

9. Tyurina, I. Razrabotka novogo assortimenta hlebobulochnyh izdelij dlya gerodieticheskogo pitaniya / I. Tyurina, O. Tyurina, A. Borisova // Sfera: konditerskaya i hlebopekarnaya promyshlennost'. – 2019. – № 2. – S. 43.
10. Chernobaj, E.N. Perspektiva sozdaniya produktov gerodieticheskoy napravlenosti / E.N. Chernobaj // Sbornik nauchnyh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovostva i kormoproizvostva. – Stavropol', 2014. – S. 225-227.
11. Lorenzo M. Donini, Eleonora Poggiogalle, Valeria del Balzo [Elektronnyj resurs]: Food Preferences in the Elderly; URL: https://www.researchgate.net/publication/301611453_Food_Preferences_in_the_Elderly (Data obrashcheniya 02.09.2019).

E-mail: info@niidp.ru

УДК 615.015.35

DOI: 10.31208/2618-7353-2019-7-85-91

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА ФЛОРФЕНИКОЛ ВС 30, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

THE STUDY OF THE SAFETY OF THE DRUG FLORFENICOL VS 30, INTENDED FOR USE IN ANIMAL HUSBANDRY

²Журавлёва М.С., кандидат ветеринарных наук

¹Абрамов С.В., кандидат ветеринарных наук

²Головин В.В., главный специалист

²Кутукова А.Л., ведущий специалист

³Анисимова Е.Ю., кандидат биологических наук

²*Zhuravleva M.S., candidate of veterinary sciences*

¹*Abramov S.V., candidate of veterinary sciences*

²*Golovin V.V., main specialist*

²*Kutukova A.L., leading specialist*

³*Anisimova E.Yu., candidate of biological sciences*

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», Москва

²Международный научно-исследовательский центр охраны здоровья человека, животных и окружающей среды, Москва

³Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции, Волгоград

¹*All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a Branch of the FSBSI «Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of RAS», Moscow*

²*International Research Center of Health Protection of the People, Animals and Environment, Moscow*

³*Volga Region Research Institute of Manufacture and Processing of Meat-and-Milk Production, Volgograd*

Работа выполнена в рамках гранта МК-3731.2018.11.

В рамках выполненного исследования были определены переносимые, токсические и летальные дозы препарата Флорфеникол ВС 30 (организация-разработчик ООО «ВЕТСФЕРА»,

Россия) на аутбредных крысах при внутримышечных инъекциях с целью своевременной оценки безопасности лекарственного вещества для дальнейших доклинических и клинических исследований на целевых видах животных.

Клиническая картина острой интоксикации характеризовалась резким снижением двигательной активности животных и появлением одышки. У выживших грызунов отмечали угнетение, диарею и прогрессирующее снижение массы тела. Нарушение работы желудочно-кишечного тракта крыс имело обратимый характер. При патологоанатомическом вскрытии павших животных были отмечены вздутие желудка, выраженное растяжение стенок органа и гиперемия его слизистой оболочки. Тонкий отдел кишечника также был гиперемирован.

Значение LD_{50} препарата Флорфеникол ВС 30 при однократном внутримышечном введении аутбредным крысам-самцам составило 11300 мг/кг массы животного (метод Кербера). Для определения границ доверительного интервала среднесмертельной дозы дополнительно был применен пробит-анализ Миллера и Тейнтера ($LD_{50} - 11410 \pm 2245,4$ мг/кг; границы доверительного интервала: $9164,6 \div 13655,4$ мг/кг).

В результате проведенных исследований была выявлена клиническая картина интоксикации и произведён расчёт дозы препарата, вызывающей гибель 50% экспериментальных животных. Полученная информация имела немаловажное значение при планировании следующих этапов исследования препарата Флорфеникол ВС 30 на сельскохозяйственных животных. Основываясь на результатах исследования острой инъекционной токсичности, подбирались безопасные для введения сельскохозяйственным животным дозы испытуемого препарата, что позволило избежать неоправданного вреда для экспериментальных животных и их возможной гибели. Таким образом, проведённые исследования оказывают косвенное влияние на безопасность применения исследуемого препарата в производственных условиях.

Within the executed research, tolerable, toxic and lethal doses of the medicine Florfenicol VS 30 on SD rats at intramuscular injections for the purpose of timely assessment of safety of medicinal substance for further clinical trials on target animal species have been defined.

The clinical picture of acute intoxication was characterized by sharp decrease in physical activity and emergence of dyspnea. At the survived rodents noted oppression, diarrhea and the progressing decrease in body weight. Disturbance of the gastrointestinal tract of rats had reversible character. At autopsy of the fallen animals stomach swelling, the expressed stretching its walls and hyperaemia of its mucous membrane have been noted. The thin department of intestines was also hyperemic.

The LD_{50} value of the preparation Florfenicol VS 30 for single intramuscular injection of outbred male rats was 11300 mg/kg (Kerber's method). To determine the limits of the confidence interval of the average dose, the Miller and Tainter probit-analysis ($LD_{50} - 11410 \pm 2245.4$ mg/kg, confidence interval limits: $9164.6 \div 13655.4$ mg/kg) was additionally applied.

As a result of the conducted researches the clinical picture of intoxication was revealed and the calculation of the dose of the preparation causing death of 50% of experimental animals is made. The information obtained was important in planning the next stages of the study of the drug Florfenicol VS 30 on farm animals. Based on the results of the study of acute injectable toxicity, safe doses of the test drug were selected for the introduction of agricultural animals, which allowed to avoid unjustified harm to experimental animals and their possible death. Thus, the

studies have an indirect impact on the safety of the drug under study in the production environment.

Ключевые слова: острая токсичность, внутримышечное введение, крысы, LD₅₀, Флорфеникол ВС 30, признаки интоксикации.

Key words: *acute intramuscular injection toxicity, SD rats, LD₅₀, Florfenicol VS 30, signs of intoxication.*

Введение. Флорфеникол – это фторированный синтетический аналог тиамфеникола, разработанный специально для применения в ветеринарии. Его используют для лечения продуктивных видов сельскохозяйственных животных – крупного и мелкого рогатого скота, свиней и птицы.

Выполненный эксперимент является неотъемлемой составляющей в комплексе исследований и направлен на проведение мероприятий по государственной регистрации лекарственного препарата для ветеринарного применения Флорфеникол ВС 30 (организация-разработчик ООО «ВЕТСФЕРА», Россия) в уполномоченных государственных органах РФ. Регистрация препарата на территории РФ позволит применять данный препарат в производственных условиях.

Препарат выпускается в форме раствора для инъекций и содержит в 1,0 мл 300 мг флорфеникола.

Данную работу в соответствии с регламентирующими положениями осуществляли с использованием лабораторных животных, которые являются главным биологическим звеном в системе научного эксперимента, предсказывая значительную часть токсических эффектов новых фармацевтических средств [3, 8].

Материалы и методы. Определение параметров острой инъекционной токсичности на лабораторных животных является необходимым этапом исследований для оценки безопасности и дальнейшего изучения лекарственного препарата для ветеринарного применения в рамках доклинических исследований [4].

Экспериментальная часть работы была выполнена в соответствии с требованиями регулирующих стандартов GLP и Федерального закона № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств от 12.04.2010 г.» (ред. от 28.12.2017 г). Исследовательское учреждение – Международный научно-исследовательский центр охраны здоровья человека, животных и окружающей среды (ООО МНИЦ «ОЗОС»). Работу с животными проводили в виварии ФГБНУ «ВНИИП им. К.И. Скрябина».

Содержание экспериментальных животных осуществлялось в условиях вивария в соответствии с требованиями, указанными в соответствующей нормативной документации (ГОСТ 33216-2014, ГОСТ 33215-2014) [2]. В помещении, где содержались лабораторные крысы, поддерживались соответствующие параметры микроклимата (СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)»). Животных кормили комбикормом полнорационным экструдированным для лабораторных животных; поение осуществляли *ad libitum* из стандартных поилок подготовленной водой.

Каждому животному был присвоен индивидуальный номер, помечаемый на шерсти. Маркировка крыс осуществлялась ветеринарным спреем RAIDEX (Германия) согласно принятой схеме меток.

Острую инъекционную токсичность препарата Флорфеникол ВС 30 определяли на 30 белых аутбредных крысах-самцах массой тела 210-259 г, распределив животных на 4 опытных и 1 контрольную группы по 6 особей в каждой.

Препарат без разведения в виде предоставленного раствора вводили опытным группам однократно внутримышечно (заднебедренная область) в объемах: 1,50; 1,25; 1,0 и 0,75 мл на 100 г массы животного, что соответствует дозам 16950, 14125, 11300 и 8475 мг/кг по препарату (плотность – 1,13 г/см³). Крысам контрольной группы аналогичным образом вводили воду для инъекций (ООО «Гротекс», серия 971117, срок годности – до 12.2020 г.) в объеме 1,50 мл на 100 г массы животного. Выбор доз обусловлен анализом литературных данных и методическими рекомендациями [6, 9].

В течение 14 суток проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных, появлением симптомов интоксикации и гибелью. Контроль массы тела крыс опытных и контрольной групп проводили в день постановки опыта (до введения препарата), а также на 1, 3, 7, 9 и 14 сутки [7].

Результаты и обсуждение. Наибольшая доза препарата – 16950 мг/кг – являлась абсолютно летальной: 2 крысы погибли в течение 5 часов после введения препарата, остальные 4 головы – по завершении первых суток. Через 20 минут после введения Флорфеникола ВС 30 у животных наблюдали резкое снижение двигательной активности и диспноэ. При патолого-анатомическом вскрытии павших животных были отмечены вздутие желудка, выраженное растяжение стенок органа и гиперемия его слизистой оболочки. Тонкий отдел кишечника также был гиперемирован.

Введение дозы 14125 мг/кг вызвало падеж 3 голов в течение первых суток опыта, на 14 сутки была зафиксирована гибель ещё двух крыс. Симптомы интоксикации после введения препарата были аналогичны признакам отравления у крыс из вышеописанной группы. В ходе аутопсии выявлено вздутие желудка и резкое кровенаполнение стенок кишечника и брыжейки. В течение двух первых суток выжившие животные были угнетены и апатичны, стремительно теряли массу тела. Начиная с 5 дня опыта, у крыс отмечали диарею, на девятые сутки эксперимента расстройство желудочно-кишечного тракта усугублялось. В последний период регистрации (14 сутки) признаки интоксикации отмечены не были.

Доза 11300 мг/кг вызвала падеж 3 крыс в первые сутки. У выживших животных данной группы выявляли угнетение, диарею и прогрессирующее снижение веса (кахексию), которое наблюдали во все периоды регистрации. С седьмых суток эксперимента общее состояние животных становилось удовлетворительным, изменений в поведении не выявляли, потребление корма и воды умеренное, фекалии приобретали более оформленный вид.

Общее состояние животных четвертой опытной группы, получавших дозу 8475 мг/кг, на всем протяжении эксперимента было удовлетворительным, случаев гибели не отмечено. Изменений в физических и физиологических показателях здоровья крыс не выявили. Отрицательная динамика массы тела сохранялась до 9 суток эксперимента, в последний период регистрации веса она имела положительный характер, но все же была достоверно ниже контрольных показателей.

Динамика относительного прироста массы тела крыс приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Интенсивность увеличения массы тела экспериментальных животных относительно начального веса (%)

Table 1 – The intensity of the increase in body weight of experimental animals relative to the initial weight (%)

№ животного <i>animal's</i>	Контрольная группа <i>Control group</i>	1 опытная (16950 мг/кг) <i>1 experienced</i> (16950 mg/kg)	2 опытная (14125 мг/кг) <i>2 experienced</i> (14125 mg/kg)	3 опытная (11300 мг/кг) <i>3 experienced</i> (11300 mg/kg)	4 опытная (8475 мг/кг) <i>4 experienced</i> (8475 mg/kg)
1	43,83	-	-	-	-1,59
2	36,33	-	-	-25,91	4,70
3	23,25	-	-10,62	-	15,28
4	45,65	-	-	-26,95	19,72
5	33,74	-	-	-	16,51
6	45,93	-	-	-	2,15
Хср ± Δ	38,12 ± 9,31	-	-10,62**	-26,43**	9,46 ± 9,23*

Примечание: * – статистически достоверное отличие от показателя контрольной группы ($p \leq 0,05$);
 ** – не рассчитан доверительный интервал в связи с недостаточным количеством данных;
 «-» – чертой обозначены погибшие животные
 Note: * – statistically significant difference from the control group ($p \leq 0.05$);
 ** – confidence interval not calculated due to insufficient data;
 «-» – string denotes the dead animals

Результаты внутримышечного введения препарата Флорфеникол ВС 30 аутбредным крысам приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Соотношение доза/эффект при внутримышечном введении самцам крыс препарата Флорфеникол ВС 30

Table 2 – The ratio of the dose/effect when administered intramuscularly male rats of the drug Florfenicol VS 30

Группа <i>Group</i>	Количество голов <i>Number of heads</i>	Доза препарата, мг/кг <i>Dose of preparation, mg/kg</i>	Объем препарата, мл/100 г <i>Volume preparation's, ml/100 g</i>	Пало животных, число голов <i>Dead animals, number of heads</i>	Выжило животных, число голов <i>Animals survived, number of heads</i>
Опытная 1 <i>Experienced 1</i>	6	16950	1,50	6	0
Опытная 2 <i>Experienced 2</i>	6	14125	1,25	5	1
Опытная 3 <i>Experienced 3</i>	6	11300	1,00	4	2
Опытная 4 <i>Experienced 4</i>	6	8475	0,75	0	6
Контрольная <i>Control</i>	6	Вода для инъекций <i>Water for injection</i>	1,50	0	6

На основании полученных данных (таблица 2) была рассчитана величина LD_{50} методом Кербера [1, 5] по формуле:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zxd)}{n}, \text{ где}$$

LD_{100} – доза, вызвавшая гибель всех животных;

z – среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась гибель под влиянием двух смежных доз;

d – интервал между двумя смежными дозами;

n – число животных в группе.

Значение LD₅₀ препарата Флорфеникол ВС 30 при инъекционном введении крысам составило 11300 мг/кг массы животного.

Для того, чтобы иметь полное представление об LD₅₀, которая может варьировать в зависимости от индивидуальных особенностей животных данного вида и возраста, необходимо знать амплитуду ее колебания. С этой целью был применен пробит-анализ Миллера и Тейнтера [1, 5]. Результаты расчетов приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Параметры острой инъекционной токсичности препарата Флорфеникол ВС 30, мг/кг
Table 3 – Parameters of acute injectable toxicity of Florfenicol VS 30 mg/kg

LD ₀ (мг/кг) (mg/kg)	LD ₁₆ (мг/кг) (mg/kg)	LD ₅₀ (мг/кг) (mg/kg)	LD ₈₄ (мг/кг) (mg/kg)	LD ₁₀₀ (мг/кг) (mg/kg)
8475	8910	11410 ± 2245,4 (9164,6 ÷ 13655,4)	13910	16950

Согласно полученным данным, значение LD₅₀ препарата Флорфеникол ВС 30 для белых аутбредных крыс-самцов, рассчитанное по методу Миллера и Тейнтера, составило 11410,0 ± 2245,4 (9164,6 ÷ 13655,4) мг/кг.

Заключение. В результате проведенных исследований были определены переносимая (8475 мг/кг), токсические (11300 мг/кг, 14125 мг/кг) и абсолютно летальная (16950 мг/кг) дозы лекарственного препарата Флорфеникол ВС 30 при однократном внутримышечном введении лечебного раствора крысам.

Величина LD₅₀ составила 11410,0 ± 2245,4 (9164,6 ÷ 13655,4) мг/кг (пробит-анализ Миллера и Тейнтера). Значение среднесмертельной дозы по методу Кербера составило 11300 мг/кг, что демонстрирует правомерность применения обоих статистических расчетов ввиду сопоставимых результатов.

Полученные значения среднесмертельной дозы препарата Флорфеникол ВС 30 оказались значительно выше доз, рекомендуемых разработчиком к применению в производственных условиях, что доказывает безопасность использования данного препарата целевым видам животных при производстве животноводческой продукции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Библиографический список

1. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта: монография / М.Л. Беленький. – 2-е изд., перераб. и доп. – Ленинград: Медгиз, 1963. – 146 с.
2. Каркищенко, Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / Н.Н. Каркищенко. – Москва, 2010. – 344 с.
3. Коробейникова, Е.П. Лабораторные животные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (НЛП/GLP) / Е.П. Коробейникова, Е.Ф. Комарова // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 1. – С. 30-36.
4. Осянина, М.Н. Изучение токсикологических свойств препарата Азитронит при пероральном и внутримышечном способах введения в условиях острого опыта /

- М.Н. Осянина, А.В. Балышев, Н.Б. Емельянова, С.В. Новикова, Е.В. Глухарева // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 41-43.
5. Рецкий, М.И. Токсикология: учебное пособие для ВУЗов / М.И. Рецкий, Н.Н. Каверин, М.Н. Аргунов. – Воронеж, 2006. – Часть 1. – 55 с.
 6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Часть первая. – 944 с.
 7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-кор. РАМН, профессора Хабриева Р.У. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
 8. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник. – СПб: ЛЕМА, 2013. – 116 с.
 9. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council/ISBN: 0-309-15401-4, 326 p., (2010).

Reference

1. Belen'kij, M.L. Elementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo effekta: monografiya / M.L. Belen'kij. – 2-e izd., pererab. i dop. – Leningrad: Medgiz, 1963. – 146 s.
2. Karkishchenko, N.N. Rukovodstvo po laboratornym zhiivotnym i al'ternativnym modelyam v biomedicinskih tekhnologiyah / N.N. Karkishchenko. – Moskva, 2010. – 344 s.
3. Korobejnikova, E.P. Laboratornye zhiivotnye – biomodeli i test-sistemy v fundamental'nyh i doklinicheskikh eksperimentah v sootvetstvii so standartami nadlezhashchej laboratornoj praktiki (NLP/GLP) / E.P. Korobejnikova, E.F. Komarova // ZHurnal fundamental'noj mediciny i biologii. – 2016. – № 1. – S. 30-36.
4. Osyana, M.N. Izuchenie toksikologicheskikh svojstv preparata Azitronit pri peroral'nom i vnutrimyshechnom sposobah vvedeniya v usloviyah ostrogo opyta / M.N. Osyana, A.V. Balyshev, N.B. Emel'yanova, S.V. Novikova, E.V. Gluhareva // Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii. – 2014. – № 4. – S. 41-43.
5. Reckij, M.I. Toksikologiya: uchebnoe posobie dlya VUZov / M.I. Reckij, N.N. Kaverin, M.N. Argunov. – Voronezh, 2006. – CHast' 1. – 55 s.
6. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv / Pod red. A.N. Mironova. – M.: Grif i K, 2012. – CHast' pervaya. – 944 s.
7. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskikh veshchestv / Pod obshchej redakciej chl.-kor. RAMN, professora Habrieva R.U. – 2 izd., pererab. i dop. – M.: Medicina, 2005. – 832 s.
8. Fiziologicheskie, biohimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nyh zhiivotnyh: spravochnik. – SPb: LEMA, 2013. – 116 s.
9. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; National Research Council/ISBN: 0-309-15401-4, 326 p., (2010).

E-mail: vigis@ncport.ru; info@ozos.ru

**ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
/ RESEARCH ACTIVITY OF YOUNG SCIENTISTS**

УДК 663.674

DOI: 10.31208/2618-7353-2019-7-92-99

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ
РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЫРКОВ
ТВОРОЖНЫХ ГЛАЗИРОВАННЫХ****USE OF FUNCTIONAL COMPONENTS OF VEGETABLE ORIGIN
IN THE PRODUCTION OF CARVIFIED GLAZED CHEESE**¹Менялкина А.С., студентка¹Скачков Д.А., кандидат биологических наук, доцент²Сложенкина А.А., студентка²Мосолова Д.А., студентка¹*Menyalkina A.S., student*¹*Skachkov D.A., candidate of biological sciences, associate professor*²*Slozhenkina A.A., student*²*Mosolova D.A., student*¹Волгоградский государственный технический университет²Поволжский научно-исследовательский институт производства

и переработки мясомолочной продукции, Волгоград

¹*Volgograd State Technical University*²*Volga Region Research Institute of Manufacture and Processing
of Meat-and-Milk Production, Volgograd*

Работа выполнена в рамках гранта МК-3731.2018.11.

Статья посвящена актуальной для молочной отрасли проблеме, заключающейся в расширении ассортимента и повышении биологической ценности творожных продуктов, в частности глазированных сырков. Показана необходимость разработки и продвижения на потребительский рынок сырков творожных глазированных с оптимально сбалансированным составом и улучшенными органолептическими свойствами. Разработана рецептура глазированных сырков с особой технологией подготовки компонентов и их внесения в продукт. Подтверждены обогащение и функциональность разработанного молочного продукта – сырка глазированного, согласно идентификационным понятиям, характеристикам и определениям.

Выявлено, что с внесением растительных компонентов (яблочной клетчатки с брусничным джемом) в составе сырков творожных глазированных повышается содержание пищевых волокон и витаминов: А, В₁, В₂, С, Е, РР, а также макро- и микроэлементов: калия, магния, фосфора, железа и меди. При этом в обогащенном глазированном сырке стало существенно больше таких витаминов, как С (в 8,2 раз) и β-каротин (в 3,9 раза), то есть он стал биологически более полноценным.

Употребление одной порции глазированного сырка (50 г) восполняет среднесуточную потребность организма человека в пищевых волокнах на 15,3%, фосфоре – на 11,35%, железе – на 10,45%, кальции – на 8,8%, магнии – на 7,4%, а меди – на 102%, что делает данный продукт функциональным при профилактике различных заболеваний. При этом следует от-