

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ПЕРОРАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ И КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИНСАКАР ТОТАЛ С И ИНСАКАР ТОТАЛ К

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

Шадыева Людмила Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

Шленкина Татьяна Матвеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, экология, паразитология, водные биоресурсы и аквакультура»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1, тел.: 8(8422) 55-95-38, e-mail: vvr-emr@yandex.ru

Ключевые слова: острая токсичность, Инсакар Тотал С, Инсакар Тотал К, имидаклоприд, пирипроксифен, моксидектин, мыши, летальность, пероральное введение, коэффициент кумуляции

Для лечения паразитарных заболеваний домашних плотоядных животных выпускается широкий ассортимент противопаразитарных препаратов, но не все из них высокоэффективны. В последнее время были сконструированы высокоэффективные противопаразитарные препараты нового поколения, включающие в себя сложные композиции действующих веществ. В нашей работе изложены результаты испытаний таких комбинированных противопаразитарных препаратов, как Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К, разработанных во ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Абсолютным преимуществом этих препаратов является то, что в их состав входит композиция действующих веществ – имидаклоприд, пирипроксифен и моксидектин. Препараты проявляют высокую противопаразитарную активность как против экто-, так и против эндопаразитов. Они оказывают губительное воздействие на имагинальные и преимагинальные стадии паразитов. Были изучены параметры острой токсичности препаратов при введении в желудок. Установлено, что полумлетальная доза (ЛД₅₀) препарата для собак составила 4425 мг/кг. ЛД 50 препарата для кошек составила 4575 мг/кг. Это свидетельствует о том, что испытываемые препараты – Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К, согласно гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) относятся к 3 классу опасности (умеренно опасные вещества). Проведена оценка кумулятивных свойств препаратов Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К. Коэффициент кумуляции испытываемых препаратов составил 2, это свидетельствует, что их кумулятивные свойства слабо выражены.

Исследования выполнялись по заданию Министерства сельского хозяйства РФ

Введение

Паразитарные болезни различных видов животных достаточно часто встречаются на территории Российской Федерации. Паразитозы мелких домашних животных не являются исключением. Проблема терапии инвазионных заболеваний зачастую заключается в том, что у возбудителей этой группы заболеваний развивается резистентность к противопаразитарным препаратам. Некоторые из препаратов имеют противопоказания к применению или обладают серьезными побочными действиями [1, 2].

Противопаразитарные препараты должны обладать рядом свойств:

- проявлять выраженную активность против паразитов на различных стадиях онтогенеза;
- оказывать воздействие как на экто-, так и на эндопаразитов;
- обладать минимумом побочных действий и противопоказаний;

- быть удобными в применении для владельцев животных [2].

Сотрудниками ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН разработаны комплексные противопаразитарные препараты Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К.

Препараты Инсакар Тотал С (для собак) и Инсакар Тотал К (для кошек) выпускаются в виде растворов для наружного применения. Композиция действующих веществ представлена имидаклопридом, пирипроксифеном и моксидектином.

Внедрению лекарственных препаратов в ветеринарную практику предшествует анализ их фармако-токсикологических свойств.

Цель исследования – анализ острой токсичности и кумулятивных свойств противопаразитарных препаратов Инсакар Тотал С (для собак) и Инсакар Тотал К (для кошек).

Показатель острой токсичности разработа-

тываемых препаратов является одним из информативных при анализе их безопасности [3, 4].

Под острой токсичностью подразумевают токсичность, вызываемую лекарственным препаратом при введении одной или нескольких доз в срок, не превышающий 24 часа [5, 6].

Испытуемый препарат вводят лабораторным животным с целью оценки побочных действий и доз, вызывающих токсичность и летальность.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований явились препараты Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К, разработанные сотрудниками ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Москва).

Для расчета параметров острой токсичности Инсакара Тотал С и Инсакара Тотал К использовали метод Кербера в модификации Прозоровского.

В качестве объекта исследований выступили белые мыши. Испытуемый препарат вводили в желудок в виде 30%-ного водного раствора натошак однократно атравматическим зондом в дозе от 3000 до 6000 мг/кг.

В опыте было задействовано 110 особей мышей обоего пола массой 20 г. Из животных были сформированы десять опытных и одна контрольная группы. Животные были клинически здоровы, предварительно прошли карантинирование в течение 15 дней.

Условия содержания и кормления мышей опытных и контрольной групп были аналогичными.

После введения препарата 14 дней мыши находились под наблюдением, во время которого осуществляли контроль и оценку общего состояния животных, изменения в двигательной активности, состоянии шерстного покрова.

Способность препаратов Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К к кумуляции оценивали с помощью метода Лима. Для этого нами было сформировано две группы мышей – опытная и контрольная в количестве 10 особей в каждой. Условия содержания и кормления животных обеих групп были аналогичными. Тестируемые препараты вводили внутрь, ежедневно в виде 30%-ного водного раствора. В первые четыре дня препараты вводили в дозе, которая составляла 0,1 от вычисленной нами однократной LD_{50} . Дозировку тестируемых препаратов изменяли спустя каждые четыре дня путем увеличения вводимой дозы в 1,5 раза. Продолжительность введения испытуемых препаратов по

данной схеме составила один месяц. Препараты задавали в течение одного месяца с последующей оценкой летальности и расчетом коэффициента кумуляции. Коэффициент кумуляции рассчитывали по формуле $K_{kum} = LD_{50}(\text{подостр}) / LD_{50}(\text{остр})$.

Результаты исследований

Для изучения показателей острой токсичности Инсакара Тотал С и Инсакара Тотал К нами были сформированы десять опытных групп белых мышей массой 20 г по десять особей в каждой. Была сформирована контрольная группа животных, численность которой также составляла десять особей.

В начале эксперимента мыши погибали от высоких доз препаратов. Дозы, вызывающие гибель мышей, находились в диапазоне от 4500 до 6000 мг/кг. Смерти мышей предшествовало изменение в их состоянии. Перед гибелью состояние животных было угнетенным, двигательная активность снижалась. Мыши отказывались от пищи, у некоторых особей развивался симптомокомплекс судорог. Мыши не реагировали на внешние раздражители, зарывались в подстилку и погибали. Смерть мышей наступала от введения препарата в дозе 3750 мг/кг. Введение препарата в меньших дозах, в частности в дозе 3000 мг/кг не сопровождалось летальностью.

Павшие мыши были подвергнуты патологоанатомическому вскрытию, в результате которого были выявлены симптомы острой интоксикации. При вскрытии у погибших мышей отмечены следующие изменения: гепатомегалия и спленомегалия, выраженный катаральный гастроэнтерит, слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта была гиперемирована, с массовыми кровоизлияниями, кровеносные сосуды брыжейки кровенаполнены.

В состоянии мышей контрольной группы никаких патологических изменений не выявлено. Мыши были здоровы, подвижны, охотно принимали корм.

Для расчета показателей острой токсичности мы использовали метод Кербера в модификации Прозоровского.

Таблица 2
Показатели острой пероральной токсичности препарата Инсакар Тотал С

Доза, мг/кг	3000	3750	4500	5250	6000
Гибель	0/10	2/10	5/10	8/10	10/10
Z	1	3,5	7,5	9	
d	750	750	750	750	
Zd	750	2625	5625	6750	

Таблица 3

Показатели острой пероральной токсичности Инсакар Тотал К

Доза, мг/кг	3000	3750	4500	5250	6000
Ги-бель	0/10	2/10	5/10	7/10	10/10
Z	1	3,5	6	8,5	
d	750	750	750	750	
Zd	750	2625	4500	6375	

Расчет параметров острой токсичности препаратов проводили по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \sum Zd : n, \text{ где:}$$

Z – среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием двух смежных доз; d – интервал между двумя смежными дозами.

Показатель острой токсичности препарата Инсакар Тотал С

$$ЛД_{50} = 6000 - 15750 : 10 = 4425 \text{ мг/кг}$$

Показатель острой токсичности препарата Инсакар Тотал К

$$ЛД_{50} = 6000 - 14250 : 10 = 4575 \text{ мг/кг}$$

Таким образом, в результате проведенных исследований мы пришли к выводу, что ЛД₅₀ Инсакар Тотал С при внутрижелудочном введении составила 4425 ± 335 мг/кг, ЛД₅₀ Инсакар Тотал К - 4575 ± 335 мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, оба испытуемых препарата – Инсакар Тотал С (для собак) и Инсакар Тотал К (для кошек) представляют собой умеренно опасные вещества и относятся к 3 классу токсичности [7].

Для оценки кумулятивных свойства Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К нами были сформированы опытная и контрольная группы мышей по десять особей в каждой. Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К задавали внутрь в виде 30%-ного водного раствора. В первые четыре дня доза тестируемых препаратов составила 0,1 от рассчитанной нами однократной ЛД₅₀. В последующем, спустя каждые четыре дня мы увеличивали дозы препаратов в 1,5 раза. Длительность тестирования испытуемых препаратов по данной схеме составила один месяц. На протяжении этого месяца за мышами вели динамичное наблюдение, которое включало в себя оценку их поведения, активности, способности к поеданию корма, состояния шерстного покрова с последующей регистрацией смертности. Результаты исследований приведены в таблицах 4, 5.

Для оценки кумулятивных свойств препаратов применяли методику Лима с соавторами с последующим расчетом коэффициента кумуляции.

Таблица 4

Оценка кумулятивных свойств препарата Инсакар Тотал С

Период введения, сут.	Суточная доза, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Пало / выжило
1 - 4	442	1768	0 / 10
5 - 8	663	2652	0 / 10
9 - 12	994,5	3978	0 / 10
13 - 16	1491,75	5967	3 / 10
17 - 20	2237,6	8950,5	5 / 10
21 - 24	3356,4	13425,7	8 / 10
25 - 28	5034,6	20138,6	10 / 10

Таблица 5

Оценка кумулятивных свойств препарата Инсакар Тотал К

Период введения, сут.	Суточная доза, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Пало / выжило
1 - 4	457	1828	0 / 10
5 - 8	685,5	2742	0 / 10
9 - 12	1028,25	4113	2 / 10
13 - 16	1542,3	6169,5	4 / 10
17 - 20	2313,5	9254,25	5 / 10
21 - 24	3470,3	13881,38	7 / 10
25 - 28	5205,5	20822,08	10 / 10

Согласно полученным результатам, ЛД₅₀ Инсакар Тотал С при многократном пероральном введении составила 8950,5 мг/кг, ЛД₅₀ Инсакар Тотал К соответственно 9254, 25 мг/кг.

Используя формулу Когана-Станкевича, определили коэффициенты кумуляции испытуемых препаратов.

$$K_{\text{кум}} = ЛД_{50} \text{ многократно} / ЛД_{50} \text{ однократно}$$

Коэффициент кумуляции Инсакара Тотал С составил

$$K_{\text{кум}} = 8950,5 \text{ мг/кг} / 4425 \text{ мг/кг} = 2$$

Коэффициент кумуляции Инсакара Тотал К составил

$$K_{\text{кум}} = 9254, 25 \text{ мг/кг} / 4575 \text{ мг/кг} = 2.$$

Обсуждение

В настоящее время проблема разработки новых противопаразитарных препаратов является актуальной и востребованной. Это обусловлено увеличением численности восприимчивых к паразитозам животных, развитием устойчивости у возбудителей к традиционным противопаразитарным средствам. В связи с этим наиболее предпочтительным является применение противопаразитарных средств, включающих комплекс активных компонентов [8, 9].

Токсикологическая оценка лекарственных препаратов имеет важное ветеринарно-практическое значение. В результате этого проводится

анализ токсического воздействия лекарственных препаратов на организм животных, выявление различного рода побочных эффектов с целью исключения так называемого отдаленного воздействия [10, 11]. При проведении оценки острой токсичности противопаразитарных препаратов Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К были получены следующие результаты. LD_{50} Инсакар Тотал С при введении внутрь составила 4425 ± 335 мг/кг, LD_{50} Инсакар Тотал К при введении внутрь составила 4575 ± 335 мг/кг. Таким образом, оба препарата – Инсакар Тотал С (для собак) и Инсакар Тотал К (для кошек) можно отнести к 3 классу токсичности умеренно опасных веществ по ГОСТ 12.1.007-76.

Кумулятивное воздействие лекарственного препарата выявляют в опытах путем неоднократного введения препарата на организм тестируемых животных. Показателем величины кумуляции является коэффициент кумуляции. Коэффициент кумуляции испытуемых препаратов равен 2. Это свидетельствует о том, что исследуемые препараты относятся к группе веществ со слабо выраженной кумуляцией.

Заключение

LD_{50} препарата Инсакар Тотал С при введении внутривенно мышам, рассчитанная методом Кербера, составила 4425 мг/кг массы животного.

LD_{50} препарата Инсакар Тотал К при введении внутривенно мышам составила 4575 мг/кг массы животного.

Это позволяет отнести испытуемые препараты, согласно ГОСТ 12.1.007-76, к 3 классу опасности (умеренно опасные вещества).

Коэффициент кумуляции испытуемых препаратов равен 2, что свидетельствует о слабо выраженных кумулятивных свойствах.

Библиографический список

1. Арисов, М. В. Фармако-токсикологическая оценка комплексного противопаразитарного препарата для собак и кошек / М. В. Арисов, В. А. Степанов, Е. С. Смирнова // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. - 2014. - № 4. - С. 36-39.

2. Арисов, М. В. Токсикологическая оценка инсектоакарицидного препарата Инсакар при арахноэнтомозах плотоядных животных / М. В. Арисов, А. А. Степанов // Российский паразито-

логический журнал. – 2012. - № 1. - С. 98-103.

3. Арисов, М. В. Определение острой токсичности препаратов Инсакар и Инсакар Плюс / М. В. Арисов, А. А. Степанов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2011. - № 12. – С. 28 – 30.

4. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use / M. V. Arisov, D. N. Urazaev, E. O. Kachanova, A. S. Pavlova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. - 2020. - P. 42042.

5. Determining the acute toxicity of new preparation vetom 20.76 on geese and ducks / G. A. Nozdin, Y. V. Novik, R. G. Utkina, A. A. Lelyak // Sarhad Journal of Agriculture. - 2020. - Т. 36, № 2. - P. 470-477.

6. The acute and sub-acute toxicity of c 60 / pvp complex in vivo / M. A. Dumpis, V. V. Iljin, E. V. Litasova, D. N. Nikolaev, V. V. Bulion, I. B. Krylova, I. V. Okunevich, O. M. Rodionova, A. F. Safonova, E. N. Selina, L. B. Piotrovsky // Advances in Nano Research. - 2016. - Т. 4, № 3. - P. 167-179.

7. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : дата введения 01.01.77. — Москва, 1976.

8. Polova, Zh. Study of acute toxicity of a new veterinary drug for intramammary introduction / Zh. Polova, N. Seredinskaya // Eureka: Health Sciences. - 2018. - № 2. - P. 51-60.

9. Nizhenkovska, I. V. Acute toxicity study of a new complex drug with anti-inflammatory activity / I. V. Nizhenkovska, L. V. Zinchenko // Current Topics in Pharmacology. - 2017. - Т. 21. - P. 71-74.

10. Токсикологическая характеристика лекарственного препарата для ветеринарного применения «Кетопрофен 10%» на лабораторных животных (острая токсичность) / А. Н. Шкатова, Д. А. Девришов, О. Б. Литвинов, В. Е. Брылина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2021. - № 1. - С. 29-40.

11. Емельянова, Н. Б. Острая пероральная токсичность противопаразитарной пасты с ивермектином / Н. Б. Емельянова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. - 2015. - № 16. - С. 132-133.

ASSESSMENT OF ACUTE ORAL TOXICITY AND CUMULATIVE PROPERTIES OF INSACAR TOTAL S AND INSACAR TOTAL K ANTI-PARASITIC MEDICATIONS

Romanova E.M., Shadyeva L.A., Shlenkina T.M.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU, Ulyanovsk, Russia

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1, tel.: 8 (8422) 55-95-38, e-mail: vvr-emr@yandex.ru

Keywords: acute toxicity, Insacar Total S, Insacar Total K, imidacloprid, pyriproxyfen, moxidectin, mice, lethality, oral administration, cumulation coefficient.

A wide range of antiparasitic medications is produced for treatment of parasitic diseases of domestic carnivores, but only few of them are highly effective. Recently, highly effective antiparasitic medications of a new generation were designed, including complex compositions of active substances. Our work presents results of tests of such composite antiparasitic medications as Insakar Total S and Insakar Total K, developed at Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine of the RAS. The ultimate advantage of these drugs is that they include a composition of active substances - imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin. The medications exhibit high antiparasitic activity against both ecto- and endoparasites. They have a destructive effect on imaginal and preimaginal stages of parasites. The parameters of acute toxicity of medications when administered into the stomach were studied. It was found that the half-lethal dose (LD_{50}) of the medication for dogs was 4425 mg / kg. The LD 50 of the medication for cats was 4575 mg / kg. It indicates that the tested medications - "Insacar Total S" and "Insacar Total K" belong to the 3rd hazard class (moderately hazardous substances), according to the hygienic classification (State Standard GOST 12.1.007-76). The assessment of the cumulative properties of Insacar Total S and Insacar Total K was carried out. The cumulation coefficient of the tested medications was 2, it means that their cumulative properties are poorly exhibited.

Bibliography:

1. Arisov, M. V. Pharmacotoxicological assessment of a complex antiparasitic medication for dogs and cats / M. V. Arisov, V. A. Stepanov, E. S. Smirnova // Russian veterinary journal. Small domestic and wild animals. - 2014. - № 4. - P. 36-39.
2. Arisov, M. V. Toxicological assessment of the insectoacaricidal preparation Insakar for arachnoentomoses treatment of carnivores / M. V. Arisov, A. A. Stepanov // Russian parasitological journal. - 2012. - № 1. - P. 98-103.
3. Arisov, M. V. Specification of acute toxicity of Insakar and Insakar Plus medications / M. V. Arisov, A. A. Stepanov // Theory and practice of combating parasitic diseases. - 2011. - № 12. - P. 28 - 30.
4. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use / M. V. Arisov, D. N. Urazaev, E. O. Kachanova, A. S. Pavlova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. - 2020. - P. 42042.
5. Determining the acute toxicity of new preparation vetom 20.76 on geese and ducks / G. A. Nozdrin, Y. V. Novik, R. G. Utkina, A. A. Lelyak // Sarhad Journal of Agriculture. - 2020. - V. 36, № 2. - P. 470-477.
6. The acute and sub-acute toxicity of c 60 / pvp complex in vivo / M. A. Dumpis, V. V. Iljin, E. V. Litasova, D. N. Nikolaev, V. V. Bulion, I. B. Krylova, I. V. Okunevich, O. M. Rodionova, A. F. Safonova, E. N. Selina, L. B. Piotrovsky // Advances in Nano Research. - 2016. - V. 4, № 3. - P. 167-179.
7. State Standard GOST 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements: date of introduction 01.01.77. - Moscow, 1976.
8. Polova, Zh. Study of acute toxicity of a new veterinary drug for intramammary introduction / Zh. Polova, N. Serebinskaya // Eureka: Health Sciences. - 2018. - № 2. - P. 51-60.
9. Nizhenkovska, I. V. Acute toxicity study of a new complex drug with anti-inflammatory activity / I. V. Nizhenkovska, L. V. Zinchenko // Current Topics in Pharmacology. - 2017. - T. 21. - R. 71-74.
10. Toxicological characteristics of the medical product for veterinary use "Ketoprofen 10%" on laboratory animals (acute toxicity) / A. N. Shkatova, D. A. Devrishov, O. B. Litvinov, V. E. Brylina // Veterinary medicine, animal husbandry and biotechnology. - 2021. - № 1. - P. 29-40.
11. Emel'yanova, N. B. Acute oral toxicity of antiparasitic paste with ivermectin / N. B. Emel'yanova // Theory and practice of combating parasitic diseases. - 2015. - № 16. - P. 132-133.