

Утверждаю
Проректор по научной и инновационной
работе

И.Л. Воротников

«27» января 2015 года



**ОТЧЕТ
О РЕЗУЛЬТАТАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ
СРЕДСТВА «КЛИОДЕЗИВ»**

(изготовитель продукции ООО «ФармПромВет»)
в рамках договора № 10/11-14 от 10 ноября 2014 г.

Руководитель темы:
заведующий кафедрой "Морфология,
патология животных и биология"
ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ"
доктор ветеринарных наук, профессор

 Салаутин В.В.

Исполнитель:
доцент кафедры "Морфология,
патология животных и биология",
кандидат ветеринарных наук

 Савина С.В.

Саратов 2015

Определение острой токсичности средства «Клиодезив» (1-й этап)

Цель исследований: Определить острую токсичность средства «Клиодезив».

Задачи: 1) Провести оценку ингаляционной опасности средства «Клиодезив».

2) Определить оптимальную дозу средства.

3) Изучить общетоксическое и специфическое действие средства.

Материалы и методы:

Исследования по определению острой токсичности средства «Клиодезив»: проводились на кафедре «Морфология, патология животных и биология» и на базе вивария при ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» с 10 ноября 2014 г. по 10 января 2015 г. (ОПП №1 - 10 мг йода/м³, ОПП №2 - 20 мг йода/м³).

Средство, предназначенное для исследования, представлено в форме порошка от светло- до темно-коричневого цвета, с характерным запахом йода. Действующее вещество – йод кристаллический – 40%, вспомогательные вещества – калий азотнокислый – 40% и углеводы (сахар, крахмал или декстрин) до 100%.

Средство "Клиодезив", согласно утверждённой инструкции, может использоваться в виде фумигационного аэрозоля, а также для лечения респираторных болезней с/х животных и птицы, санации воздуха помещений в присутствии животных и дезинфекции объектов ветеринарного надзора.

Все исследования проведены в соответствии с Методическими указаниями МУ 1.2.1105-02 1.2. Общие вопросы. Гигиена, токсикология, санитария. "Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 10 февраля 2002 г.)

Для проведения испытаний взята максимально возможная доза средства «Клиодезив».

Исследования:

1) Оценку ингаляционной опасности средства «Клиодезив» проводили в насыщающих концентрациях, в герметичной емкости (в эксикаторе), в которой были созданы условия свободного испарения летучих компонентов средства при комнатной температуре в течение 2-х суток.

2) Испытания проводили на белых нелинейных половозрелых мышах (самцы, масса 20-30 г.), прошедших карантин в течение 14 дней, из расчета объема воздуха на одно животное в час – 2 литра.

3) Дозу испытывали на группе из 4 животных (эксикатор объемом 8 л). Экспозиция составила 2 часа.

4) В ходе эксперимента фиксировали наличие/отсутствие клинических признаков отравления (при наличии - время их появления), а также общее состояние (гибель) животных.

5) После окончания воздействия на животных средства «Клиодезив», проводили обследования по показателям общетоксического и специфического действия препарата.

Опасность ингаляционного отравления характеризуется степенью проявления

интоксикации. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Классификация химических веществ по степени летучести (C20)

<i>Класс опасности</i>	<i>Степень опасности и выраженность действия</i>
1 – чрезвычайно опасное вещество	Насыщающая концентрация вызывает гибель
2 – высоко опасное	Насыщающая концентрация вызывает отчетливые проявления интоксикации, гибель отсутствует
3 – умеренно опасное	Насыщающая концентрация вызывает минимальные изменения интегральных показателей при обследовании животных (пороговый уровень)
4 – малоопасное	Насыщающая концентрация не оказывает токсического действия

Основные параметры острой токсичности средства «Клиодезив» вычислены методом Литчфилда и Уилкоксона.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что средство «Клиодезив» имеет следующие параметры:

- 1) LD50 = не выявлено;
- 2) Рекомендуемая тест-доза составляет 0,08 мг средства «Клиодезив»/л воздуха.

Результаты и выводы:

Результаты исследований по определению острой токсичности средства «Клиодезив» показывают, что значение LD50 не выявлено в связи с его низкой токсичностью. Рекомендуемая тест-доза составляет 0,08 мг средства «Клиодезив»/л воздуха.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведены исследования средства «Клиодезив»: ОПП №1 и ОПП №2.

Средство «Клиодезив» в форме порошка от светло - до темно – коричневого цвета, с характерным запахом йода, согласно утверждённой инструкции по его применению, можно использовать в виде фумигационного аэрозоля, а также для лечения респираторных болезней сельскохозяйственных животных и птицы, санации воздуха помещений в присутствии животных и дезинфекции объектов ветеринарного надзора.

Действующим веществом средства «Клиодезив» является йод кристаллический – 40%, вспомогательные вещества – калий азотнокислый – 40% и углеводы (сахар, крахмал или декстрин) до 100%.

Испытания проведены на белых нелинейных половозрелых мышах (самцы, масса 20 г), прошедших карантин в течение 14 дней, для адаптации при групповом содержании в клетках. На протяжении всего экспериментального периода, ежедневно, у животных контролировали клиническое состояние, путем визуального осмотра.

Условия содержания экспериментальных мышей соответствовали действующим санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев.

В ходе эксперимента, в фиксированное время, мышам давали стандартную диету в соответствии с действующими нормами. В аналогичных условиях содержались контрольные мыши.

Перед началом эксперимента было проведено взвешивание мышей (самцы, масса 20 г).

Оценку ингаляционной опасности средства проводили, в насыщающих концентрациях, в герметичной емкости (в эксикаторе), в которой были созданы условия для свободного испарения летучих компонентов препарата при комнатной температуре.

Количество животных на 1 дозу препарата – 2 головы (эксикатор объемом 8 л.).

Концентрацию рассчитывали из расчета объема воздуха на одно животное в час – 2 л. Экспозиция составляла - 2 часа.

В ходе эксперимента осуществляли контроль за клиническим состоянием животных: наличие/отсутствие признаков отравления, время их появления, гибель мышей.

Наблюдение за животными проводили в течение 2-х суток, после проведения эксперимента, по показателям общетоксического или специфического действия.

После обработки максимально возможной дозой (0,24 мг/8 л) средства "Клиодезив", ежедневно регистрировали общее состояние мышей:

- общее состояние мышей и их поведение - стабильное, без изменений;
- интенсивность и характер двигательной активности - выраженные;
- наличие судорог - не наблюдалось;
- координация движений и тонус скелетных мышц - в норме;
- реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители - выраженные;
- частота и глубина дыхательных движений и ритм сердечных сокращений - в пределах физиологической нормы;
- состояние волосяного и кожного покрова - хорошее, без изменений;
- цвет слизистых оболочек и размер зрачка - без отклонений от нормы;
- аппетит - выраженный, потребление воды не увеличилось;
- масса тела - стабильная.

Результаты и выводы:

- 1) Результаты исследований по определению острой токсичности средства «Клиодезив» показывают, что значение LD50 не выявлено в связи с его низкой токсичностью (ОПП №1 и ОПП №2), побочных эффектов не выявлено.
- 2) Средство «Клиодезив», по степени летучести, относится к классу мало опасных веществ.
- 3) Рекомендуемая тест-доза составляет 0,08 мг средства «Клиодезив» /л воздуха.

Изучение местно - раздражающего действия средства «Клиодезив» на кожу и слизистые оболочки глаз (2-й этап)

ЦЕЛЬ: Определить местно-раздражающее действие средства «Клиодезив».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по изучению местно-раздражающего действия на кожные покровы и слизистые оболочки глаз средства «Клиодезив»: ОПП №1 - 10 мг йода/м³, ОПП №2 - 20 мг йода/м³ проведены на кафедре «Морфология, патология животных и биология» и на базе вивария при ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» с 25 ноября 2014 г. по 10 января 2015 г.

Изучение местно-раздражающего действия средства «Клиодезив» проводили по следующей схеме:

- 1) Применение средства «Клиодезив» в виде фумигационного аэрозоля в концентрации 10 мг/м³.
- 2) Применение средства «Клиодезив» в виде фумигационного аэрозоля в концентрации 20 мг/м³.

Исследования проводились в соответствии с методическими указаниями Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [1].

Способ применения средства «Клиодезив» в эксперименте выбран соответственно предполагаемому способу его применения в практических условиях.

Рекомендуемый способ применения: при проведении обработки расчетное количество средства «Клиодезив» размещают на поверхности пола, на несгораемых подставках (кирпич, бетон, и т.д.). Поджигают с помощью бытовой спички. При сгорании образуются пары йода от светло-коричневого до фиолетового цвета. Равномерное распределение паров по объему помещения происходит за счет конвекционных потоков воздуха.

Схема применения средства «Клиодезив», рекомендуемая утвержденной инструкцией, представлена в таблице 1.

Таблица 1

Обработка	Концентрация йода на 1 м ³ помещения	Экспозиция	Схема обработки	Учет обработки
Санация помещения в присутствии животных	10 мг/м ³	30 мин	3 дня обработки 7 дней перерыв 3 дня обработки 7 дней перерыв 3 дня обработки	По клиническим признакам
Лечебная обработка животных	20 мг/м ³	30 мин	7 дней обработки 7 дней перерыв 7 дней обработки 7 дней перерыв 7 дней обработки	По клиническим признакам и росту микрофлоры с мазков гортани

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Местно-раздражающее действие на кожные покровы и слизистые оболочки глаз оценивали на лабораторных кроликах со светлой кожей, с живой массой тела - 2-3 кг.

При отборе животных в эксперимент, соблюдался метод случайной выборки с отбраковкой больных и некондиционных животных.

Перед проведением каждого эксперимента животных выдерживали на карантине 14 дней, для адаптации при групповом содержании в клетках. Во время всего периода, ежедневно, у животных контролировали клиническое состояние, путем визуального осмотра.

Условия содержания экспериментальных животных соответствовали действующим Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев. Условия содержания и пищевой рацион животных были стандартными, т.е. состояли из всех необходимых компонентов для их нормальной жизнедеятельности [3].

В целях стандартизации, перед экспериментом, животных в течение суток содержали на голодной диете.

В ходе эксперимента, в фиксированное время, давали стандартную диету в соответствии с действующими нормами. В аналогичных условиях содержались животные контрольной группы.

Перед началом эксперимента у животных были сняты фоновые данные по массе тела, показателям нервной системы (поведенческие реакции).

Количество животных на 1 дозу – 5 голов.

У кроликов полностью удаляли волосяной покров с боковой поверхности тела площадью 8×9 см., методом выстригания ножницами (избегая порезов и ссадин), с последующим выбриванием ручной бритвой. Обработку лабораторных животных проводили парами действующего вещества (йод) согласно заявленной схеме. Время экспозиции составляло 30 минут. Реакция кожи регистрировалась сразу после окончания экспозиции, и далее ежедневно, согласно режимов обработки.

Оценку функционально-морфологических изменений кожи (эритемы) проводили в баллах, согласно общепринятой классификации Суворова С.В. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл выраженности эритемы и величины отека	Классы опасности
Резко выраженное	более 6	1
Выраженное	4,1 - 6,0	2
Умеренное	2,1 - 4,0	3
Слабое или отсутствие	0 - 2,0	4

Объективным методом оценки отека кожи является измерение толщины кожной складки (в мм) при помощи инженерного микрометра. Полученные данные переводили в баллы. Баллы суммировали для каждого подопытного животного, после чего вычисляли средний суммарный балл для данной группы экспериментальных животных [2].

За порог раздражающего действия средств на кожу принимается его минимальная концентрация, вызывающая минимальный эффект у животных. Регистрируется также минимальная концентрация вещества, не вызывающая раздражения кожи.

В течение всего эксперимента наблюдали за клиническим состоянием животных. В таблице 3 представлены усредненные показатели по каждой испытываемой группе животных.

Все показатели, в течение всего эксперимента, находились в пределах физиологической нормы (таблица 3).

Таблица 3

Клинические показатели состояния кроликов при распылении средства «Клиодезив»

Время исследования	"Клиодезив" с концентрацией д.в. 10 мг/м ³			"Клиодезив" с концентрацией д.в. 20 мг/м ³		
	Усредненные показатели 1 группы			Усредненные показатели 2 группы		
	Т, °С	Пульс	Дыхание	Т, °С	Пульс	Дыхание
До нанесения	38,6	127	54	38,7	127	55
Через 30 мин	38,7	126	53	38,8	127	54
Через 1 ч	38,6	126	53	38,7	127	54
Через 2 ч	38,7	126	54	38,7	126	55
Через 3 ч	38,7	126	53	38,8	127	54
Через 4 ч	38,7	127	54	38,7	128	53
Через 5 ч	38,7	128	54	38,7	129	53
Через 6 ч	38,6	127	54	38,6	127	53
Через 24 ч	38,7	127	55	38,6	128	56
Через 48 ч	38,6	126	53	38,6	126	54
Через 7 дней	38,8	127	55	38,6	128	56
Через 14 дней	38,7	128	52	38,8	129	55
Через 23 дня	38,6	126	54	38,6	127	53
Через 28 дней	38,6	126	53	38,6	126	54
Через 35 дней	38,7	126	53	38,8	127	54

При сжигании образцов и воздействии паров йода на кожу, в результате визуальной оценки состояния кожи и измерения толщины ее складки было отмечено, что «Клиодезив» не вызывает повреждения в виде эритемы или отеков. Активное вещество образцов (пары йода в указанных концентрациях) не вызывает дерматита и отека кожи. Как во время проведения эксперимента, так и во время наблюдения за животными после эксперимента, ни каких нарушений со стороны кожи нами отмечено не было (4 класс).

Испытуемые образцы средства «Клиодезив» сжигали в помещении, где находились кролики и оценивали их местно-раздражающее действие на слизистые оболочки глаз по следующей шкале:

- 1 – легкое покраснение слезного протока;
- 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице;
- 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

На протяжении всего эксперимента наблюдали следующее:

- нормальное состояние сосудов (не расширены) век, бульбарной конъюнктивы, слезных протоков, склеры и роговицы;
- гиперемии, отека век и выделений из глаз не наблюдали;
- покраснений и отека слезного протока, конъюнктивы и склеры не наблюдали;
- случаев помутнения роговицы не было.

Класс по раздражающему действию средств, оценивали по классификации выраженности раздражающих свойств. Данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

Классификация выраженности раздражающих свойств фармакологических средств на глаза

Выраженность раздражающего действия	Средний суммарный балл (конъюнктива (А + Б + В) + роговица (А + Б))	Классы
Резко выраженное	более 11	1
Выраженное	7 - 10	2
Умеренное	4 - 6	3
Слабое	1 - 3	4
Отсутствие	0	5

При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз установлено, что средство «Клиодезив» не вызывает раздражения слизистых оболочек глаз. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Влияние средства «Клиодезив» на слизистые оболочки глаз кроликов

Время исследования	"Клиодезив" с концентрацией д.в. 10 мг/м ³		"Клиодезив" с концентрацией д.в. 20 мг/м ³	
	Раздражающий эффект	Оценка, балл	Раздражающий эффект	Оценка, балл
До введения	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 15 мин	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 30 мин	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 1 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 2 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 3 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 4 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 5 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 6 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 24 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 48 ч	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 7 суток	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 14 суток	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 21 сутки	Отсутствует	0	Отсутствует	0
Через 30 суток	Отсутствует	0	Отсутствует	0

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ:

В результате проведённых нами исследований установлено, что средство «Клиодезив» не оказывает местно-раздражающего и алергизирующего (сенсibilизирующего) действия на кожу и слизистые оболочки глаз.

Исполнитель:

 Савина С.В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ /Под общей редакцией член-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.: ил.
2. Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны. М., 1980.
3. Приказ № 1179 от 10.10.83 "Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения".

Заключение
О РЕЗУЛЬТАТАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ
СРЕДСТВА «КЛИОДЕЗИВ»

Результаты исследований по определению острой токсичности и местно-раздражающего и аллергизирующего (сенсibilизирующего) действия средства «Клиодезив» показывают, что:

- 1) Значение LD50 не выявлено в связи с его низкой токсичностью (ОПП №1 и ОПП №2), побочных эффектов не выявлено.
- 2) Средство «Клиодезив» по степени летучести относится к классу мало опасных веществ.
- 3) Рекомендуемая тест-доза составляет 0,08 мг средства «Клиодезив» /л воздуха.
- 4) Средство «Клиодезив» не оказывает местно-раздражающего и аллергизирующего (сенсibilизирующего) действия на кожу и слизистые оболочки глаз.

Руководитель темы:

Заведующий кафедрой "Морфология,
патология животных и биология"

ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ"

доктор ветеринарных наук, профессор



Салаутин В.В.

Исполнитель:

доцент кафедры "Морфология,
патология животных и биология",

кандидат ветеринарных наук



Савина С.В.

27 января 2015г

В отчете пронумеровано и прошито

9 (девять) листов.

Декан ФВМП и БТ Мосманов А.В.

