УДК 619:616-084

Л.Б. Леонтьев, Н.И. Кульмакова, Р.М. Мударисов

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО КОМПЛЕКСА

Ключевые слова: разработка; биологически активный комплекс; токсикологическая оценка; показания к применению.

Введение. Успешное развитие молочного скотоводства в значительной степени зависит от правильной организации воспроизводства стада, рационального использования всего маточного поголовья, максимального получения, сохранения и выращивания приплода [7–9, 13].

Организация воспроизводства стада включает много вопросов: полноценное кормление, создание

оптимальных условий содержания, своевременное выявление и устранение причин бесплодия и яловости коров и др. [4–6, 10–12].

Причин бесплодия и яловости коров множество. Основными из них являются погрешности в кормлении и содержании животных, заболевания половых и других органов, недостатки организации осеменения и др.

В сельскохозяйственных предприятиях Чувашской Республики имеются два важных фактора, способствующих нарушению обмена веществ в организме беременных коров и возникновению родовых и послеродовых заболеваний.

Первый фактор – это особенности биогеохимической зоны республики. Почва и корма, полученные на ней, дефицитны по жизненно важным макро- и микроэлементам: кальцию и фосфору, меди, цинку, марганцу, кобальту, йоду, и сбалансировать рационы за счет местных кормов не удастся. В сельскохозяйственных предприятиях вследствие этого используют комплексы минеральных веществ, что корректирует интенсивность обмена веществ, способствует нормализации функции воспроизводства [1–3].

Второй фактор – в республике для зимне-стойлового содержания коров заготавливают в основном грубые и сочные корма и в этот период в рационе коров преобладает кукурузный силос. Хорошо сбалансированные по всем контролируемым показателям питательности рационы силосного типа не оказывают отрицательного действия на характер обменного процесса и состояние здоровья животных. Однако зачастую нарушается технология кормления, особенно когда к весне происходит аэробное поражение силоса, сопровождающееся повышением кислотности и общей суммы в нем органических кислот. Длительное скормливание коровам силоса кислого (рН 3,6–3,7 и ниже) или нормальной кислотности (рН 3,9–4,2), но с большим количеством кислот (свыше 2,5 %) приводит к дисбалансу кислотно-щелочного равновесия в их организме (ацидотическому состоянию). При этом буферные системы ослабевают, наступает расстройство обмена веществ, что является причиной нарушения функции органов воспроизводства, заболевания новорожденных телят и преждевременной выбраковки коров. Поэтому для коррекции обменных процессов, профилактики родовых и послеродовых заболеваний у коров при силосном типе кормления в этот физиологический период актуальным является включение в рацион высокоэффективных, дешевых и технологичных биологически активных комплексов (БАК), основой которых являются дефицитные в рационах животных макро- и микроэлементы и средства, корректирующие кислотно-щелочное равновесие в организме.

Оценка данных морфо-биохимических исследований крови коров на одном из сельскохозяйственных предприятий Чувашской Республики, где в стойловый период содержания превалирует силосный тип кормления, дала основание полагать, что одной из многочисленных причин нарушения воспроизводительной функции коров является нарушение обмена веществ уже в предродовой период. Это стало теоретической основой для разработки БАК – сложной многокомпонентной смеси, в состав которой входят натрий двууглекислый, сульфатные соли меди, цинка, марганца, хлористый кобальт, йодистый калий, стабилизатор тиосульфат натрия, монокальцийфосфат, поваренная соль и наполнитель.

БАК представляет собой однородный сыпучий порошок, цвет и запах которого соответствует запаху наполнителя (ячменная дерть или отруби пше-

ничные). Компоненты препарата совместимы между собой, не вступают в химические реакции друг с другом и не изменяют фармакологических свойств.

Проведенные опыты по определению стабильности трех серий БАК, хранение которых проводили при температуре 25 °С, позволили установить, что он стабилен в течение 6 месяцев.

Фармакологическое действие комплекса обусловлено свойствами входящих в его состав активных компонентов. В основе его профилактического действия, предполагаем, лежит комплексное корректирующее воздействие на организм за счет присутствия в нем как жизненно важных макро- и микроэлементов, так и буферных соединений.

Целью наших исследований явилось изучение токсикологических свойств биологически активного комплекса (БАК).

Материал и методы исследований. Работа по разработке БАК проводилась в Чувашском научном отделе ФГБНУ «Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны Российской Федерации».

При постановке опытов были использованы токсикологические, морфологические, клинические, морфо-биохимические и другие методы исследований. Работа проводилась в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве», утвержденными ГВБ СССР (1991) и «Методическими рекомендациями по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии», одобренными секцией отделения ветеринарной медицины РАСХН (1998).

Содержали лабораторных животных, проводили кормление и опыты, придерживаясь положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в эксперименте, и правил лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 2003 года).

Перед проведением экспериментов лабораторные животные выдерживались на карантине в течение 2-х недель, при этом доступ к воде, корму был свободным, а световой режим естественным.

Острую токсичность изучали на лабораторных клинически здоровых белых крысах, ранее не подвергавшихся токсическому воздействию, средней массой тела 200 г. Комплекс растворяли в прокипяченной и остуженной воде. Крыс фиксировали в вертикальном положении с незначительно запрокинутой головой, и изучаемый комплекс вводили натошак, в желудок, однократно при помощи молочного катетера после 12-часовой голодной выдержки в максимальной дозе 16000 мг/кг (8 г). Крысам контрольной группы вводили в таком же объеме прокипяченную и остуженную воду. Продолжительность наблюдения за состоянием здоровья крыс составила 21 день после затравки. В этот период учитывали их внешний вид и поведение, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, отношение к пище и воде, подвижность, ритм и частоту дыхания и сердцебиения.

При определении параметров хронической токсичности по принципу парных аналогов сформировали 4 группы лабораторных белых крыс по 10 осо-

бей в каждой. БАК применяли в дозах: 1,6 мл/кг массы тела (1 группа), 0,8 мл/кг массы тела (2 группа), 0,32 мл/кг массы тела (3 группа). Указанные дозы составили 1/10, 1/20 и 1/50 от максимальной введенной дозы в остром опыте (16 г/кг массы тела). Интактным контролем служила 4-ая группа. Препарат задавали ежедневно индивидуально внутрь в течение 2-х недель. Наблюдения за состоянием и поведением животных, временем и полнотой поедания корма осуществляли ежедневно, а взвешивание – до начала и в конце опыта.

Выявление развития неаллергического контактного дерматита БАК изучали на 12 кроликах с живой массой 3,5–4 кг. Для этого участок кожного покрова ближе к середине туловища, с правой стороны, выстригали на площади 2×3 см. На обезжиренную кожу на весь участок аппликации наносили равномерным слоем с помощью шпателя испытуемый образец в форме мази на вазелине в дозе 0,5 г на протяжении 2-х недель по 5 раз в неделю. При этом учитывали окраску кожи, местную температуру, отечность, зуд.

О наличии у комплекса раздражающих свойств судили по конъюнктивальной пробе. Для постановки пробы 1 каплю его водного раствора вводили глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко морской свинке, во второй глаз (контрольный) вводили 1 каплю стерильной воды. Реакции учитывали через 15 мин (быстрая реакция) и через 24–48 ч (гиперчувствительность замедленного типа) и оценивали по следующей шкале (в баллах): 1 – легкое покраснение слезного протока; 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

При определении эмбриотоксических свойств БАК руководствовались «Методическими указаниями по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986). В опыте использовались клинически здоровые интактные крысы (24 половозрелые самки и 12 самцов) в репродуктивном возрасте весом от 180 до 200 г, из них были сформированы 2 группы по 12 голов, которые кроме этого разделили на две подгруппы (опытная и контрольная) по 6 голов. Вечером самок подсаживали к самцам в соотношении 1:2. Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения у нормально циклирующих самок сперматозоидов в вагинальном мазке. Мазок из влагалища крысы брали стеклянной глазной палочкой, которую промывали после каждого взятия мазков в двух стаканчиках с водой. Мазок делали на обезжиренном предметном стекле, тщательно растирая содержимое палочки в капле дистиллированной воды. Препарат микроскопировали неокрашенным под малым увеличением. При обнаружении сперматозоидов производили маркировку, определяли массу тела крысы, отсаживали ее в отдельную клетку и начинали отсчет срока беременности. С 1-го по 21-й день беременности крысам опытных подгрупп внутрижелудочно с помощью молочного катетера вводили суспензию комплекса в дозе 0,8 мг/кг (содержащую 1/20 часть от максимально вводимой дозы). Живот-

ным контрольных групп внутрижелудочно вводили кипяченую и охлажденную воду.

Перед умерщвлением на 21-й день беременности определяли массу тела беременных крыс 1-й подгруппы обеих групп, затем производили вскрытие и пальпаторное обследование рогов матки с подсчетом количества плодов и мест резорбций. Выделяли правый и левый яичники и помещали на увлажненную фильтровальную бумагу в чашке Петри. При этом в рабочем журнале заранее расчерчивали сетку для регистрации данных по левому и правому яичникам, что было важно для точного определения показателя общей эмбриональной смертности при сопоставлении количества желтых тел беременности в яичнике и плодов в соответствующем роге матки. Осторожно вскрывали рога матки по наружному краю и освобождали плоды от околоплодных оболочек плаценты. Подсчитывали число живых, мертвых, резорбированных плодов, количество мест имплантаций из левого и правого рогов матки. Затем производили определение краинно-каудального размера плодов, массу тела и плаценты. Одновременно при проведении этих исследований визуальную оценивали возможный тератогенный эффект.

Самки второй подгруппы оставались до родов. После родов проводили внешний осмотр плодов с помощью лупы от головы к хвосту для визуализации дефектов развития.

Результаты исследования и обсуждения. Результаты изучения острой токсичности препарата не позволили установить дозу, вызывающую клиническую картину токсикоза. Введение комплекса вызывало кратковременное угнетение из-за переполнения желудка, которое проходило в течение 60 минут, в последующем они внешне не отличались от интактных по контролируемому нами показателям.

В конце опыта после декапитации проводили патологоанатомический осмотр и массу внутренних органов. При этом в них не наблюдали каких-либо изменений, а абсолютная масса внутренних органов опытных крыс практически не отличалась от показателей контрольной группы.

Следовательно, изучаемый комплекс в максимальной дозе 16000 мг/кг массы тела не обладает острой токсичностью и по ГОСТ 12.1.007-87 «Вредные вещества» относится к 4-му классу опасности (мало опасные вещества).

В экспериментах по оценке хронической токсичности препарата на лабораторных крысах явлений интоксикации мы не наблюдали. Он не вызывал видимых изменений в клиническом состоянии животных: поведение, аппетит, частота дыхания у всех крыс в период применения комплекса и в течение недели после окончания опыта соответствовали их видовой норме.

Проведенный анализ динамики массы тела крыс выявил влияние его на интенсивность роста от вводимой дозы. В дозах 1,6 мл/кг и 0,8 мг/кг массы тела он стимулирует рост в среднем на 8,7 % ($P < 0,001$), а в группе, которым вводили комплекс в дозе 0,32 мл/кг массы тела, достоверных различий при сравнении с показателем контрольных аналогов не имелось.

Взятие крови для морфологических исследований проводили в конце опыта. Крысы, получавшие препарат в дозе 2,4 мл/кг массы тела, имели более высокое содержание эритроцитов и гемоглобина в периферической крови по сравнению с аналогами как других опытных групп, так и контроля, что указывает на более высокий уровень процессов обмена веществ в их организме. Показатели количественного содержания лейкоцитов в группах оставались в пределах принятых норм и не имели достоверных различий.

Оценка местного (пререзорбтивного) действия позволяет утверждать, что разработанный биологически активный комплекс клинко-морфологических признаков контактного дерматита не вызывает.

БАК обладает небольшим раздражающим свойством: при введении его водного раствора в конъюнктиву мы наблюдали легкое покраснение слезного протока.

У всех крыс при вскрытии на 21-й день беременности не было обнаружено каких-либо патологий внутриутробного развития плодов, а также патологических изменений матки: плодные оболочки были сформированы правильно, амниотическая жидкость прозрачная, плацента полнокровна без признаков склероза, кожные покровы плодов розоватого цвета. По количеству желтых тел, мест имплантации, живых и мертвых плодов, пред- и постимплантационной гибели, общей эмбриональной смертности, массе плода, по плодоплацентарному коэффициенту крысы опытной и контрольной групп достоверных различий не имели. Следовательно, БАК не обладает эмбриотоксическими свойствами.

У крыс второй группы потомство появилось в срок. После рождения потомство от крыс как опыт-

ных, так и контрольных подгрупп второй группы развивалось без видимых патологий. Результаты обследования после родов подопытных крыс и их приплода по продолжительности беременности, числу родившихся крыс, мертворожденности достоверных различий не имели. Антропометрические данные, в частности, отлипание ушной раковины, появление шерстного покрова, прорезывание резцов, открывание глазной щели крысят в группах также не имели достоверных различий. Средняя живая масса крысят при рождении существенно не отличалась в контрольной и опытной группах, но на 30 сутки положительная разница в опытной группе составила 1,9 % по отношению к контролю. Сохранность приплода на двадцатые сутки после родов составляла 100 %. Проведенное исследование позволяет указать, что БАК при многократном введении беременным крысам в дозе 1/20 часть от максимально вводимой дозы не оказывает негативного влияния на развитие плодов.

Выводы. В результате проведенных исследований можно заключить, что разработанный нами биологически активный комплекс не обладает острой и хронической токсичностью, не вызывает клинко-морфологические признаки контактного дерматита, обладает небольшим раздражающим свойством на слизистые оболочки, не обладает эмбриотоксическим и тератогенным свойствами. По степени воздействия на организм данный комплекс, согласно классификации, ГОСТ 12.1.007-87, относится к 4 классу опасности – вещества малоопасные. Проведенные исследования по ключевым токсикологическим показателям не выявили противопоказаний к применению биологически активного комплекса в животноводстве и ветеринарии.

Библиографический список

1. Леонтьев, Л.Б. Коррекция метаболизма и продуктивности животных природными трепелами (на примере Чувашской Республики) [Текст]: автореф. дис. ... доктора биол. наук / Л.Б. Леонтьев. Казань, 2010. 40 с.
2. Кульмакова, Н.И. Научно-практическое обоснование использования биологически активных препаратов в технологии производства свинины [Текст]: автореф. дис. ... доктора с.-х. наук / Н.И. Кульмакова. Чебоксары, 2011. 40 с.
3. Лобков, В.Ю. Белково-витаминно-микроэлементные препараты в кормлении коров [Текст] / В.Ю. Лобков, А.И. Фролов, Г.В. Булгакова // Материалы Международной научно-практической конференции. Ульяновск, 2015. С. 168–171.
4. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [Текст] / Р.У. Хабриев. 2-е изд. М.: Медицина, 2005. 832 с.
5. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве, утв. ГУВ СССР [Текст]. М., 1991.
6. Методические рекомендации по токсикоэкологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии, одобрены секцией отделе-

- ния ветеринарной медицины РАСХН [Текст]. М., 1998.
7. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влиянию их на репродуктивную функцию [Текст]. М., 1986. 37 с.
8. ГОСТ 12.1.007-87 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности [Текст]. М., 1987.
9. Шарипов, А.А. Влияние кормовых добавок на продуктивные и воспроизводительные качества крупного рогатого скота [Текст] / А.А. Шарипов, Р.М. Мударисов // Наука молодых – инновационному развитию АПК. Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. Уфа, 2015. С. 152–155.
10. Хакимов, И.Н. Взаимосвязь некоторых признаков и их использование в селекции мясного скота [Текст] / И.Н. Хакимов, Т.Н. Юнушева, Р.М. Мударисов // Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ. Материалы Международной научно-практической конференции. Уфа, 2015. С. 159–161.
11. Исмаилова, А.Ф. Экспериментальная и практическая токсикология в ветеринарии [Текст]:

учеб. пособие / А.Ф. Исмагилова, И.В. Чудов, С.В. Кузнецов; М-во образования и науки РФ, Башкирский ГАУ. Уфа: Башкирский ГАУ, 2007. 346 с.

12. Мударисов, Р.М. Биохимические и морфологические показатели крови и уровень естественной резистентности коров голштинской породы [Текст] / Р.М. Мударисов, Г.Р. Ахметзянова, И.Н. Хакимов // Вестник Ульяновской государственной

сельскохозяйственной академии. 2015. № 2 (30). С. 116–120.

13. Леонтьев, Л.Б. Способ сохранения продуктивного здоровья нетелей / Л.Б. Леонтьев, Н.И. Кульмакова, Р.М. Мударисов // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2015. № 4 (36). С. 51–54.

Сведения об авторах

1. **Леонтьев Леонид Борисович**, доктор биологических наук, профессор, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: 8 (499) 976-34-44, e-mail: Leontjev_Lenya@mail.ru.

2. **Кульмакова Наталия Ивановна**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: 8 (499) 976-34-44, e-mail: kni11@mail.ru.

3. **Мударисов Ринат Мансафович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры частной зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34. Тел.: 8 (347) 228-08-57, e-mail: mudarisov@mail.ru.

Статья посвящена разработке биологически активного комплекса и его токсикологической оценке. Проведенные исследования по ключевым токсико-

логическим показателям не выявили противопоказаний к применению биологически активного комплекса в животноводстве и ветеринарии.

L. Leont'ev, N. Kul'makova, R. Mudarisov

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF A BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX

Key words: *development; biologically active complex; toxicological evaluation; indications.*

Authors' personal details

1. **Leont'ev Leonid**, Doctor of Biological Sciences, Professor. Russian State Agrarian University – Moscow Agrarian Academy named after K.A. Timiryazev. Phone: 8 (499) 976-34-44, e-mail: Leontjev_Lenya@mail.ru.

2. **Kul'makova Nataliya Ivanovna**, Doctor of agricultural sciences, professor. Russian State Agrarian University – Moscow Agrarian Academy named after K.A. Timiryazev. Phone: 8 (499) 976-34-44, e-mail: kni11@mail.ru.

3. **Mudarisov Rinat**, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Professor of the Department of Small Animal Science and Animal Breeding. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 34, 50-letiya Oktyabrya St., Ufa, 450001, Russia. Phone: 8 (347) 228-08-57, e-mail: r-mudarisov@mail.ru.

The article discusses the development of a biologically active complex and its toxicological evaluation. The conducted toxicological studies on key toxicologi-

cal indicators have not revealed any negative side effects in use of the biologically active complex in animal breeding and veterinary medicine.

© Леонтьев Л.Б., Кульмакова Н.И., Мударисов Р.М.