

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ОФТАЛЬМЕКТИНА

Наталья Александровна Григорьева

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии

Проведены исследования с целью выявления раздражающего действия комплексного препарата офтальмектин, разработанного для лечения и профилактики телязиоза. Оценка действия офтальмектина проводилась на 22 кроликах весом 1,8-2,0 кг, разделенных на опытную и контрольную группы: в опыте при однократном применении $n = 6$ и многократном $n = 5$. Исследуемый препарат равномерно наносили в чистом виде в дозах 0,02-0,12 г/см² на предварительно подготовленный участок кожи, площадью 80-82 см² (5% от общей поверхности тела). Контрольным животным наносили гелевую основу. Воздействие препарата, однократно нанесенного на кожу, оценивали через 1 и 16 часов. Схема опыта при многократном применении включала однократную инстилляцию 0,5 г препарата 1 раз в день 15 дней подряд. Влияние препарата на конъюнктиву глаз было изучено также на кроликах ($n = 2$). В конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали пипеткой по 2 капли подогретого до 40°C препарата (контроль – правый глаз обоих кроликов, в который препарат не закапывали). Через 30 минут, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часов после закапывания препарата определяли клиническое состояние животных. Визуальная оценка состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз животных после нанесения офтальмектина позволила установить, что препарат не вызывает раздражения конъюнктивы как сразу после инстилляцией, так и в течение всего периода наблюдения. Клинические исследования состояния организма кроликов после применения препарата на кожу не выявили каких-либо достоверных изменений таких показателей, как температура тела, частота пульса и количество дыхательных движений. В течение эксперимента не были выявлены достоверные изменения состояния кожи кроликов, получавших гелевую основу препарата и офтальмектин. Отсутствовали явления гиперемии, отека, изъязвления, а также другие изменения, что соответствовало 0 баллов по шкале оценки кожных проб.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: офтальмектин, кролики, раздражающее действие, кожа, конъюнктура глаза.

DETERMINATION OF IRRITANT ACTION OF OFTALMEKTINUM

Natalia A. Grigoryeva

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

Research was conducted in order to determine the irritant action of a complex Oftalmectinum preparation developed for the treatment and prevention of thelaziasis. The effect of Oftalmectinum was evaluated in 22 rabbits weighing 1.8-2.0 kg and divided into the experimental and control groups: in the experiment with single application ($n = 6$) and repeated application ($n = 5$). The test preparation was uniformly applied «as is» at the doses of 0.02-0.12 g/cm² to a pretreated skin site with the area of 80-82 cm² (5% of the total body surface area). Control animals were treated with a gel base. The effect of the preparation after single application to the skin was evaluated after 1 and 16 hours. The experimental design with repeated application included a single instillation of 0.5 g of the preparation once a day for 15 consecutive days. The effect of the preparation on the conjunctiva was also studied in rabbits ($n = 2$). Two drops of the preparation heated to 40°C were instilled by pipetting in the conjunctival sac of the left eye (the control was the right eye of both rabbits, in which the preparation was not instilled). The clinical condition of animals was evaluated 30 minutes, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours post-instillation. A visual assessment of the conjunctiva, cornea and eyelids of the animals after the application of Oftalmectinum allowed concluding that the preparation causes no irritation of the conjunctiva, either immediately after instillation or during the entire observation period. Clinical studies of the body condition of rabbits after the epidermal application of the preparation revealed no significant changes in such parameters as body temperature, pulse rate and the number of respiratory movements. During the experiment there were no significant changes in the skin condition of rabbits that received the gel base of the preparation and Oftalmectinum. There was no hyperemia, edema, ulceration, or other changes, which corresponded to 0 points on the scale of skin test evaluation.

KEY WORDS: Oftalmectinum, rabbits, irritant action, skin, conjunctiva.

Рынок антигельминтных препаратов довольно широк. Но не так часто встречаются комплексные препараты для лечения и профилактики телязиоза крупного рогатого скота. Как правило, их действие направлено только на борьбу с возбудителем болезни, при этом лечение вызванных гноеродной микрофлорой патологических процессов необходимо проводить дополнительно. Во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии (г. Воронеж) разработан новый комплексный препарат офтальмектин для лечения и профилактики телязиоза. Использование комбинированного химиотерапевтического средства позволяет достичь нескольких целей: уменьшить дозу препарата, сократить время, необходимое для проведения лечебных манипуляций, ускорить срок выздоровления животных, а следовательно, сократить общие затраты на лечение.

Фармакотоксикологические свойства ивермектина и азитромицина, входящих в состав препарата, довольно подробно изучены и описаны в отечественной и зарубежной литературе [14, 17]. Многими авторами описано, что ивермектин безопасен при применении его в рекомендованной терапевтической дозе, а именно, 0,2 мг/кг. Побочного воздействия на организм не наблюдается, за исключением местной реакции при инъекционном введении [13, 16, 18, 21]. В работах Merck & Co. (1979), И.М. Гаджиева (1985) и по данным Европейского агентства по ветеринарным лекарственным препаратам и экспертизы было показано, что ивермектин не обладает эмбриотоксическим, тератогенным и мутагенным действием [3, 18, 20]. Сведения о безопасном применении ивермектинсодержащих препаратов наружно подтверждают исследования А.В. Яковлева и В.А. Сидоркина. Авторы установили хорошую переносимость животными при нанесении дозы, даже в пять раз больше терапевтической [15].

Азитромицин является наиболее безопасным антибиотиком широкого спектра действия, относится к 4-му классу опасности (согласно ГОСТ 12.1.007-76) и категории безопасности В по классификации FDA [6, 7]. Нежелательные лекарственные реакции при приеме макролидов являются обратимыми и купируются после завершения лечения [22]. К его достоинствам также относится низкий уровень резистентности и аллергический потенциал [4, 5, 12, 19]. Оценка местнораздражающего действия инъекционного азитромицина проводилась на крысах. У животных отмечалась выраженная местная реакция только после внутримышечного и подкожного введения больших объемов препарата, при уменьшении дозы препарата до 0,15-0,7 мл клинических симптомов местной реакции не наблюдали [6].

Известно, что сочетание разных препаратов представляет собой совершенно новое лекарственное средство, взаимодействие компонентов и технология производства которого могут изменить параметры токсичности исходных веществ, поэтому необходима тщательная и всесторонняя оценка его безопасности. Изучение раздражающего действия является необходимым этапом доклинического контроля [1, 2, 9, 11].

С учетом вышесказанного были проведены исследования с целью выявления раздражающего действия офтальмектина при кожном нанесении и нанесении на слизистую оболочку глаза.

Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления в соответствии с общеевропейскими требованиями к животным, используемым в эксперименте (Страсбург, 1986), а также правилами лабораторной практики, применяемыми на территории Российской Федерации (приказ МЗ РФ №267 от 2003 г.) [8].

Раздражающее действие препарата на кожу при однократном его применении было изучено на кроликах весом от 1,8 до 2,0 кг, разделенных на опытную (n = 6) и контрольную (n = 6) группы. Исследуемый препарат равномерно наносили в чистом виде в дозах 0,02-0,12 г/см² на предварительно подготовленный участок кожи, площадью 80-82 см², что составляло 5% от общей поверхности тела животных. Препарат ос-

тавляли на коже на 4 часа, потом убирали ватным тампоном, смоченным дистиллированной водой. Контрольным животным наносили гелевую основу. Воздействие препарата, однократно нанесенного на кожу, оценивали через 1 и 16 часов.

Оценку раздражающего действия препарата проводили в соответствии с классификацией, представленной в таблице 1. При этом учитывали изменение температуры кожи, наличие отека, трещин, эритемы, изъязвлений.

Таблица 1. Классификация раздражающего действия препарата на кожу подопытных кроликов

Класс	Средний суммарный балл выраженности эритемы и отека	Выраженность раздражающего действия
0	0	Отсутствие раздражающего действия
1	0,1-2,0	Слабораздражающее действие
2	2,1-4,0	Умеренно раздражающее действие
3	4,1-6,0	Выраженное раздражающее действие
4	6,1-8,0	Резко выраженное раздражающее действие

Выраженность эритемы кожи кролика оценивали визуально в баллах, результаты оценки представлены в таблице 2.

Таблица 2. Классификация эритемы кожи подопытных кроликов

Интенсивность эритемы (визуально)	Оценка в баллах
Отсутствие эритемы	0
Слабая, едва заметная	1
Умеренно выраженная	2
Выраженная	3
Резко выраженная	4

Степень отека оценивали также в баллах, измеряя толщину кожной складки. Результаты оценки представлены в таблице 3.

Таблица 3. Классификация отека / толщины кожной складки подопытных кроликов

Интенсивность отека / толщина кожной складки, мм	Оценка в баллах
Отсутствие отека	0
Слабая интенсивность – до 0,5 мм	1
Умеренная – 0,6-1,0 мм	2
Выраженная – 1,1-2,0 мм	3
Резко выраженная – 2,0 мм и более	4

Формирование групп и нанесение офтальмектина проводили аналогично предыдущему опыту (по 5 животных в опытной и контрольной группах). Схема применения включала однократное нанесение 0,5 г препарата один раз в день 15 дней подряд. Контрольным животным наносили гелевую основу. Животные находились под наблюдением весь период опыта и 5 дней после его окончания.

Степень раздражающего действия офтальмектина определяли по ряду показателей, учитывая:

- изменение общего поведения животных, аппетита, температуры и массы тела;
- появление воспалительной реакции кожи, с измерением толщины кожной складки с помощью кутикомера, образование изъязвлений, некрозов, шелушения;
- интенсивность отрастания шерсти – путем острига под корень пучков шерсти и измерения в миллиметрах их длины.

Характер, степень и время изменения кожного покрова учитывали ежедневно с помощью шкалы оценки кожных проб [10].

Влияние офтальмектина на конъюнктиву глаз изучено на кроликах породы белый великан (n = 2). Согласно методике в конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали пипеткой по 2 капли подогретого до 40°C препарата. Контролем служил правый глаз обоих кроликов, в который препарат не вносили. Через 30 минут, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часов после закапывания препарата определяли клиническое состояние животных. Измеряли температуру тела, частоту пульса, количество дыхательных движений, изменение кровенаполнения конъюнктивы, наличие выделений, состояние роговицы и век (табл. 4).

Таблица 4. Классификация конъюнктивальной пробы на подопытных кроликах

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Нет реакции	0	Отсутствует
Слабая реакция	2	Слабый
Выраженная реакция	4	Умеренный
Лакримация	6	Слабовыраженный
Наличие выделений	8	Выраженный
Отек век	10	Сильновыраженный

Согласно полученным данным по изучению раздражающего действия офтальмектина на кожные покровы можно сделать вывод, что при однократном нанесении исследуемый препарат не вызывает видимых повреждений и изменений кожи (табл. 5).

Таблица 5. Местно-раздражающее действие офтальмектина при однократном нанесении

Плотность нанесения, г/см ²	Наблюдаемый эффект		Средний балл выраженности			
			эритемы		отека	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
0,020	0/6	0/6	0	0	0	0
0,040	0/6	0/6	0	0	0	0
0,060	0/6	0/6	0	0	0	0
0,080	0/6	0/6	0	0	0	0
0,100	0/6	0/6	0	0	0	0
0,120	0/6	0/6	0	0	0	0

При длительном накожном применении раздражающего действия офтальмектина не установлено. Шерстный покров полностью восстановился и не отличался по структуре и густоте от такового у животных контрольной группы.

Отклонений в клинических показателях у кроликов в двух группах не выявлено. На протяжении двадцатидневного срока наблюдения толщина выбритой и выстриженной складок кожи у животных опытной группы не отличалась от таковой у контрольных животных.

В течение эксперимента не были выявлены достоверные изменения состояния кожи кроликов, получавших гелевую основу препарата и офтальмектин. Отсутствовали явления гиперемии, отека, изъязвления и другие изменения, что соответствовало 0 баллов по шкале оценки кожных проб (табл. 6).

Таблица 6. Результаты исследования местно-раздражающего действия офтальмектина при многократном применении

№ животного	Реакция кожи в баллах при сроках наблюдения, дней																
	1		2		3		4		5		10		15		20		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание: I – гелевая основа; II – офтальмектин

Следовательно, положительные результаты проведенных исследований позволяют нам утверждать, что препарат офтальмектин не обладает местно-раздражающим действием на кожные покровы как при однократном, так и многократном применении.

Клинические исследования состояния организма животных после инстилляций препарата на конъюнктиву кроликов не выявили каких-либо достоверных изменений в таких показателях, как температура тела, пульс и частота дыхательных движений (ЧДД) (табл. 7).

Таблица 7. Данные о клиническом состоянии организма подопытных кроликов

Время исследования после инстилляций	Кролик № 1			Кролик № 2		
	Т, °С	Пульс, уд/мин	ЧДД, мин	Т, °С	Пульс, уд/мин	ЧДД, мин
До введения	39,2	142	57	38,9	133	52
30 мин	39,1	142	57	38,9	132	53
1 час	39,1	142	58	38,7	134	53
2 часа	39,2	140	57	38,7	134	52
3 часа	39,3	140	57	38,8	132	52
4 часа	39,2	142	58	38,8	132	53
5 часов	39,2	141	58	38,9	133	52
6 часов	39,1	141	57	38,8	133	52

Проведенная визуальная оценка состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз животных после нанесения исследуемого вещества позволила установить, что офтальмектин не вызывает раздражения конъюнктивы как сразу после инстилляции, так и в течение всего периода наблюдения (табл. 8).

Таблица 8. Влияние препарата офтальмектин на глаза подопытных кроликов

Время исследования после нанесения	Кролик № 1		Кролик № 2	
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
До введения	0	Отсутствует	0	Отсутствует
30 мин	0	Отсутствует	0	Отсутствует
1 час	0	Отсутствует	0	Отсутствует
2 часа	0	Отсутствует	0	Отсутствует
3 часа	0	Отсутствует	0	Отсутствует
4 часа	0	Отсутствует	0	Отсутствует
5 часов	0	Отсутствует	0	Отсутствует
6 часов	0	Отсутствует	0	Отсутствует

Выводы

При одно- и многократных аппликациях офтальмектина и его гелевой основы у кроликов не отмечено видимых признаков раздражения на коже, а также изменений клинического состояния. После внесения в конъюнктивальный мешок кроликам испытуемого препарата состояние слизистых оболочек глаза не изменялось в течение всего периода наблюдения.

Таким образом, опытным путем установлено, что офтальмектин не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаза.

Библиографический список

1. Алиев А.Ю. Лечебная и профилактическая эффективность и фармакологические свойства докси-маста при субклиническом мастите у коров : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.07; 16.00.04 / А.Ю. Алиев. – Воронеж, 2007. – 122 с.
2. Востроилова Г.А. Экспериментальная и клиническая фармакология препаратов плаценты, полученных методом криофракционирования : дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.04; 03.00.04 / Г.А. Востроилова. – Воронеж, 2007. – 319 с.
3. Гаджиев И.М. Эмбриологическое и тератогенное действие ивермектина / И.М. Гаджиев // Бюлл. Всесоюзного института гельминтологии. – 1985. – Вып. 39. – С. 14-17.

4. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману ; под общ. ред. А.Г. Гилмана. – Москва : Практика, 2006. – 1648 с.
5. Голубовская О.А. Применение азитромицина в клинике инфекционных болезней / О.А. Голубовская // Газета «Новости медицины и фармации». – 2013. – № 9 (460). – С. 8-9.
6. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с изменениями № 1, 2). – Москва : Стандартинформ, 2007. – 7 с.
7. Грацианская А.Н. Антибиотики в педиатрической практике: азитромицин / А.Н. Грацианская // Трудный пациент. – 2014. – № 1-2. – С. 25-28.
8. Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» (зарегистрирован в Минюсте РФ 25.06.2003 № 4809) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_43035/ (дата обращения: 25.03.2017).
9. Растриженкова Л.В. Фармако-токсикологические свойства и эффективность динопена при профилактике и лечении послеродового эндометрита коров : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.04 / Л.В. Растриженкова. – Воронеж, 2009. – 144 с.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ ; под ред. В.П. Фисенко. – Москва : Ремедиум, 2000. – 398 с.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 ; под ред. А.Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
12. Сафарова М.И. Азитронит – новый безопасный препарат для лечения поросят, больных гастроэнтеритом / М.И. Сафарова, Л.М. Кашковская // Эффективное животноводство. – 2015. – № 1 (111). – С. 40-41.
13. Семенов С.В. Новая лекарственная форма ивермектина, ее фармакологические свойства и эффективность при лечении паразитарных болезней животных : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 16.00.04 / С.В. Семенов. – Москва, 2009. – 125 с.
14. Тягнбядина Н.И. Фармако-токсикологические свойства и терапевтическая эффективность инъекционной формы азитромицина : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.02.03 / Н.И. Тягнбядина. – Москва, 2013. – 22 с.
15. Яковлев А.В. Изучение переносимости препарата «Ивермек-гель» на кроликах / А.В. Яковлев, В.А. Сидоркин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : матер. докладов науч. конф. (г. Москва, 18-20 мая 2010 г.). – 2010. – Вып. 11. – С. 515-517.
16. Betz L. Developmental changes in metabolism and transport properties of capillaries isolated from rat brain / L. Betz, G.N. Goldstein // J. Physiol. – 1981. – Vol. 312. – No. 2. – P. 365-376.
17. Burkhart C.N. Ivermectin: an assessment of its pharmacology, microbiology and safety / C.N. Burkhart // Vet Hum Toxicol. – 2000. – Vol. 42. – P. 30-35.
18. Campbell W.C. Ivermectin: a review of efficacy and safety / W.C. Campbell, G.W. Benz // J. Vet. Pharmacol. and Therap. – 1984. – Vol. 7. – No. 1. – P. 1-16.
19. Carbon C. The role of newer macrolides in the treatment of community-acquired respiratory tract infection. A review of experimental and clinical data / C. Carbon, M.D. Poole // J. Chemother. – 1999. – Vol. 11. – No. 2. – P. 107-118.
20. EMEA (European Medicines Agency. Veterinary Medicines and Inspections) Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. IVERMECTIN (Modification of Maximum Residue Limits). Summary Report (5). EMEA/MRL/915/04-FINAL. November 2004 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docviewer.yandex.ru/view/352056735/> (дата обращения: 25.05.2017).
21. Lankas G.R. Toxicology In Ivermectin and Abamectin / G.R. Lankas, L.R. Gordon // W.C. Campbell, Ed., Springer-Verlag, New York, 1989. – P. 89-113.
22. Williams J.D. Evaluation of macrolides / J.D. Williams // Int. J. Antimicrobial. Agents. – 2001. – Vol. 18. – P. 77- 81.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ Принадлежность к организации

Наталья Александровна Григорьева – аспирант, младший научный сотрудник отдела фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Российская Федерация, г. Воронеж, E-mail: kettbery@mail.ru.

Дата поступления в редакцию 20.06.2017

Дата принятия к печати 28.07.2017

AUTHOR CREDENTIALS Affiliations

Natalia A. Grigoryeva – Post-graduate Student, Junior Research Scientist, the Dept. of Pharmacology, All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 278-48-12, E-mail: kettbery@mail.ru.

Date of receipt 20.06.2017

Date of admittance 28.07.2017