

Для цитирования: Оробец, В.А. Токсикологическая характеристика нового инсектоакарицидного лекарственного препарата для собак и кошек Forsecto® / В.А. Оробец, О.И. Севостьянова, Е.С. Кастарнова, С.В. Мукасеев, О.А. Зейналов // Российский ветеринарный журнал. — 2024. — № 3. — С. 32–43. DOI: 10.32416/2500-4379-2024-4-32-43
 For citation: Orobets V.A., Sevostyanova O.I., Kastarnova E.S., Mukaseev S.V., Zeynalov O.A., Toxicological characteristics of the new insectoacaricidal drug for dogs and cats Forsecto®, Russian veterinary journal (Rossijskij veterinarnyj zhurnal), 2024, No. 3, pp. 32–43. DOI: 10.32416/2500-4379-2024-4-32-43

УДК 619: 615.285
 DOI 10.32416/2500-4379-2024-4-32-43
 RAR

Токсикологическая характеристика нового инсектоакарицидного лекарственного препарата для собак и кошек Forsecto®

В.А. Оробец¹, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и фармакологии (orobets@yandex.ru);
О.И. Севостьянова¹, кандидат биологических наук, доцент кафедры терапии и фармакологии (sevostyanova19@mail.ru);
Е.С. Кастарнова¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры терапии и фармакологии;
С.В. Мукасеев², кандидат ветеринарных наук, ведущий ветеринарный врач (vet@astrafarm.com);
О.А. Зейналов², кандидат биологических наук, главный специалист по науке.

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный аграрный университет (355017, РФ, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 12).

² ООО «НВП «Астрафарм» (117246, г. Москва, Научный проезд, дом 20, стр. 3, этаж 3, пом. I, ком. 35).

В данной статье изложены результаты токсикологической оценки нового лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® на основе этофенпрокса и тебуфенпирада, который предназначен для борьбы с иксодовыми клещами, блохами, вшами и комарами у собак и кошек. LD₅₀ Forsecto® при внутрижелудочном введении крысам составила 640 мг/кг, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести его к III классу опасности «Вещества умеренно опасные». Многократное кожное применение препарата в повышенных дозах не вызывает значимых изменений в клиническом состоянии белых крыс, не установлено его негативного влияния на основные физиологические функции биологической тест-системы, не зарегистрировано патоморфологических изменений. Оценка способности препарата при его введении в организм вызывать состояние гиперчувствительности не выявила у него аллергизирующего действия. Таким образом, лекарственный препарат Forsecto® не обладает выраженными токсическими и аллергизирующими свойствами, и хорошо переносится лабораторными животными.

Ключевые слова: Forsecto®, LD₅₀, острая токсичность, подострая кожная токсичность, аллергизирующие свойства, крысы, кролики, кровь, гематология, биохимия.

Toxicological characteristics of the new insectoacaricidal drug for dogs and cats Forsecto®

V.A. Orobets¹, Grand PhD of Veterinary Sciences, professor, Head of Therapy and Pharmacology Department (orobets@yandex.ru);
O.I. Sevostyanova¹, Ph.D. in Biology Science, Senior Lecturer of Therapy and Pharmacology Department (sevostyanova19@mail.ru);
E.S. Kastarnova¹, PhD in Biology Science, Research Associate of Therapy and Pharmacology Department
S.V. Mukaseev², PhD in Veterinary Science, Leading veterinarian (vet@astrafarm.com);
O.A. Zeynalov², PhD in Biology Science, chief science specialist.

¹ Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Stavropol State Agrarian University» (12, Zootechnical side-street, Stavropol, RF, 355017).

² LLC «RDE «Astrapharm» (r 35, premises 1, floor 3, building 3, Nauchny proezd, Moscow, RF, 117246).

This article presents the results of toxicological evaluation of the new veterinary drug Forsecto® based on AFI etofenprox and tebufenpyrad, which is intended to combat ixodid ticks, fleas, lice and mosquitoes in dogs and cats. LD₅₀ of Forsecto® when administered oral to rats was 640 mg/kg, which, according to hazard class III by GOST 12.1.007-76. Repeated cutaneous application of the drug in high doses does not cause significant changes in the clinical condition of white rats, its negative effect on the main physiological functions of the biological test system was not established, and pathomorphological changes were not registered. Evaluation of the ability of the drug to cause a state of hypersensitivity when administered to the body did not reveal any allergenic effect. Thus, the Forsecto® does not have pronounced toxic and allergenic properties, and is well tolerated by laboratory animals.

Keywords: Forsecto®, LD₅₀, acute toxicity, subacute cutaneous toxicity, allergenic properties, rats, rabbits, blood, hematology, biochemistry.

Сокращения: АЛАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаратаминотрансфераза, АТФ — аденозинтрифосфат, ДВ — действующее/ие вещество/а, ЖКТ — желудочно-кишечный тракт, НРДТК — непрямая реакция дегрануляции туч-

ных клеток, ЦНС — центральная нервная система, ЩФ — щелочная фосфатаза, LD₅₀ — lethal dose (полудетальная доза), МЕТИ — mitochondrial electron transport inhibitor (ингибитор митохондриального транспорта электронов).

Введение

В современных условиях собаки и кошки стали членами семьи жителей мегаполисов, компаньонами человека в быту и во всех сферах его деятельности, поэтому состояние их здоровья является постоянной заботой владельцев. Особо следует отметить актуальность заболеваний домашних плотоядных, вызываемых эктопаразитами, из которых наиболее распространенные — блохи и иксодовые клещи [5...7], являющиеся векторами возбудителей инвазионных и инфекционных болезней, в том числе зоонозов [1, 2].

Многие исследователи констатируют рост заболеваемости собак и кошек арахноэнтомозами [12...15], объясняя это среди прочего увеличением численности безнадзорных животных в крупных городах и на урбанизированных территориях. Нельзя игнорировать и возможность формирования резистентности у иксодовых клещей и блох к ДВ широко применяемых инсектоакарицидных средств.

Для борьбы с эктопаразитами мелких домашних животных разработаны различные препаративные формы инсектоакарицидных средств, различающиеся по эффективности [3, 12, 13]. Широко применяемые препараты на основе фипронила не всегда обеспечивают достаточный уровень и длительность защиты животных от иксодовых клещей и блох. В этой связи актуальным остается поиск активных веществ с новым механизмом действия.

Для защиты собак и кошек от эктопаразитов на базе ООО «БиоФерон» (Россия) разработан комбинированный инсектоакарицидный лекарственный препарат для наружного применения Forsecto®, который в качестве активных компонентов содержит этофенпрокс и тебуфенпирад.

При разработке состава препарата во главу угла была поставлена триада — «эффективность, безопасность, удобство применения». Понимание нецелесообразности дальнейшего увеличения дозы фипронила в топикальных инсектоакарицидных препаратах по соображениям безопасности послужило причиной поиска новых ДВ, которые позволили бы многократно усилить воздействие на эктопаразитов при соответствии общепринятым стандартам безопасности для животных-компаньонов. Это обеспечит высокую эффективность и исключит у эктопаразитов резистентность к такому средству.

Успешное решение задачи поиска и выбора новых активных веществ стало возможно благодаря положительным результатам, полученным междисциплинарной командой разработчиков-исследователей на основании результатов многолетних экспериментов по оценке эффективности и безопасности разных вариантов составов комбинированного инсектоакарицидного препарата, итогом которых послужили разработка и вывод на рынок нового препарата для лечения и профилактики эктопаразитозов собак и кошек Forsecto®. Это оригинальный, защищенный патентом ветеринарный лекарственный препарат, содержащий синтетический пиретроид этофен-

прокс и уникальное ДВ тебуфенпирад [8]. Новый препарат имеет ряд преимуществ в сравнении с другими инсектоакарицидами, представленными на рынке: уникальный состав обуславливает отсутствие резистентности у эктопаразитов, а наличие нокдаун-эффекта обеспечивает быстрое начало действия и повышает эффективность препарата для предотвращения передачи животному возбудителей векторных инвазий и инфекций.

Тебуфенпирад — новое для ветеринарии ДВ, инсектоакарицид из группы пиразолкарбоксамидов [16] характеризуется:

- уникальным механизмом действия, основанным на ингибировании митохондриальной цепи переноса электронов путем связывания с комплексом I на коферменте Q;
- широким спектром действия в отношении таких эктопаразитов мелких домашних животных, как иксодовые клещи, блохи, вши и власоеды;
- выраженной активностью на любой стадии развития клещей и блох, включая личиночную, эффектом нокдауна и длительным остаточным действием [8];
- умеренной токсичностью, относится к 3 классу опасности: LD₅₀ более 2000 мг/кг (крысы, накожно) [17].

Наличие у тебуфенпирада ово-ларвицидного действия позволяет снизить лекарственную нагрузку на организм целевых животных за счет отсутствия ДВ-регулятора роста и развития членистоногих.

Тебуфенпирад является инсектоакарицидом, обладающим МЕТТ-эффектом, т. е. он ингибирует митохондриальный электрон-транспортный комплекс I, препятствуя использованию энергии клетками эктопаразитов. Нарушение активности митохондрий, инициированное тебуфенпирадом, приводит к дефициту АТФ, повышению генерации активных форм кислорода (свободных радикалов) и апоптозу клеток эктопаразитов. Основным триггером, запускающим эти процессы, служит нехватка кислорода и субстратов окисления. Клеточная гипоксия вызывает ряд тяжелых биохимических и метаболических нарушений, опосредующих собой функциональной активности митохондрий.

Метаболизм клеток переключается с митохондриального окислительного фосфорилирования на анаэробный гликолиз, что приводит к внутриклеточному накоплению лактата и протонов, снижая рН с дальнейшей активацией АТФ-азы, что приводит к быстрому истощению АТФ, перегрузке клетки ионами натрия и кальция. Высокое внутриклеточное содержание кальция в ишемизированной клетке нарушает буферную емкость митохондрий, в связи с чем активируется поступление ионов кальция в митохондриальный матрикс. Это вызывает дисфункцию дыхательной цепи, способствуя гиперпродукции активных форм кислорода и активации механизма гибели клетки (некроз, апоптоз). Также в результате поступления ионов кальция митохондрии «набухают» и разрушаются, высвобождая

в цитоплазму соединения, усиливающие степень клеточного повреждения.

Такой механизм действия резко снижает вероятность перекрестной резистентности с другими распространенными пестицидами [18].

Этофенпрокс — синтетический пиретроид III поколения, блокирует проведение нервного импульса в нейронах паразитических членистоногих за счет изменения проницаемости мембран для ионов натрия, что приводит к быстрому парализующему эффекту [18, 19]. ДВ обладает инсектоакарицидной и репеллентной активностью, оказывает нокдаун-эффект, при котором быстро наступает нарушение двигательной функции эктопаразитов с развитием обратимого или летального паралича. Иксодовый клещ или блоха в таком состоянии не могут прикрепиться к животному или удержаться на нем, что позволяет предотвратить передачу трансмиссивных заболеваний.

Таким образом, препарат воздействует комплексно, используя два принципиально разных механизма действия. Этофенпрокс влияет на нервную систему эктопаразитов, нарушая функцию нейронов путем модуляции натриевых каналов. Тебуфенпирад останавливает клеточное дыхание у паразитических членистоногих. В результате воздействие препарата на иксодовых клещей и паразитических насекомых многократно усиливается. Это обеспечивает максимальную эффективность и длительность защитного действия Forsecto® и исключает резистентность к нему у эктопаразитов.

До настоящего времени в ветеринарной практике комбинация этофенпрокса и тебуфенпирада, как в нашей стране, так и за рубежом, не применялась. Поэтому вопросы, связанные с оценкой безопасности и эффективности этого уникального продукта у разных категорий целевых животных, получили свое раскрытие в процессе разработки лекарственного препарата Forsecto® и будут детально рассмотрены в этой и последующих публикациях.

Цель исследования

Поскольку обязательным этапом разработки нового препарата, внедряемого в клиническую ветеринарную практику, является оценка его токсикологических свойств, целью настоящей работы было определение параметров острой пероральной, подострой кожной токсичности, местно-раздражающего, а также алергизирующего действия лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® с использованием стандартных экспериментальных моделей.

Материалы и методы

Токсикологические параметры лекарственного препарата Forsecto® оценивали на лабораторных животных (78 нелинейных крысы, 60 морских свинок

и 6 кроликов) в условиях вивария ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» в соответствии с приказом [9], руководствами [10, 11] и ГОСТ [4].

В экспериментах использовали модификацию препарата для собак, в 1 мл которой содержится 300 мг этофенпрокса, 150 мг тебуфенпирада и вспомогательные компоненты.

Изучение острой пероральной токсичности. После 14-дневного карантина и клинического осмотра (с целью исключить использование в опыте больных животных) были сформированы 7 опытные и 1 контрольная группа белых крыс по 6 особей в каждой группе. Перед началом опыта всех животных содержали на 6-ти часовой голодной диете.

Исследуемый препарат животным опытных групп вводили в желудок без разведения с помощью металлического атравматического зонда в дозах 460,0; 520,0; 580,0; 640,0; 700,0; 760,0 и 820,0 мг/кг.

Животным контрольной группы аналогичным способом вводили физиологический раствор в объеме, равном максимальной дозе образца в опытной группе.

После введения исследуемого лекарственного препарата за животными вели наблюдение в течение 4-х ч, затем с интервалом 1 ч в течение первых 12 ч. Период мониторинга за опытными и контрольными группами составлял 14 суток. Крыс осматривали ежедневно утром и вечером, чтобы оценить внешний вид и поведение, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, прием корма, подвижность, проявление симптомов интоксикации, ее тяжесть, обратимость, сроки возможной гибели.

Для расчета SLD_{50} и других параметров острой токсичности лекарственного препарата Forsecto® использовали метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону. Классификацию по степени воздействия на организм проводили в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76.

Изучение подострой кожной токсичности. Были сформированы 2 опытные и 1 контрольная группа белых крыс по 10 особей в каждой. Препарат наносили кожно на предварительно выстриженный участок кожи в области спины, ежедневно в течение 5-ти суток в дозах 1/5; 1/10 от LD_{50} , установленной в остром опыте. Эти дозы в 2 и более раз превышают терапевтические дозы ДВ для собак. В течение всего периода исследования наблюдали за общим состоянием и поведением животных, реакцией на раздражители (звук, свет), проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью. На 1-е, 3-и и 6-е сутки опыта у крыс регистрировали массу тела. На следующие сутки после последнего нанесения (6-е сутки) препарата половину животных из каждой группы подвергали эвтаназии и брали пробы крови для определения гематологических показателей (общеклинический и биохимический анализы крови). Через 10 суток после последнего нанесения вторую половину животных из каждой

группы эвтаназировали и брали пробы крови для оценки обратимости возможных токсических эффектов после многократного применения препарата.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики по Стьюденту-Фишеру с использованием t-критерия.

Изучение местно-раздражающего действия на конъюнктиву. Для опыта была сформирована группа из 6 кроликов. Исследуемый препарат в количестве 1 капли вносили в конъюнктивальный мешок правого глаза кролика однократно. Левый глаз служил контролем, в него вносили стерильный физиологический раствор в количестве 1 капли.

Реакцию учитывали через 15 мин, 1 ч, 24 ч, 48 ч и 72 ч и оценивали по шкале (в баллах):

0 — отсутствие видимой реакции;

1 — легкое покраснение слезного протока;

2 — покраснение слезного протока и склеры в направлении роговицы;

3 — покраснение всей конъюнктивы и склеры, зуд.

Изучение алергизирующих свойств. Для каждого вида исследования были сформированы 3 опытные и 3 контрольные группы морских свинок по 10 особей в каждой. Подопытных животных сенсibilизировали путем 20 повторных накожных аппликаций исследуемого препарата на выстриженный участок боковой поверхности туловища размером 2×2 см, 5 раз в неделю, в дозе 3 капли на животное. Тестировали животных через 10 суток после сенсibilизации: использовали конъюнктивальную, эпикутанную, назальную пробы, а также тест НРДТК.

Конъюнктивальная проба. 1 каплю препарата вводили под верхнее веко правого глаза, во второй глаз вводили стерильный физраствор. Реакцию учитывали через 15 мин, 24 ч, 48 ч и оценивали в баллах.

0 — отсутствие видимой реакции;

1 — легкое покраснение слезного протока;

2 — покраснение слезного протока и склеры в направлении роговицы;

3 — покраснение всей конъюнктивы и склеры, зуд, развитие гнойного офтальмита.

Эпикутанная проба. Наносили 3 капли препарата на выстриженный участок кожи размером 2×2 см. Реакцию учитывали сразу после нанесения препарата, а также через 15, 30 мин, 24 и 48 ч.

Назальная проба. 1 каплю препарата вводили в носовые ходы сенсibilизированным и контрольным животным. Оценивали состояние слизистой оболочки: набухание, покраснение, усиление слизиотделения.

Для постановки *непрямой реакции дегрануляции тучных клеток* (НРДТК) на предварительно окрашенные 0,3%-м спиртовым раствором нейтрального красного предметные стекла наносили по 0,03 мл исследуемой сыворотки крови сенсibilизированных крыс, тучных клеток и тестируемого препарата в разведении 1:100. Реакцию оценивали, как отрицательную, если процент дегранулированных тучных клеток в пробе не превышал 10.

Результаты и обсуждение

Острая пероральная токсичность. Результаты исследования острой пероральной токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® при внутрижелудочном введении крысам представлены в таблице 1.

Перед гибелью у животных наблюдали признаки интоксикации: угнетение, диарею, адинамию, судороги, одышку, снижение реакции на внешние раздражители. При вскрытии павших крыс отмечено: увеличение желудка, который был заполнен непереваженными кормовыми массами; тонкий кишечник был наполнен содержимым слизистой консистенции желто-коричневого цвета; сосуды брыжейки и серозных покровов желудка и кишечника инъецированы.

Полученные результаты исследований острой токсичности препарата позволили рассчитать значения

1. Расчет LD₅₀ лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® методом Миллера и Тейнера

1. Calculation of LD₅₀ of the Forsecto® using the Miller and Tainter method

№ группы	Дозировка, мг/кг	Число животных		Гибель, %	Пробиты
		павших	выживших		
1	460,0	0	6	0	3,27
2	520,0	1	5	16,7	4,03
3	580,0	2	4	33,3	4,47
4	640,0	3	3	50,0	5,0
5	700,0	4	2	66,7	5,43
6	760,0	5	1	83,3	5,97
7	820,0	6	0	100,0	6,73
Контроль	5 мл/гол	0	6	0	-

2. Параметры острой пероральной токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® на белых крысах, мг/кг

2. Acute oral toxicity of the Forsecto® in white rats, mg/kg

LD ₀	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₁₀₀	SLD ₅₀
460,0	517,63	640,0	762,3	820,0	5,83

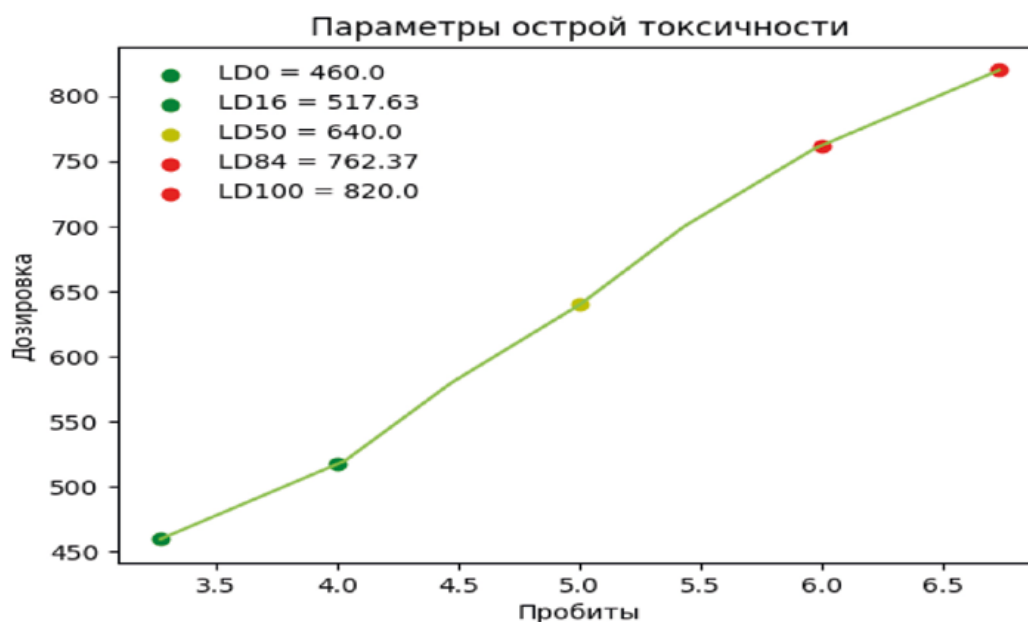


Рис. 1. Параметры острой пероральной токсичности Forsecto®
Acute oral toxicity of the Forsecto®

летальных доз при внутрижелудочном введении препарата лабораторным животным, что продемонстрировано в таблице 2. LD₁₆ и LD₈₄ рассчитывали путем построения пробитного графика, где сопоставлены дозы эффекта и соответствующие пробиты, что отображено на рисунке 1.

Показатель ошибки средней дозы эффекта SLD₅₀ рассчитали по следующей формуле: $SLD_{50} = (LD_{84} - LD_{16}) / 2n$, где LD₁₆ и LD₈₄ — дозы эффекта, мг/кг; n — суммарное число животных в группах, для которых значения пробитов находятся в пределах 3,5...6,5; SLD₅₀ при расчете острой токсичности составила 5,83 мг/кг.

Таким образом, LD₅₀ лекарственного препарата для ветеринарного применения Forsecto® составляет 640 мг/кг, что, согласно ГОСТ 12.1.007-76, позволяет отнести его к III классу опасности «Вещества умеренно опасные».

Подострая кожная токсичность. При изучении подострой кожной токсичности лекарственного препарата Forsecto® на крысах установлено, что его многократное кожное применение во всех испытанных дозах не вызывает значимых изменений в клиническом состоянии белых крыс. Поведенческие реакции, поедание корма и потребление воды, частота дыхания у всех животных опытных групп оставались в пределах нормы и не отличались от кон-

троля. За период наблюдения у крыс, находящихся в опыте, не было выявлено расстройств пищеварения и мочеотделения. Случаев летального исхода среди животных в ходе опыта не было. Животные охотно поедали корм, равномерно прибавляли в массе тела. Статистически значимых различий по данному показателю в ходе опыта не отмечено. Не выявлено зависимости от уровня дозирования препарата (табл. 3).

При оценке влияния исследуемого препарата на функциональное состояние центральной нервной системы отмечено, что во время кожного нанесения его разных доз крысы сохраняли двигательную активность, сопоставимую с активностью контрольных животных. Подопытные крысы адекватно реагировали на внешние раздражители.

Результаты анализа периферической крови крыс после многократного кожного применения лекарственного препарата Forsecto® показали, что количество эритроцитов, лейкоцитов и лейкограмма в испытываемом диапазоне доз существенно не изменялись и варьировались в пределах контрольных величин (табл. 4). Все незначительные изменения, обнаруженные в гематологической картине подопытных крыс, соответствовали референтным значениям. Следует подчеркнуть, что исследуемый препарат во всех испытанных дозах не оказывал влияния на содержание

3. Динамика прироста массы тела белых крыс после многократного кожного применения лекарственного препарата Forsecto®

Dynamics of body weight gain in white rats after repeated dermal application of the Forsecto®

Группа животных, доза препарата	Масса животного, г		
	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Контроль	197,1±4,85	198,2±4,82	201,2±5,07
1/5 LD ₅₀	195,7±3,47	196,3±4,02	199,8±4,12
1/10 LD ₅₀	198,4±5,46	200,4±5,55	204,5±5,71

Примечание: $p < 0,05$ — разница статистически значима в сравнении с показателями контрольной группы

4. Влияние лекарственного препарата Forsecto® на гематологические показатели белых крыс после многократного кожного применения

4. The effect of the Forsecto® on the hematological parameters of white rats after repeated dermal application

Показатели	Группы животных, доза, мл/гол		
	Контроль	1/5 LD ₅₀	1/10 LD ₅₀
Через сутки после последнего введения			
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,41±0,12	7,86±0,25	7,83±0,86
Средний объем эритроцита (MCV), мкм ³	53,2±0,54	54,6±0,67	54,7±0,25
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	18,1±0,56	19,3±0,35	20,2±0,75
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/дл	34,6±0,08	34,2±0,86	34,9±0,46
Гемоглобин, г/л	132,3±2,75	137,3±2,76	134,6±3,75
Гематокрит, %	41,2±0,54	43,7±0,35	42,4±0,35
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	651,5±20,1	653,4±12,6	663,6±16,5
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,75±0,78	7,76±0,73	7,92±0,65
Лейкограмма, %:			
Нейтрофилы:			
юные	0	0	0
палочкоядерные	0,34±0,53	0,75±0,75	0,35±0,75
сегментоядерные	17,3±0,76	13,4±0,45	12,5±0,75
Базофилы	0	0	0
Эозинофилы	2,35±0,86	2,32±0,64	2,26±0,26
Моноциты	2,44±0,45	2,26±0,56	2,24±0,04
Лимфоциты	83,5±1,65	75,3±1,87	78,2±1,37
Через 10 суток после последнего введения			
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,43±0,64	7,75±0,24	7,89±0,24
Средний объем эритроцита (MCV), мкм ³	52,6±0,56	51,2±0,76	56,6±0,24
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	15,2±0,76	19,9±0,76	18,6±0,36
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/дл	31,3±0,56	34,8±0,35	34,4±0,86
Гемоглобин, г/л	132,4±2,65	124,2±5,04	134,9±1,76
Гематокрит, %	45,3±0,48	45,8±1,74	44,1±0,75
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	662,4±43,5	646,5±23,5	664,3±21,1
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,45±0,62	7,64±0,75	7,75±0,24
Лейкограмма, %:			
Нейтрофилы:			
юные	0	0	0
палочкоядерные	0,45±0,65	0,65±0,62	0,54±0,63
сегментоядерные	12,5±1,45	13,6±1,75	13,5±1,74
Базофилы	0	0	0
Эозинофилы	3,45±0,67	2,72±0,85	2,63±0,74
Моноциты	2,64±0,74	2,36±0,36	2,26±0,66
Лимфоциты	82,6±1,69	79,1±1,99	78,7±1,25

Примечание: $p < 0,05$ — разница статистически значима в сравнении с показателями контрольной группы

5. Влияние лекарственного препарата Forsecto® на биохимические показатели крови белых крыс после многократного кожного применения

The effect of the Forsecto® on the biochemical parameters of the blood of white rats after repeated dermal application

Показатели	Группы животных, доза		
	Контроль	1/5 LD ₅₀	1/10 LD ₅₀
Через сутки после последнего введения			
Общий белок, г/л	65,2±1,65	64,2±1,65	65,2±1,75
Белковые фракции, г/л			
Альбумины	36,6±1,25	36,7±1,26	34,6±1,76
Глобулины:			
- α	8,43±0,84	8,36±0,85	8,37±0,87
- β	7,54±0,37	7,24±0,74	7,26±0,74
- γ	8,46±0,35	8,24±0,25	8,35±0,36
АсАТ, Е/л	132,5±12,4	137,2±14,6	136,6±13,6
АлАТ, Е/л	35,6±2,35	35,3±1,47	36,4±1,94
ЩФ, Е/л	86,6±2,67	82,7±2,86	87,2±3,74
Гамма ГТ, Е/л	1,56±0,35	1,86±0,38	1,38±0,53
Мочевина, мм/л	7,46±0,35	6,38±0,24	6,64±0,75
Креатинин, мкМ/л	36,3±1,35	34,5±1,24	35,3±1,26
Холестерин, мм/л	2,43±0,26	2,75±0,36	2,46±0,25
Общие липиды, г/л	1,75±0,36	1,33±0,65	1,77±0,25
Глюкоза, мм/л	4,65±0,35	4,36±0,26	4,64±0,97
Фосфор неорг., мм/л	1,97±0,24	1,97±0,23	1,96±0,89
Кальций, мм/л	2,85±0,43	2,53±0,65	2,34±0,76
Через 10 суток после последнего введения			
Общий белок, г/л	57,5±1,35	57,4±1,24	58,4±1,61
Белковые фракции, г/л			
Альбумины	36,4±1,24	37,4±2,25	36,7±1,26
Глобулины			
- α	7,42±0,65	7,36±0,75	6,99±1,24
- β	7,74±0,24	7,65±0,24	6,75±0,24
- γ	8,34±0,87	7,64±0,65	7,31±0,64
АсАТ, Е/л	137,3±13,6	133,5±9,65	131,5±12,5
АлАТ, Е/л	38,5±2,65	39,6±4,56	42,6±3,36
ЩФ, Е/л	107,4±2,54	103,4±8,77	104,5±3,96
Гамма ГТ, Е/л	1,54±0,75	1,34±0,87	1,69±0,36
Мочевина, мм/л	6,97±0,46	6,89±0,47	6,46±0,37
Креатинин, мкМ/л	37,7±1,35	36,3±1,86	37,3±2,21
Холестерин, мм/л	2,76±0,35	2,76±0,47	2,86±0,48
Общие липиды, г/л	2,34±0,56	2,45±0,35	2,65±0,56
Глюкоза, мм/л	4,35±0,36	4,74±0,64	4,46±0,85
Фосфор неорг., мм/л	2,05±0,86	2,03±0,35	2,04±0,75
Кальций, мм/л	2,75±0,35	2,35±0,76	2,86±0,36

Примечание: $p < 0,05$ — разница статистически значима в сравнении с показателями контрольной группы

6. Влияние лекарственного препарата Forsecto® на массу внутренних органов белых крыс после многократного кожного применения

Effect of the Forsecto® on the weight of internal organs of white rats after repeated dermal application

Орган	Группы животных, доза		
	Контроль	1/5 LD ₅₀	1/10 LD ₅₀
Через 1 сутки после последнего введения			
Печень	26,4±0,25	26,4±0,27	23,6±0,25
Почки	5,56±0,53	6,72±0,54	5,24±0,24
Легкие	3,24±0,24	3,24±0,55	3,24±0,24
Селезенка	2,25±0,45	2,24±0,58	2,65±0,38
Сердце	2,84±0,27	2,27±0,85	2,47±0,26
Через 10 суток после последнего введения			
Печень	29,4±0,27	28,5±0,56	29,3±0,74
Почки	6,44±0,49	6,02±0,51	5,75±0,36
Легкие	3,73±0,25	3,75±0,26	3,73±0,98
Селезенка	2,74±0,37	2,73±0,64	2,63±0,75
Сердце	3,76±0,25	2,75±0,83	2,94±0,73

Примечание: $p < 0,05$ — разница статистически значима в сравнении с показателями контрольной группы

эозинофилов, что может служить косвенным доказательством отсутствия алергизирующего действия.

Как видно из данных биохимических показателей крови, у крыс опытных групп не отмечено статистически значимых изменений при сопоставлении с аналогичными показателями у контрольных животных (табл. 5). Не выявлено патологических сдвигов в значениях показателей, характеризующих белоксинтезирующую функцию печени — концентрации общего белка и альбумина. Уровень ферментемии, обеих аминотрансфераз претерпевал незначительные колебания в диапазоне, принимаемом за условную норму для данного вида животных, что подтверждает отсутствие активации процессов цитолиза. Таким образом, можно прийти к выводу, что лекарственный препарат Forsecto® в испытуемом диапазоне доз не оказывает отрицательного воздействия на функциональное состояние печени.

Содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови у подопытных крыс после длительного нанесения разных доз исследуемого препарата не изменялось по сравнению с контрольными величинами.

По результатам макроскопического исследования органов подопытных крыс, проведенного после патологоанатомического вскрытия животных на 6-й и 15-й день от начала эксперимента, сколько-нибудь значимых изменений в их состоянии не выявлено.

Результаты морфометрического анализа свидетельствуют об отсутствии статистически значимых различий в относительной массе внутренних органов у крыс после многократного применения лекарственного препарата Forsecto® в изученных дозах по сравнению с аналогичными показателями у контрольных животных (табл. 6).

Таким образом, многократное кожное применение Forsecto® во всех испытанных дозах не вызывает значимых изменений в клиническом

состоянии белых крыс. Все изменения, обнаруженные в общеклинической и биохимической картине крови подопытных животных, соответствовали физиологической норме. Не установлено негативно-воздействия исследуемого препарата на основные физиологические функции организма, отсутствуют патоморфологические изменения, что подтверждает его хорошую переносимость.

Местно-раздражающее действие на конъюнктиву.

При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век подопытных животных установлено, что лекарственный препарат Forsecto® через 15 мин после нанесения вызывал раздражение слезного протока, выраженное в его гиперемии, а через 1 ч — покраснение слезного протока и склеры в направлении роговицы. При изучении влияния препарата на конъюнктиву кролика через 24 ч регистрировали покраснение всей конъюнктивы и склеры, зуд, отек в области глазного яблока, обильное слезотечение, данная картина сохранялась на протяжении всего исследования (табл. 7, рис. 1). Других нежелательных реакций не зарегистрировано.

7. Результаты учета влияния лекарственного препарата Forsecto® на конъюнктиву кролика через 15 мин, 1, 24, 48 и 72 ч, баллов

Results of the effect of the Forsecto® on the rabbit conjunctiva after 15 minutes, 1, 24, 48 and 72 hours, points

Время учета реакции	Реакция, баллы
15 мин	1
1 ч	2
24 ч	3
48 ч	3
72 ч	3

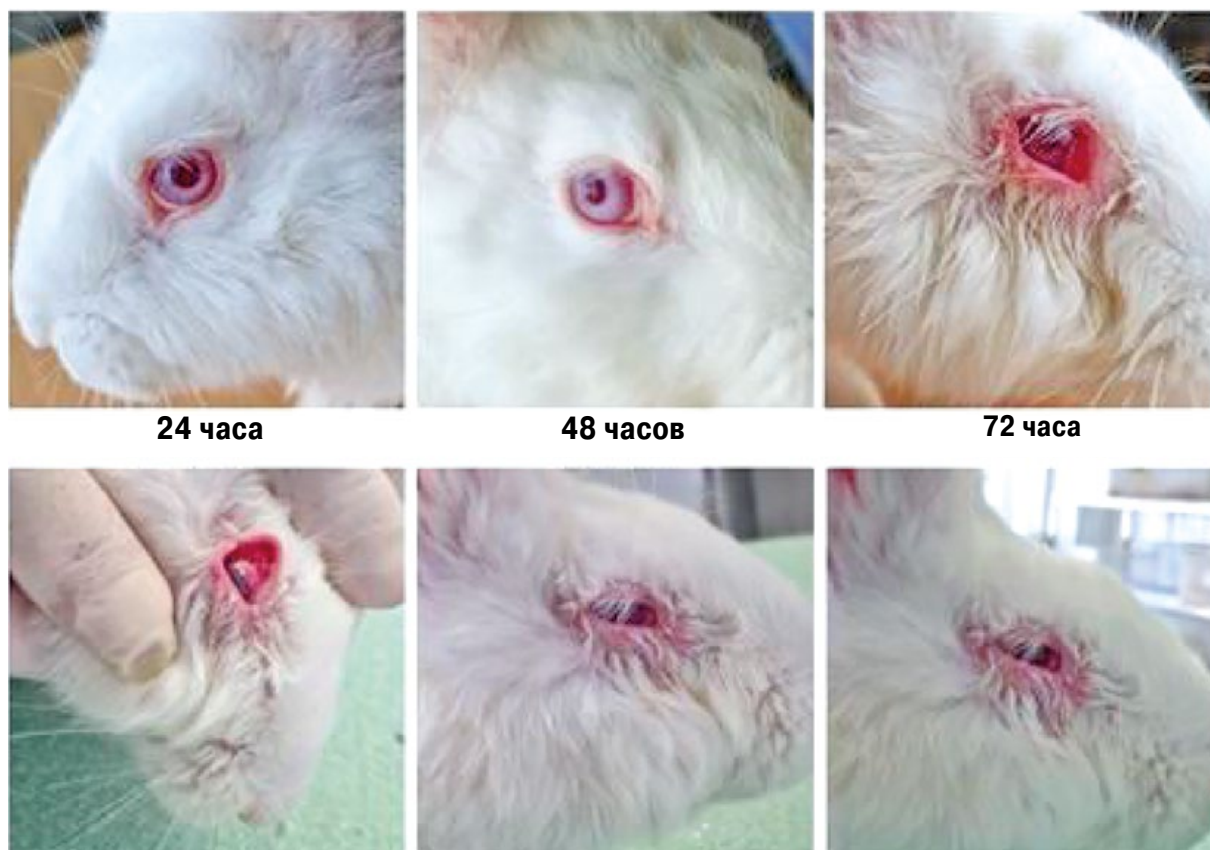


Рис. 1. Глаз кролика после инстилляцией лекарственного препарата Forsecto®
Rabbit eye after instillation of the Forsecto®

8. Конъюнктивальная проба морских свинок после инстилляцией лекарственного препарата Forsecto®
Table 8. Conjunctival test of guinea pigs after instillation of the Forsecto®

Группа	Реакция конъюнктивы, баллы		
	15 мин	24 ч	48 ч
Forsecto®	0	0	0
Контроль	0	0	0

9. Эпикутанная проба. Показатели аллергизирующего действия лекарственного препарата Forsecto® на морских свинках
Epicutaneous test. Indicators of the allergenic effect of the Forsecto® on guinea pigs

Группа	Наблюдаемые симптомы		
	гиперемия	отек кожи	десквамация
Forsecto®	0	0	0
Контроль	0	0	0

Таким образом, лекарственный препарат для ветеринарного применения Forsecto® обладает местно-раздражающим действием на конъюнктиву.

Аллергизирующие свойства. Использовали конъюнктивальную, эпикутанную, назальную пробы, а также тест НРДТК.

Конъюнктивальная проба. При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз морских свинок установлено, что исследуемый препарат не вызывает изменений конъюнктивы, как

сразу после инстилляцией, так и на протяжении всего опыта (табл. 8, рис. 2).

Таким образом, по результатам конъюнктивальной пробы исследуемый препарат не обладает аллергизирующим действием. Отсутствие местно-раздражающего действия препарата на конъюнктиву морских свинок, в отличие от кроликов, объясняется известной для последних высокой видовой чувствительностью к тем или иным ДВ, входящим в состав топикальных форм инсектоакарицидов.

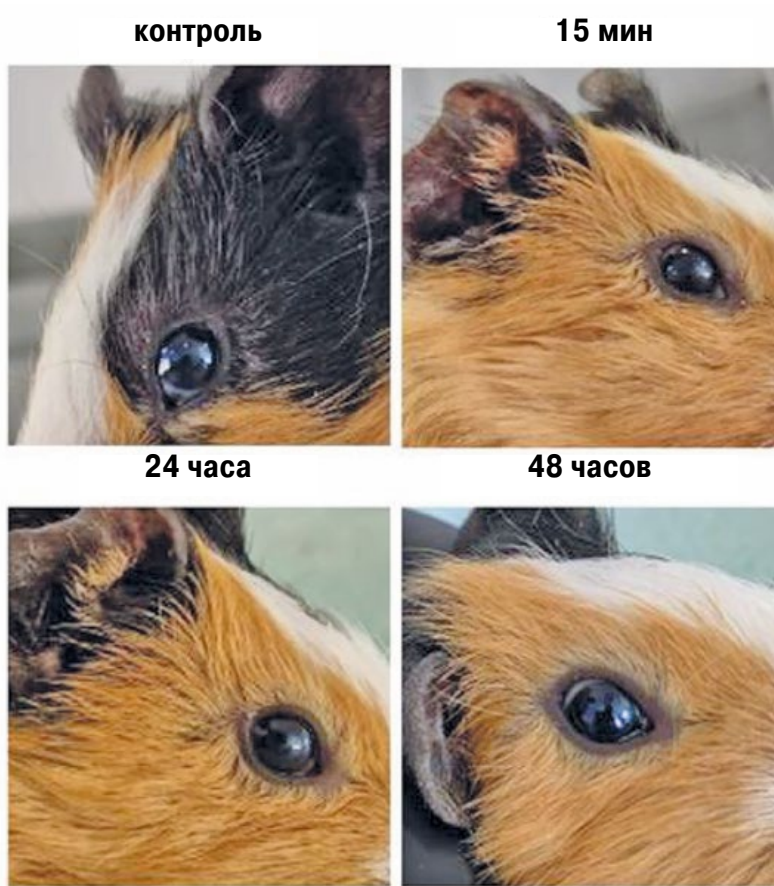


Рис. 2. Конъюнктивальная проба. Глаз морской свинки через 15 мин, 24 и 48 ч после инстиляции лекарственного препарата Forsecto®

Conjunctival test. Guinea pigs eye after instillation of the Forsecto® in 15 minutes, 24 and 48 hours

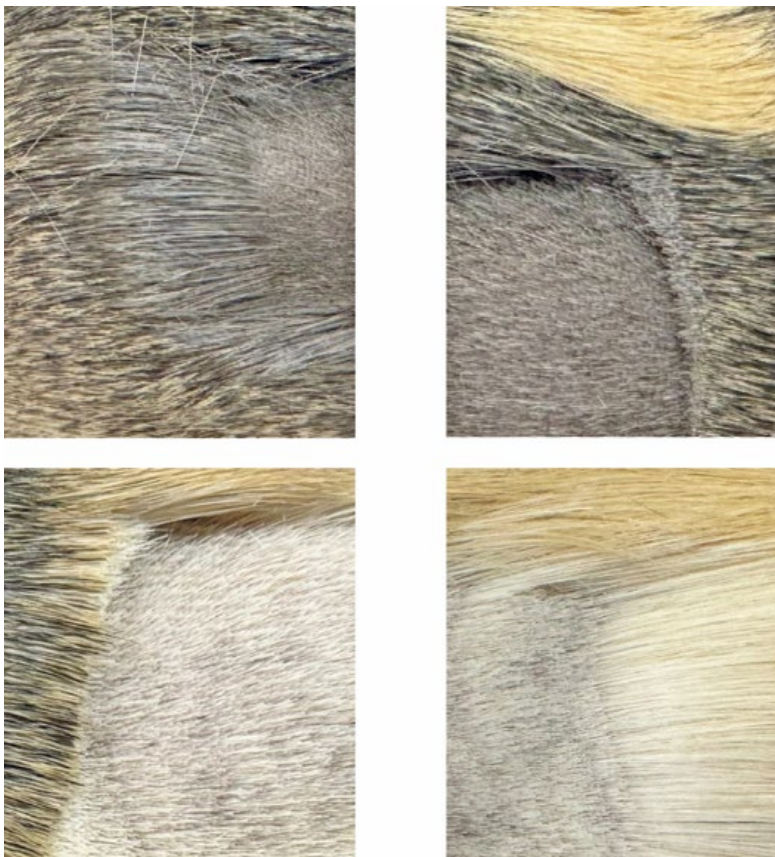


Рис. 3. Эпикутанная проба. Показатели аллергизирующего действия лекарственного препарата Forsecto® на морских свинках

Epicutaneous test. Indicators of the allergic effect of the Forsecto® on guinea pigs

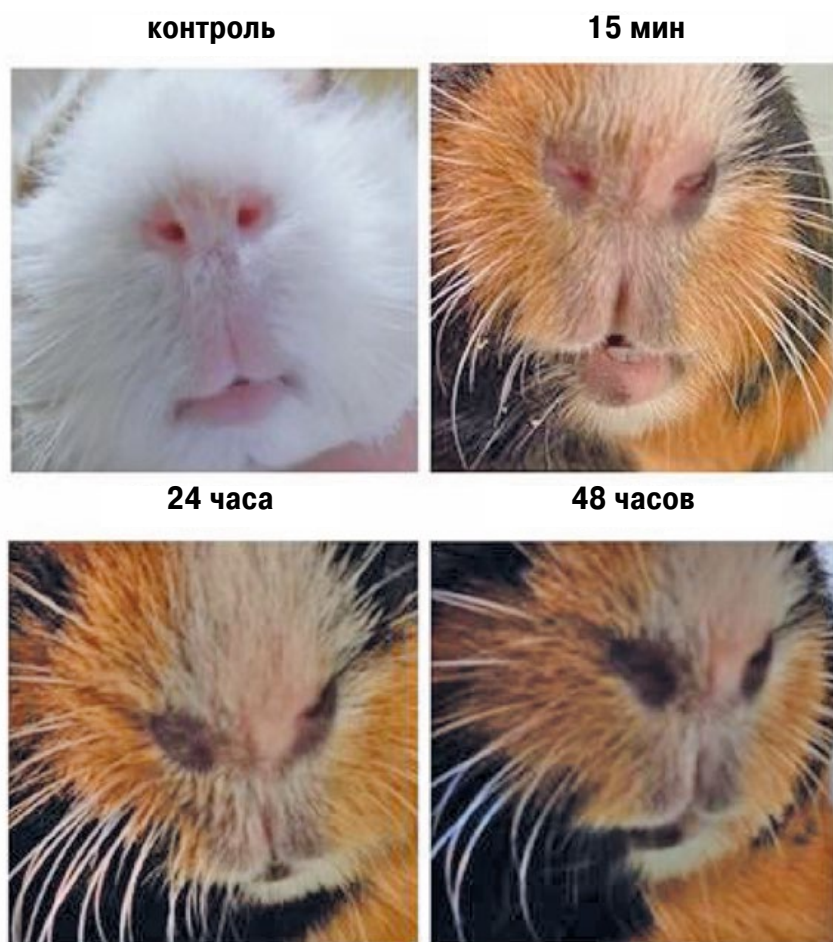


Рис. 4. Внешний вид (результат) воздействия лекарственного препарата Forsecto® при постановке назальной пробы морской свинке

Appearance (result) of the effect of the Forsecto® when performing a nasal test on a guinea pig

**10. Результаты реакции непрямо́й дегрануляции тучных клеток крыс, %
Results of the indirect degranulation reaction of rat mast cells, %**

Сутки	Группа	
	опыт	контроль
10-е	5,64±0,75	6,07±0,49
15-е	5,25±0,90	6,53±0,88
30-е	7,63±1,04	6,77±1,31

Примечание. $p < 0,05$ — разница статистически значима в сравнении с показателями контрольной группы.

Эпикутанная проба. В результате опыта по изучению аллергенного действия лекарственного препарата Forsecto® у животных не выявлено признаков эритемы, отека и других патологических изменений кожного покрова, температура тела в месте нанесения препарата не изменялась. Участки кожи после стрижки одинаково быстро заросли молодой шерстью, не отличающейся по густоте от остальной, как у опытной, так и контрольной группы животных. Не выявлено изменений поведения и аппетита животных. Толщина кожной складки на выстриженных участках у животных опытных групп не отличалась от таковой у контрольных животных. В течение эксперимента состояние кожи не изменялось (отсутствие реакции), при-

знаков гиперемии и других изменений состояния кожных покровов визуально не отмечалось (табл. 9, рис. 3).

Назальная проба. В результате постановки назальной пробы у животных не выявлено признаков набухания, покраснения слизистой оболочки, усиления слизеотделения и других патологических изменений (рис. 4).

Реакция непрямо́й дегрануляции тучных клеток. В связи с тем, что процент дегранулированных тучных клеток в опытных группах $< 10\%$, НРДТК является отрицательной (табл. 10). Исследование сывороток крови опытных морских свинок, после их сенсибилизации, показало отсутствие алергизации организма подопытных животных.

Таким образом, лекарственный препарат Forsecto® не вызывает сенсibilизацию и повреждающего действия на конъюнктиву и слизистые оболочки морских свинок, как сразу после инстилляций, так и на протяжении всего опыта, не проявляет аллергенного действия на кожные покровы при многократном применении и не вызывает дегрануляции тучных клеток, выходящей за пределы нормы.

Заключение

Специалистами ООО «БиоФерон» (Россия) разработан новый оригинальный топикальный инсектоакарицид для ветеринарного применения Forsecto®, в качестве ДВ содержащий этофенпрокс — синтетический пиретроид III поколения и тебуфенпирад — ингибитор митохондриального окислительного фосфорилирования у членистоногих. Препарат применяют собакам и кошкам для борьбы с иксодовыми клещами, блохами, вшами, власоедами и комарами. Он также предотвращает нападение эктопаразитов на животных.

LD₅₀ Forsecto® при внутрижелудочном введении крысам составляет 640 мг/кг, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести его к III классу опасности «Вещества умеренно опасные».

Многократное накожное применение лекарственного препарата Forsecto® во всех испытанных дозах не вызывает значимых изменений в клиническом состоянии белых крыс. Не установлено негативного воздействия препарата в повышенных дозах на основные физиологические функции биологических тест-систем, а также не зарегистрировано патоморфологических изменений, что подтверждает хорошую переносимость препарата лабораторными животными.

Forsecto® не вызывает сенсibilизации и повреждающего действия на конъюнктиву глаза и слизистые оболочки морских свинок, как сразу после инстилляций, так и на протяжении всего опыта, не проявляет алергизирующего действия на кожные покровы при многократном применении и не вызывает дегрануляции тучных клеток крыс, выходящей за пределы нормы. Выявлено местно-раздражающее действие препарата на конъюнктиву кроликов. Исследуемый препарат в дозах, превышающих терапевтические для целевых видов животных, не оказывал влияния на содержание эозинофилов у крыс, что может служить дополнительным доказательством отсутствия у него аллергенных свойств.

От других топикальных инсектоакарицидов, представленных на рынке, Forsecto® отличается уникальным составом, который за счет сочетания разнонаправленных механизмов действия ДВ многократно усиливает его воздействие на паразитических клещей и насекомых, а учитывая, что тебуфенпирад является МЕТI-ингибитором, обеспечивает максимальную эффективность защитного действия препарата и исключает резистентность к нему у эктопаразитов.

Конфликт интересов

Разработчиком препарата и спонсором исследования является ООО «БиоФерон» (Россия).

Библиография

1. Балашов, Ю. С. Иксодовые клещи паразиты и переносчики инфекций / Ю. С. Балашов. — С.-Пб: Наука, 1998. 287 с.
2. Балашов, Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodoidea) — переносчики болезней человека и животных / Ю. С. Балашов. — Л: Наука, 1967. — 320 с.
3. Глазунова, Л. А., Сравнительная эффективность препаратов при блошиной инвазии собак и кошек / Л. А. Глазунова, Ю. А. Ткачёва // Ветеринарный врач. — 2017. — № 5. — С. 44-48.
4. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности — введ. 01.01.77. — М., 1976.
5. Закусимова, К. С. Распространение и методы борьбы с эктопаразитами плотоядных животных / К. С. Закусимова, А. В. Семенко // Научный вестник. Серия: Ветеринарная медицина, качество и сохранность продукции животноводства. — 2018. — № 293. — С. 167-174.
6. Зубарева, И. М. Эпизоотологическая характеристика эктопаразитозов плотоядных животных мегаполиса (на примере Новосибирска) / И. М. Зубарева, Н. В. Юдина, Е. А. Ефремова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. — 2023. — № 24. — С. 184-188.
7. Кербабав, Э. Б. Основы ветеринарной акарологии. Методы и средства борьбы с клещами / Э. Б. Кербабав // Труды Всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. — 1998. — Том 34. — 220 с.
8. Патент RU 2804368C1. Комбинированное инсектоакарицидное средство для защиты мелких домашних животных от эктопаразитов. Владелец патента: Общество с ограниченной ответственностью «БиоФерон». Авторы: Орхан Ахмед оглы Зейналов, Любовь Михайловна Кокорина. Начало действия: 2023.09.28. Публикация: 2023.09.28. Подача: 2023.03.02
9. Приказ Министерства сельского хозяйства РФ №101 от 06.03.2018 г. «Об утверждении Правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения». Зарегистрирован в Минюсте России 05.06.2018 № 51296.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.
12. Ткачева, Ю. А. Мониторинг эктопаразитозов собак и кошек на юге Тюменской области и совершенствование противопаразитарных мероприятий / Ю. А. Ткачева: дисс. ... канд. вет. наук: 03.02.11. [Место защиты: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»], 2020.
13. Храпай, В. А. Паразитофауна домашних и диких плотоядных животных Юга России и меры борьбы с основными паразитозами / В. А. Храпай: дисс. ... канд. вет. наук. — Москва, 2013. — 144 с.
14. Шадыева, Л. А. Эпизоотологические особенности теноцефалидозов кошек в г. Ульяновске / Л. А. Шадыева, Е. М. Романова, С. Г. Кармаева // Вестник Ульяновской ГСХА. — 2020. — №1 (49). — С. 96-102.
15. Шустрова, М. В. Распространение акарозов у собак в г. Волжский / М. В. Шустрова, Л. В. Бычкова, О. Н. Нечаева // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. — 2003. — № 2. — С. 105-112.
16. Background document to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Tebufenpyrad. Annex 1 [Электронный ресурс]. — URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/544e7470-8ae2-dc93-554a-7c74daea5dc3> (дата обращения 14.10.2024).
17. EFSA Scientific Report 192, 1-99 Conclusion on the peer review of tebufenpyrad, 2008 [Электронный ресурс]. — URL: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2009.192r> (дата обращения 14.10.2024).
18. IRAC Mode of Action Classification. Insecticide Resistance Action Committee [Электронный ресурс]. — URL: <https://irac-online.org/mode-of-action/classification-online/> (дата обращения 14.10.2024)
19. Khambay, B. P. S. Pyrethroids / B. P. S. Khambay, P. J. Jewess // Comprehensive Molecular Insect Science, 2005. — pp. 1-29. doi:10.1016/b0-44-451924-6/00075-2.