

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМУЛЬСИИ СВК

**Рахматуллин Эмиль Касымович**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией клинической фармакологии и лекарственной токсикологии в межкафедральном научном центре ветеринарной медицины

**Головин Иван Александрович**, кандидат биологических наук

**Разумкова Мария Сергеевна**, аспирант кафедры «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец 1, 8-960-369-24-60, Amil59@yandex. ru

**Ключевые слова:** Токсикологическая безопасность, эмульсия, хлоргексидин биглюконат, салициловая кислота,  $LD_{50}$  кумулятивные свойства, кожно-раздражающее действие, аллергизирующие свойства, общий белок, альбумин, билирубин, мочевины, холестерин, глюкоза, креатинин, аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза.

Проблема повышения качества и безопасности молока указывает на целесообразность разработки лекарственных средств для профилактики и лечения поражения сосков коров в виде гиперкератоза с радиальными трещинами и зияния соскового канала. В статье приведены данные по изучению токсичности эмульсии СВК. Препарат изготовлен в ОАО завод «Ветеринарные препараты» (г. Гусь-Хрустальный Владимирской области) представляет собой однородную массу белого или светло-желтого цвета со специфическим запахом, содержащую в качестве действующего вещества 1% хлоргексидина биглюконата и 1% салициловой кислоты, а в качестве вспомогательных веществ – спирт этиловый, нейтральную эмульсионную основу. Эмульсию применяют с целью профилактики сухости и раздражения кожи, лечения трещин, заживления ран, ссадин, эрозий и дезинфекции кожи, в том числе обработки сосков до и после доения. Результаты исследований свидетельствуют о том, что эмульсия СВК, согласно ГОСТу 12.1.007-76 относится к 4-му классу опасности. Установлено отсутствие у эмульсии кумулятивных, аллергизирующих свойств, негативного влияния на организм животных и на антитоксическую функцию печени при многократном введении. Проведенные исследования являются научным обоснованием к применению и подтверждают безопасность использования эмульсии СВК для сосков вымени коров.

### Введение

Обязательным условием применения новых лекарственных препаратов в ветеринарии является предшествующее проведение токсикологических исследований на лабораторных животных. Это положение нашло отражение в Хельсинкской декларации и в Законе об обращении лекарственных средств в РФ.

На показатели токсичности могут оказывать существенное влияние различные факторы, например, такие, как состояние и содержание животных, их пол, возраст, стабильность изучаемого вещества и др.

Для лечения трещин и сухости вымени коров в ОАО завод «Ветеринарные препараты» была создана эмульсия СВК [1,2,3].

Токсикологическая безопасность данного препарата не изучена. В связи с этим для получения сведений о токсикологической безопасности эмульсии СВК необходимо было провести ряд исследований по определению основных параметров её токсичности.

### Объекты и методы исследований

Эмульсия СВК разработана и выпускается ОАО завод «Ветеринарные препараты»

(г. Гусь-Хрустальный Владимирской области). Действующими веществами анализируемого препарата являются хлоргексидин биглюконат и салициловая кислота. Также в препарате есть такие вспомогательные вещества, как спирт этиловый, нейтральная эмульсионная основа (вазелиновое или парфюмерное масло, ОП-7 или ОП-10, вода). По внешнему виду эмульсия СВК представляет собой однородную жидкую массу белого или светло-желтого цвета со специфическим запахом.

Для изучения параметров летальной дозы (ЛД) были использованы 46 белых беспородных крысах с массой тела 180-200 г и 54 мыши массой 18-20 г. Необходимо отметить, что все животные, используемые в рамках опыта, были клинически здоровыми, находились в идентичных условиях содержания, у всех животных был одинаковый по количеству и составу корм. Изучаемый препарат вводили как энтерально, так и дермально. Расчет  $LD_{50}$  и других показателей осуществляли методом пробит - анализа, предложенного Литчфилдом и Уилкоксоном в модификации З. Рота [4]. При этом за экспериментальными животными осуществлялось наблюдение в течение не менее 14 дней с момента

введения препарата.

Изучение возможности накопления эмульсии СВК и вызываемого эффекта при повторных воздействиях осуществляли методом субхронической токсичности по методу Лима с соавт. (1961) [5]. По указанному опыту использовалось 30 белых мышей массой 18-25 г. Энтеральное введение изучаемого препарата осуществляли в следующем режиме:

- первые 4 дня вводили 1/10 от ЛД<sub>50</sub>,
- каждые последующие 4 дня повышали дозу в 1,5 раза.

Животным контрольной группы вводили физиологический раствор в объеме 0,5 мл. За экспериментальными мышами проводились наблюдения в течение 28 дней.

В рамках изучения характера воздействия эмульсии СВК на уровень детоксицирующих цитохромов печени была использована методика Д.Г. Розина (1964) [6]. В рамках эксперимента были скомплектованы 6 групп самок крыс двухмесячного возраста. До введения эмульсии животным опытной группы (24 гол.) были осуществлены следующие действия: эмульсия тщательно взбалтывалась до образования однородной массы. Далее анализируемый препарат слегка втирался в кожу живота белых крыс легкими массирующими движениями 1 раз в сутки в течение 6 дней. Размер дозы составлял 7,5 г/кг. В контрольной группе (5 голов) применяли вазелин. Раствор гексенала готовили непосредственно перед употреблением и инъецировали интраперитонеально в дозе 60 мг/кг массы тела через 1, 3, 5 и 24 часа после обработки белых крыс препаратом.

Федеральным центром Госсанэпиднадзора Минздрава России в 2002 году были разработаны методические указания (МУ 1.2.1105-02) для оценки токсичности и опасности дезинфицирующих средств [7]. Данная методика была использована для изучения и оценки раздражающего и местно – раздражающего действия эмульсии СВК.

Для выявления способности препарата вызывать состояние повышенной чувствительности был использован метод гистаминного шока. Подопытным животным водный раствор гистамина вводили подкожно в дозе 5 мг/кг массы тела животного через 1, 2 и 3 часа после применения эмульсии. Учитывали время, через которое животные после введения гистамина погибают. Если испытываемое вещество не вызывает состояния повышенной чувствительности, то предварительное введение не ускоряет

смерть животных; при стимуляции состояния повышенной чувствительности организма гибель животных наступает быстрее [8]. Эксперимент проводили на 30 морских свинках массой 225–245 г. Указанные животные были разделены на 4 группы (3 опытные и 1 контрольная). Эксперимент включал следующие этапы:

1. Подготовка эмульсии для введения – тщательное перемешивание препарата до образования однородной массы;
2. Введение эмульсии. Препарат однократно наносился тонким слоем на кожу животного.

Доза препарата была равна 7,5 г/кг. При этом эмульсия слегка втиралась в кожу легкими массирующими движениями. Животным контрольной группы (6 голов) был нанесен вазелин.

Действие эмульсии СВК при длительном применении было изучено на кроликах. Исследование проводилось на шиншилловых породах кроликов в количестве 12 особей (самцы, первоначальная масса тела 2,1-2,4 кг). Экспериментальные животные были поделены на 2 группы. Так, кроликам 1-й группы (6 голов) была накожно нанесена эмульсия СВК в дозе 0,5 г/кг, кроликам 2-й группы (контроль, 6 голов) накожно наносили вазелин в дозе 0,5 г/кг. Применение препарата осуществлялось в течение 12 месяцев. Препарат наносился накожно в выстриженную боковую область тельца животного. Показатели изучались до введения перпарата и спустя 6 месяцев после его применения. Для достижения поставленной цели – определение характеристики общего состояния животных – в рамках опытов были изучены следующие показатели: действие антисептических эмульсий, определение количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, СОЭ, количества общего белка, альбумина, билирубина, мочевины, холестерина, глюкозы, креатинина, определяли активность аспартат- и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы. Для установления уровня гемоглобина в крови был использован способ Панченкова, то есть гемоглобинцианидный метод, скорость оседания эритроцитов – микрометодом. Подсчет эритроцитов и лейкоцитов осуществляли в камере Горяева [8]. При проведении экспериментальных исследований по определению общего белка проводили по биуретовой реакции [8]. Альбумин в сыворотке крови определяли по реакции с бромкрезоловым зеленым [8]. Содержание глюкозы устанавливали унифицированным глюкозооксидазным методом по окислению орто-

Параметры ЛД эмульсии СВК для лабораторных животных

Параметры острой токсичности в мг/кг					
ЛД <sub>0</sub>	ЛД <sub>16</sub>	ЛД <sub>50</sub> с доверительными границами	ЛД <sub>84</sub>	ЛД <sub>100</sub>	Количество животных в опыте
Введение в желудок					
Мыши					
2500	3220	5283 (4593,9-075,5)	8950	10000	60
Крысы					
3400	3610	6100 (4149,7-8967)	10300	11200	36
Дермальная токсичность					
Крысы					
Эмульсия СВК					
		>20212,5			10

лидина. Мочевину - унифицированным методом по цветной реакции с диацетилмонооксимом [8].

Концентрацию холестерина в сыворотке крови определяли унифицированным методом по реакции с уксусным ангидридом (метод Илька). Концентрацию общего билирубина - колориметрическим методом с 2,4-дихлоранилином, креатинина – по цветной реакции Яффе [8]. Активность щелочной фосфатазы была установлена путем использования метода гидролиза п-нитрофенилфосфата. Через унифицированный динитрофенилгидразиновый метод была выявлена активность АлАТ и АсАТ. Активность **лактатдегидрогеназы в сыворотке крови устанавливали по реакции 2,4-динитрофенилгидрозином (метод Севела-Товарека)** [8].

Для обработки данных экспериментальных исследований был использован метод вариационной статистики, прикладное программное обеспечение STATISTICA. Отметим, что исследования были проведены согласно практическому руководству для пользователя [9]. Выявление, анализ и определение значимых различий в статистических данных осуществлялось путем использования величины критерия Стьюдента.

### Результаты исследований

К числу первоочередных проблем современной ветеринарии можно отнести вопрос безопасности лекарственных средств. Механизм токсического действия многих ветеринарных препаратов и пестицидов изучен, на основании чего базируется современная регламентация их в объектах окружающей среды, разрабатываются профилактические мероприятия по предупреждению отрицательного влияния на организм животных.

Цель доклинической токсикологиче-

ской экспертизы – определить свойства лекарственных средств и разработать аргументированное экспертное заключение о целесообразности и безопасности предполагаемых клинических исследований эмульсии СВК. Настоящая работа посвящена проблемам доклинической токсикологической экспертизы эмульсии СВК, которая необходима для государственной регистрации лекарственных средств.

Важным объектом изучения токсичности препарата является проведение опытов на крысах и мышах. Проведение исследований параметров ЛД эмульсии СВК осуществлялось на подопытных белых мышах и крысах с помощью однократного дермального и энтерального введения. Было произведено исследование эмульсии СВК при энтеральном введении мышам в интервале доз от 2500 до 10000 мг/кг живой массы. Подопытным белым крысам вводили изучаемое средство в интервале от 3400 до 10500 мг/кг живой массы. Возврат в норму после интоксикации у выживших крыс и мышей проходил в течение 8-10 дней. При дермальной аппликации эмульсии токсикоз у подопытных грызунов не был выявлен. В рамках проводимого исследования был сделан вывод об отсутствии необходимости выявления параметров ЛД<sub>50</sub> при дермальной аппликации. Это связано с тем, что нанесенная на кожу максимальная доза не привела к токсическому отравлению подопытных грызунов. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Рассматривая данные табл. 1, необходимо отметить, что наибольшая чувствительность к эмульсии СВК была выявлена у лабораторных мышей.

В рамках проведенного исследования было сделано следующее заключение: величи-

Выраженность раздражающего действия эмульсии СВК на глаза кроликов

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл	Классы	Эмульсия СВК
Резко выраженное	более 11	1	
Выраженное	7-10	2	
Умеренное	4-6	3	
Слабое	1-3	4	1
Отсутствие	0	5	

на  $LD_{50}$  для лабораторных мышей при оральном и накожном введении эмульсии согласно ГОСТу 12.1.007.76 относится к 4-му классу опасности [10].

При многократном поступлении через небольшие интервалы времени вещество может накапливаться в организме и вызывать суммирование эффекта.

При ежедневном пероральном введении белым мышам эмульсии СВК в суммарной дозе 10038,4 мг на 1 кг массы тела не происходит гибель животных. Начало гибели мышей было отмечено при суммарной дозе эмульсии СВК 17171,6 мг/кг. Коэффициент кумуляции ( $K_{кум}$ ) эмульсии СВК составил 7,4.

Согласно методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии, если  $K_{кум} > 1$ , то это позволяет отнести изучаемую эмульсию к группе лекарственных средств, у которых отсутствуют кумулятивные свойства [11].

Согласно методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ, если  $K_{кум} < 1$ , то это кумуляция, если  $K_{кум} > 1$ , то привыкание [12].

В рамках изучения воздействия эмульсии СВК на уровень детоксицирующих цитохромов печени гексенал вводился путем инъекций в следующих интервалах: через 1, 3, 5 и 24 часа после применения препарата. Результаты сравнивались в опытных и контрольных группах. При втирании эмульсии белым крысам в дозе 7,5 г/кг массы тела в течение 6 дней не были выявлены токсические явления. После использования эмульсии СВК был выявлен следующий эффект препарата: длительность гексеналового сна в опытных группах через 3 и 24 часа была выше соответственно на 8,4% и 3,8%, чем аналогичный показатель животных в контрольной группе.

В результате исследования было выявлено, что препарат не приводит к изменению длительности сна подопытных крыс.

Таким образом, можно сделать вывод, что

действие антисептической эмульсии на животных не приводит к угнетению уровня детоксицирующих цитохромов печени.

Для изучения кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия эмульсии СВК указанный препарат был нанесен на здоровую кожу подопытных кроликов породы шиншилла. Эксперимент проходил следующим образом: на подготовленный участок кожи (8 × 9 см) справа был нанесен исследуемый препарат. Доза эмульсии была равна 0,5 г на указанную площадь, что составляет 0,25 г на кг веса. На участок кожи слева, который служил контролем, наносили вазелин в этой же дозе. Накожное нанесение проводилось ежедневно в течение 30 дней. В период эксперимента ни у одной особи не были выявлены эритемы и отек. Для всех животных был характерен факт отсутствия раздражающего действия.

В табл.2 продемонстрирована оценка интенсивности местно-раздражающего действия эмульсии на глаза.

Анализируя данные табл. 2, необходимо отметить, что эмульсия СВК, согласно классификации по выраженности раздражающих свойств, относится к 4 классу опасности, то есть обладает слабо выраженным раздражающим действием на глаза.

Среди ветеринарных препаратов и пестицидов выявлены препараты, обладающие аллергенным действием. Большинство из них является аллергенами слабой или средней силы. Аллергенность ветеринарных препаратов зависит от размера молекулы гаптена, способного образовывать с белком-носителем комплексный антиген, интенсивности взаимодействия последнего с активным центром антитела или рецептором эффекторных клеток. Степень сенсибилизации зависит от пути поступления препарата в организм, дозы, выраженности кумулятивных свойств, состояния нервной и эндокринной систем [8].

При изучении способности препарата вызывать состояние повышенной чувствительности

в группе морских свинок через 1 час после использования эмульсии СВК было установлено, что время наступления гистаминного шока было выше показателя контрольной группы на 7,4%. А через 2 и 3 часа после применения морским свинкам эмульсии СВК время наступления гистаминного шока было ниже соответственно на 5,7% и 4,6% аналогичного показателя контрольной группы. Это указывает на то, что эмульсия СВК не предотвращает гибели животных от гистаминного шока, но и не ускоряет ее по сравнению с контролем. Инъектирование гистамина через 1, 2 и 3 часа после введения препарата не приводит к достоверному изменению сроков гибели подопытных животных по сравнению с контрольными ( $P > 0,05$ ).

В результате проведенных исследований можно полагать, что применение эмульсии СВК не вызывает состояния повышенной чувствительности организма.

В последние годы при изучении безопасности препаратов при длительном их введении большое внимание уделяется изучению биохимических показателей крови. Биохимический анализ крови представляет собой большой комплекс лабораторных исследований функционального состояния различных систем организма животных.

Одним из наиболее серьезных условий данного исследования является определение активности ферментов печени. Кроме того, в эту группу входит определение билирубина, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы, лактатдегидрогеназы.

Функционирование почек определяется уровнем мочевины и креатинина. Изучение содержания креатинина в крови имеет большое диагностическое значение при изучении побочного действия ветеринарных препаратов. Если изучаемый препарат вызывает нарушение функции почек, печени, стимулирует функционирование щитовидной железы, влияет на работу сердца, бронхов и вызывает воспалительное раздражение кожи, то это приводит к изменению содержания креатинина. Доказано, что увеличение количества креатинина в крови происходит часто при поражении почек ксенобиотиками, то есть при нефротоксическом действии. Изучение содержания мочевины в крови проводится для выявления токсического гепатита и токсического воздействия препаратов на почки, сердце и сосуды. Необходимо отметить, что на содержание мочевины и креатинина в крови влияет потребляемая животными пища [2, 3].

Данные показатели отражают функциональное состояние почек. Иногда важно значение

остаточного азота.

Изучение состояния жирового обмена – это большая группа исследований, включающая в себя определение концентраций липидов, холестерина, триглицеридов и липопротеидов.

Изучая биохимические показатели крови, можно установить негативное влияние ветеринарных препаратов на метаболизм липидов, белков и углеводов и участвующих в этих процессах органов и систем.

Нарушение содержания общего белка свидетельствует о негативном влиянии препарата на печень и почки.

Дисфункция печени, вызванная воздействием препарата, нарушает метаболизм глюкозы.

Изменение содержания билирубина происходит при токсическом воздействии препарата на печень, поражении клеток печени и усиленном распаде эритроцитов.

Токсическое воздействие препаратов на печень нарушает метаболизм АсАТ, АлАТ, которые синтезируются в печени. Повышение их активности происходит при токсическом поражении препаратами сердца и печени.

При токсическом воздействии лекарств на поджелудочную железу и печень происходит повышение активности гамма-глутамилтрансферазы.

Важным показателем при воздействии ветеринарных препаратов на обмен липидов является холестерин.

Нарушение содержания общего белка свидетельствует о негативном влиянии препарата на печень и почки [8].

При накожном нанесении эмульсии кроликам токсические явления не были выявлены.

В течение 12 месяцев опыта происходили некоторые изменения биохимических показателей крови. Так, было выявлено некоторое колебание количества общего белка, мочевины, глюкозы, холестерина, билирубина, креатинина, активности энзимов АсАТ и АлАТ. Уровень общего белка сыворотки крови достиг пика через 3 месяца после нанесения препарата, что на 2,2% выше контроля; количество мочевины и холестерина было ниже контроля соответственно на 19,8% и 22,5%. Активность энзимов АсАТ и АлАТ была наиболее низкого уровня по истечении месяца после применения эмульсии – на 5,9% и 10,4% соответственно ниже показателей контроля. Однако эти колебания недостоверно отличались от показателей животных контрольной группы.

Таким образом, можно сделать заключение, что при длительном применении эффект дей-

ствия эмульсия СВК не приводит к достоверному изменению биохимических показателей крови кроликов.

Проведенные исследования являются научным обоснованием к применению и подтверждают безопасность использования эмульсии СВК при сухости вымени коров.

### Библиографический список

1. Рахматуллин, Э.К. Обоснование применения эмульсии СВК для профилактики болезни вымени животных / Э.К. Рахматуллин, И.А. Головин // Ветеринарный врач. - 2013. - № 2. - С. 44 - 46.
2. Рахматуллин, Э.К. Биохимическое обоснование действия антисептической эмульсии на животных / Э.К. Рахматуллин, И.А. Головин // Вестник РАСХН. - 2013. - № 2. - С. 76 - 77.
3. Рахматуллин, Э.К. Биологические аспекты использования антисептической эмульсии для сосков вымени при машинном доении коров / Э.К. Рахматуллин, И.А. Головин // Зоотехния. - 2014. - №10. - С.18 - 20.
4. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. - Л.: «Медицина», 1963. - 262 с.
5. Lim, K.S. Method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / K.S.Lim,

K.G.Rink, N.J.Jlass, E.A.SoaieEchagne // «Arch. intere. Pharmacodyn». - 1961. - P.130.

6. Розин, Д.Г. Сравнительная оценка токсичности хлорпроизводных углеводородов жирного ряда по гексеналовому тесту на белых мышцах / Д.Г.Розин // Фармакол. и токсикол. - 1964. - № 5. - С. 613-614.

7. Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств: Методические указания. - М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. - 36 с.

8. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И.П. Кондрахин. - М.: КолосС, 2004. - 520 с.

9. Солнцева, О.В. Анализ статистических данных в пакете STATISTICA / О.В.Солнцева, А.В.Севастьянов. Ульяновск. - ГСХА, 2004.- 43 с.

10. Хмельницкий Г.А. Ветеринарная токсикология / Г.А. Хмельницкий, В.Н. Локтионов, Д.Д. Полоз. - 1987. - С. 132-140.

11. Ветеринарные препараты: Справочник/ Составители: Л.П. Маланин, А.П.Морозов, А.С. Селиванова; Под ред. А.Д. Третьякова.- М.: Агропромиздат, 1988.- С. 247-249.

12. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У.Хабриев. - М., 2005.-827с.

### TOXICOLOGICAL CHARACTERISTIC OF EMULSION SVK

*Rakhmatullin E. K., Golovin I. A., Razumkova M.S.*

*FSBEI HE Ulyanovsk SAA*

*432017, Ulyanovsk, Novy Venets Avenue, 1; 8-960-369-24-60, Amil59@yandex.ru*

*Key words: toxicological safety, emulsion, chlorhexidine gluconate, salicylic acid, LD<sub>50</sub>, cumulative properties, skin irritant action, allergenic properties, total protein, bilirubin, urea, cholesteryl, glucose, creatinine, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase.*

*The problem of quality increase and safety of milk points out to the viability of medication elaboration for prevention and treatment of cow teat lesions (hyperkeratosis with radial cracks and opening of teat canal). The article represents data on toxicity study of emulsion SVK. The compound was prepared on the Open Society factory "Veterinary compounds" (Gus- Khrustalnyi town of Vladimir region), it represents smooth paste of white and light-yellow colour with specific smell, it contains 1% of chlorhexidine gluconate and 1% of salicylic acid as active ingredient, and ethyl alcohol, neutral emulsion basis as additional materials. The emulsion is used to prevent skin dryness and irritation, crack treatment, healing of wounds, lesions, erosion and skin disinfection, as well as for teat treatment before and after milking. The results of the research show that the emulsion SVK, in accordance with National State Standard 12.1.007-76, belongs to the 4<sup>th</sup> class of hazard. The emulsion has showed absence of cumulative, allergenic properties, negative effect on animal organism and on liver anti-toxic function in case of multiple applications. The conducted research serves as a scientific justification of application and confirm application safety of emulsion SVK for cow udder teats.*

#### *Bibliography*

1. Rakhmatullin, E.K. Justification of application of emulsion SVK for udder disease preventive measures of animals / E.K. Rakhmatullin, I.A. Golovin // Veterinarian. - 2013. - № 2. - pp. 44 - 46.
2. Rakhmatullin, E.K. Biochemical justification of emulsion antiseptic effect on animals / E.K. Rakhmatullin, I.A. Golovin // Vestnik of RAAS. - 2013. - № 2. - pp. 76 - 77.
3. Rakhmatullin, E.K. Biological aspects of application of antiseptic emulsion for udder teats in case of machinery milking / E.K. Rakhmatullin, I.A. Golovin // Zootechnics. - 2014. - №10. - pp.18 - 20.
4. Belenkiy, M.L. Elements of quantity assessment of pharmacological effect / M.L. Belenkiy. - L.: "Medicine", 1963. - 262 p.
5. Lim, K.S. Method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / K.S.Lim, K.G.Rink, N.J.Jlass, E.A.SoaieEchagne // «Arch. intere. Pharmacodyn». - 1961. - P.130.
6. Rozin, D.G. Comparative toxicity evaluation of chlorinated hydrocarbon of fatty series with application of hexenalum test on white mice / D.G. Rozin // Pharmacology and toxicology- 1964. - № 5. - pp. 613-614.
7. Evaluation of toxicity and danger of disinfectants: recommended practices. - M.: Federal centre of State Committee for Sanitary and Epidemiological Oversight of Health ministry of Russia, 2002. - 36 p.
8. Kondrakhin I.P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I.P. Kondrakhin - M.: KolosS, 2004. - 520 p.
9. Solntseva, O.V. Analysis of statistic data in a pack STATISTICA / O.V.Solntseva, A.V.Sevastyanov. Ulyanovsk. - SAA, 2004.- 43 p.
10. Khmelniitskiy G.A. Veterinary toxicology / G.A. Khmelniitskiy, V.N. Loktionov, D.D. Poloz. - 1987. - pp. 132-140.
11. Veterinary compounds: Reference book / Compilers: L.P. Malanin, A.P.Morozov, A.S. Selivanova; edited by A.D. Tretyakova.- M.: Agropromizdat, 1988.- pp. 247-249.
12. Khabriev R.U. Guidance on experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances / R.U. Khabriev. - M., 2005.-827p.