute toxicity of a complex tissue medicinal product at single subcutaneous administration to white mice. The research was conducted in 2018 at the Veterinary Medicine Laboratory of the Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies. The experiments were carried out on mongrel white mice (n = 24, weight of 18-20 g) of both sexes. To determine the acute toxicity of the complex tissue medicinal product, 4 groups of 6 white mice were formed. In the first trial group of laboratory animals, the finished dosage form of the medicinal product was subcutaneously injected at a dose of 12.5 mL, in the second trial group – at a dose of 25 mL, and in the third group – at a dose of 50 mL per one kg of body weight. The experimental medicinal product was administered once. A similar clinical pattern developed in the animals during the experiment. During the entire period of observation there were no significant signs of a change in the clinical state and behavior of the experimental animals. There were no delayed deaths of animals during the observation period. The rates of weight gain in the groups that were administered the tissue medicinal product at different doses as compared to the control group (intact animals) did not differ significantly and were out of statistical control. The

injection of the tissue medicinal product did not lead to a significant change of the internal organ-to-body weight ratio in female mice as compared to the control animals. At the same time, a significant increase of a liver-to-body weight ratio was revealed in male mice. Since a single subcutane-

ous injection does not cause the death of animals and in accordance with the state standard GOST 12.1.007-76, the medicinal product under study belongs to the hazard category IV – low-hazard substances in terms of toxicity degree.

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

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

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

Хаперский Юрий Александрович, к.в.н., доцент, вед. н.с., лаб. ветеринарии, ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробιοтехнологий», г. Барнаул. 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.

Belyayeva Nina Yuryevna, Senior Staff Scientist, Veterinary Medicine Lab., Federal Altai Research Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. 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.

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.

Введение

Мастит – одна из острых проблем для промышленного молочного скотоводства. Заболевание возникает в любое время года и причиняет значительный экономический ущерб, складывающийся из преждевременной выбраковки и снижения продуктивности коров, ухудшения санитарного качества молока, которое теряет питательные свойства и становится непригодным для технологической переработки. В странах с развитым молочным скотоводством маститы получили большое распространение [1].

Ряд зарубежных и отечественных ученых одной из основных причин возникновения у коров мастита признают инфекционное начало, а само заболевание считают контагиозным [2, 3]. Для лечения маститов используют препараты, которые в большинстве своём содержат антимикробные вещества, такие как антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны и т.д. Длительное применение монотерапии антибиотиками способствует появлению устойчивых к ним рас микроорганизмов и вызывает локальную иммунодепрессию молочной железы [4]. Высокие концентрации внутрицистернально введенных антибиотиков способны уменьшать фагоцитарную активность полиморфноядерных гранулоцитов [5]. Антибиотики также воздействуют на гуморальный имму-

нитет в молочной железе, снижая активность антителообразования, однако данное влияние зависит, от концентрации антибиотика [6]. Как известно, в патогенезе мастита в организме происходят различные метаболические и функциональные нарушения, развивается целый каскад иммунологических реакций [7, 8]. Клеточные и гуморальные факторы локального иммунитета молочной железы коров играют важное значение в формировании и поддержании иммунного гомеостаза на протяжении всей лактации [9, 10].

Тканевые препараты в отличие от антибиотиков не обладают антимикробным действием, но биологически активные вещества, в них содержащиеся, влияют в целом на обменные процессы в организме животного, а в очаге воспаления способствуют понижению и даже прекращению воспалительной реакции, повышают также общую неспецифическую резистентность макроорганизма, что выражается в усилении антителообразования, фагоцитоза, улучшают митоз клеток, что сопровождается усилением регенеративных и пролиферативных процессов [11].

Существующий в мире высокий интерес к лекарственным средствам природного происхождения (ЛСПП) сопровождается повышением требований к их эффективности и безопасности; методам контроля их качества. По сравнению с синте-

тическими препаратами ЛСПП обладают рядом отличительных особенностей: они содержат, как правило, несколько биологически активных веществ, которые определяют основное фармакологическое действие препаратов; обладают широким спектром биологической активности [12].

Поэтому дальнейшая разработка лекарственных средств, обладающих метаболическим и иммуномодулирующим воздействием как на общую неспецифическую резистентность организма, так и факторы локальной защиты вымени коров, является перспективным направлением в комплексной терапии маститов у животных.

Целью работы явилось изучение острой токсичности комплексного тканевого препарата при однократном подкожном введении белым мышам.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в период 2018 г. в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ФАНЦА. Объектом исследования служили опытные образцы комплексного тканевого препарата в инъекционной форме.

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах (n=24, масса 18-20 г) обоего пола. Животные содержались в виварии. Мышей случайным образом распределяли в опытные и контрольные группы после предварительного 5-дневного карантина и осмотра, исключающего использование в эксперименте больных и травмированных животных. Для определения острой токсичности комплексного тканевого препарата были сформированы 4 группы белых мышей по 6 голов в каждой. Первой опытной группе лабораторных животных подкожно вводили готовую лекарственную форму препарата в дозе 12,5 мл, второй опытной группе – в дозе 25 мл, а третьей группе – в дозе 50 мл на 1 кг массы тела. Экспериментальный препарат вводили однократно. Контрольным животным вводили физиологический раствор однократно в максимально возможном объеме для данного способа введения и вида животных. Далее наблюдали за опытными и контрольной группами мышей в течение 14 дней. В первые 8 ч после введения препарата наблюдение за животными вели

постоянно. В дальнейшем осматривали ежедневно утром и вечером с целью выявления их возможной гибели, а также описания их общего состояния и особенностей поведения. Массу тела животных определяли перед введением препаратов, далее до окончания эксперимента – еженедельно. Животных, павших в ходе эксперимента, вскрывали. По окончании эксперимента проводили эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие всех выживших мышей. Взвешивание живой массы животных и внутренних органов проводили на электронных весах. Расчет массовых коэффициентов производили по формуле: $MK = \text{Масса органа (г)} / \text{масса тела (г)} * 100\%$ [12].

Результаты исследований

В ходе эксперимента у животных, подвергнутых обработке комплексным тканевым препаратом, развивалась сходная клиническая картина. Развитие клинических признаков интоксикации у мышей после введения тканевого препарата в испытываемых дозах происходило быстро – в интервале первых 5-15 мин. эксперимента, что может указывать на высокую скорость абсорбции препарата. После введения препарата наблюдалось снижение двигательной активности мышей, дыхание становилось сначала частым и поверхностным, далее глубоким. У большинства особей отмечали нетипичное вынужденное положение тела. Восстановление двигательной активности происходило в среднем в течение 30-60 мин. после введения препарата и имело дозозависимый характер, как и тяжесть течения клинической картины интоксикации. В течение всего периода наблюдения существенных признаков изменения клинического состояния и поведения экспериментальных животных не наблюдалось. Отсроченной гибели животных в период наблюдения не отмечали. Даже при назначении тканевого препарата белым мышам в максимально возможных дозах для подкожного введения (1 мл) не регистрировали их гибели, поэтому полученные результаты не позволили вычислить коэффициент летальности.

Указанный препарат при однократном подкожном введении в исследуемых дозах не вызывал

достоверных изменений количества потребляемого корма и воды по сравнению с интактными мышами, которым вводили физиологический раствор. На протяжении всего эксперимента динамика роста массы тела животных была положительной. Темпы прироста массы тела в группах, получавших тканевый препарат в разных дозах в сравнении с контрольной группой (интактные животные), существенно не отличались и оказались статистически не достоверны (табл. 1).

Массовый коэффициент (МК) – процентное отношение массы органа к массе тела, интегральный показатель, используемый в токсикологии для оценки состояния внутренних органов. Анализ данного показателя при токсикологических исследова-

ниях дает возможность обнаружения органических мишени токсиканта, выявить признаки эндокринно-связанных эффектов.

Из результатов, представленных в таблице 2, следует, что однократное подкожное введение тканевого препарата не привело к достоверному изменению массовых коэффициентов внутренних органов у мышей самок по сравнению с контрольными животными. В то же время у самцов мышей установлено достоверное увеличение отношения массы печени к массе тела, однако массовые коэффициенты для сердца, почек и селезенки также преимущественно не отличались от интактных животных, а изменения были не достоверны.

Таблица 1

Влияние комплексного тканевого препарата при подкожном введении на массу тела мышей

Группа животных, доза мл/кг	Исходные данные	7 сут.	14 сут.	Прирост массы тела, %
Опыт на мышах самцах				
Контрольная группа	18,0±0,36	24,7±0,81	30,0±0,62	+ 66,5
1-я опытная группа (12,5 мл/кг)	18,6±0,52	25,3±0,12	30,1±0,09	+ 61,9
2-я опытная группа (25,0 мл/кг)	19,1±0,52	25,2±0,94	30,1±0,88	+ 57,1
3-я опытная группа (50,0 мл/кг)	19,5±0,49	26,3±0,67	30,9±0,58	+ 58,6
Опыт на мышах самках				
Контрольная группа	18,3±0,78	22,0±0,74	25,2±0,94	+ 37,5
1-я опытная группа, (12,5 мл/кг)	18,5±0,47	21,7±0,57	24,4±0,43	+ 31,9
2-я опытная группа (25,0 мл/кг)	19,3±0,70	23,5±1,10	26,5±0,98	+ 37,5
3-я опытная группа (50,0 мл/кг)	18,8±0,32	22,7±0,50	27,1±0,71	+ 44,1

Таблица 2

Массовые коэффициенты внутренних органов мышей после однократного подкожного введения тканевого препарата

Группа	Орган	Контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
Сердце	♂	0,45±0,06	0,44±0,03	0,45±0,03	0,48±0,03
	♀	0,44±0,06	0,41±0,02	0,42±0,03	0,47±0,01
Почки	♂	1,51±0,08	1,64±0,08	1,55±0,10	1,64±0,07
	♀	1,18±0,10	1,27±0,07	1,24±0,06	1,33±0,05
Селезенка	♂	0,46±0,05	0,38±0,04	0,36±0,03	0,41±0,08
	♀	0,27±0,03	0,33±0,05	0,33±0,05	0,35±0,01
Печень	♂	6,80±0,13	7,83±0,03*	7,70±0,44*	7,92±0,62*
	♀	6,60±0,08	6,70±0,38	7,01±0,44	6,79±0,09

Примечание. *p<0,05.

Заключение

По результатам исследования острой токсичности тканевого препарата: данные токсикометрии, наблюдение за экспериментальными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления, а также результаты некропсии позволили отнести вышеупомянутое средство к классу малотоксичных лекарственных веществ при однократном введении. Исходя из того, что однократное подкожное введение не вызывало гибели животных, руководствуясь классификацией Л.И. Медведь, Ю.С. Кагана, Е.И. Спыну (1968), принятой в настоящее время ВОЗ, токсичность данного препарата может быть классифицирована как невыраженная. В соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 по степени токсичности исследуемый препарат относится к IV классу опасности – вещества малоопасные.

Библиографический список

1. Богущ А.А., Иванов В.И., Бородич Л.М. Мастит коров и меры его профилактики: книга. – Минск: Белпринт, 2009. – 160 с.
2. Климов Н.Т. Роль микробного фактора в возникновении и развитии мастита у коров // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 33-36.
3. Cao L.T., Wu J.Q., Xie F., Hu S.H., Mo Y. (2007). Efficacy of Nisin in Treatment of Clinical Mastitis in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 90 (8). P. 3980-3985.
4. Логвинов Д.Д., Чумакова Т.А. Физиология и патология вымени у коров. – Киев, 1971. – С. 206-207.
5. Ziv G., Paape M.J., Dulin A.M. (1983). Influence of antibiotics and intramammary antibiotic products on phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by milk leucocytes. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 44 (3). P. 385-388.
6. Nickerson S.C., Paape, M.J., Harmon R.J., Ziv G. (1986). Mammary leukocyte response to drug therapy. *J. Dairy Sci.* Vol. 69 (6). P. 1733-1742.
7. Griesbeck-Zilch B., Meyer H.H., Kuhn C.H., Schwerin M., Wellnitz O. (2008). *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin messenger ribo-

nucleic acid in mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* Vol. 91 (6). P. 2215-2224.

8. Wellnitz O., Arnold E.T., Bruckmaier R.M. (2011). Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different immune responses in the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* Vol. 94 (11). P. 5405-5412.

9. Walt D.R. (2013). Optical methods for single molecule detection and analysis. *Analytical Chem.* Vol. 85 (3). P. 1258-1263

10. van Dorland H.A., Richter S., Morel I., et al. (2009). Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* Vol. 92 (5). P. 1924-1940.

11. Radkowski, M. (2006). The effect of polyphosphates on streptococci isolated from mastitis cases. *Pol. J. Vet. Sci.* Vol. 9 (2). P. 135-138.

12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАН, проф. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

13. Маланин Л.П., Морозов А.П., Селиванова А.С. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве: ветеринарные препараты: справочник. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 239-289.

References

1. Bogush A.A., Ivanov V.I., Borodich L.M. Mastit korov i mery ego profilaktiki: kniga. – Minsk: Belprint, 2009. – 160 s.
2. Klimov N.T. Rol mikrobnogo faktora v vzniknovenii i razvitii mastita u korov // Veterinariya. – 2008. – No. 2. – S. 33-36.
3. Cao L.T., Wu J.Q., Xie F., Hu S.H., Mo Y. (2007). Efficacy of Nisin in Treatment of Clinical Mastitis in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 90 (8). P. 3980-3985.
4. Logvinov D.D., Chumakova T.A. Fiziologiya i patologiya vymeni u korov. – Kiev, 1971. – S. 206-207.
5. Ziv G., Paape M.J., Dulin A.M. (1983). Influence of antibiotics and intramammary antibiotic prod-

ucts on phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by milk leucocytes. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 44 (3). P. 385-388.

6. Nickerson S.C., Paape, M.J., Harmon R.J., Ziv G. (1986). Mammary leukocyte response to drug therapy. *J. Dairy Sci.* Vol. 69 (6). P. 1733-1742.

7. Griesbeck-Zilch B., Meyer H.H., Kuhn C.H., Schwerin M., Wellnitz O. (2008). *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin messenger ribonucleic acid in mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* Vol. 91 (6). P. 2215-2224.

8. Wellnitz O., Arnold E.T., Bruckmaier R.M. (2011). Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different immune responses in the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* Vol. 94 (11). P. 5405-5412.

9. Walt D.R. (2013). Optical methods for single molecule detection and analysis. *Analytical Chem.* Vol. 85 (3). P. 1258-1263

10. van Dorland H.A., Richter S., Morel I., et al. (2009). Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* Vol. 92 (5). P. 1924-1940.

11. Radkowski, M. (2006). The effect of polyphosphates on streptococci isolated from mastitis cases. *Pol. J. Vet. Sci.* Vol. 9 (2). P. 135-138.

12. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv / pod obshch. red. chlenakorespondenta RAMN, professora R.U. Khabrieva. – 2-izd., pererab. i dop. – M.: OAO «Izdatelstvo «Meditsina», 2005. – 832 s.

13. Malanin L.P., Morozov A.P., Selivanova A.S. Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu toksicheskikh svoystv preparatov, primenyaemykh v veterinarii i zhivotnovodstve: veterinarnye preparaty: spravochnik. – M.: Agropromizdat, 1988. – S. 239-289.



УДК 619:616.98.9

Ю.Н. Романцева
Yu.N. Romantseva

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПАНТОЛИЗАТА

IMPROVEMENT OF CULTURE MEDIA BY USING PANTOLIZAT PRODUCT

Ключевые слова: питательная среда, пантолизат, шрот, микроорганизмы, информативность, мясопептонный бульон, мясопептонный агар.

Питательные среды без преувеличения считаются одними из главных составляющих в микробиологических исследованиях. Современная микробиология без питательных сред существовать не может, а их качество во многом определяет информативность, точность микробиологического анализа. При подборе питательной среды следует учитывать ее полноценность, то есть обособанный и сбалансированный набор различных питательных соединений, необходимых микроорганизму для построения растущей клетки. Для нормального роста и развития микроорганизмов в питательной среде должны присутствовать все элементы, из которых формируется клетка. Изыскание высокоэффективных питательных сред на дешевой белоксодержащей основе из отходов различных производств является актуальной задачей. В связи с этим необходима разработка экономически обос-

нованных эффективных питательных сред, исключающих использование в качестве сырья дорогостоящего мяса, обладающих повышенной информативностью при уменьшении сроков культивирования микроорганизмов при первичном посеве. Биохимический состав пантового шрота вполне отвечает требованиям, предъявляемым к сырью для производства жидкой основы питательных сред. При проведении контроля модифицированных питательных сред использовали штаммы микроорганизмов: *St. aureus*, *St. epidermidis*, *Str. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, изолированных от маралов. По проведенным микробиологическим исследованиям новые среды на основе пантолизата, полученного из пантового шрота, превосходят общепризнанные МПА и МПБ. Сокращается время появления первичного роста на 1-7 ч, увеличивается накопление бакмассы, а также не требуется добавления сыворотки крови, необходимой для культивирования стрептококков. Все вышеизложенное позволяет использовать эту среду для первичного посева биоматериала.