

УДК: 615.33:619:636.5.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.2.42

ОЦЕНКА ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИБАКТЕРИОЗЕ ЦЫПЛЯТ

Мазур А.Д.* – млад. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1340-8024);
Скворцов В.Н. – д-р ветеринар. наук, рук. филиала (ORCID 0000-0002-9629-0000);
Юрин Д.В. – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9380-4136);
Кравцова А.Р. – лаборант-исследователь. (ORCID 0009-0009-9768-953X).

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-
исследовательский институт экспериментальной ветеринарии
имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

*an4.mazur@yandex.ru

Ключевые слова: колибактериоз, *Escherichia coli*, экспериментальная инфекция, цыплята, левофлоксацин, профилактическая эффективность, лечебная эффективность.

Keywords: colibacillosis, *Escherichia coli*, experimental infection, chicks, levofloxacin, prophylactic effectiveness, therapeutic effectiveness.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (соглашение № 22-16-20007 от 25.03.2022 г).

Поступила: 15.05.2024

Принята к публикации: 10.06.2024

Опубликована онлайн: 28.06.2024



РЕФЕРАТ

Целью данной работы являлась оценка химиотерапевтического действия лекарственного средства на основе левофлоксацина, применяемого парентерально однократно в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела при экспериментальном колибактериозе цыплят. Проведено два опыта на цыплятах суточного возраста кросса Хайсекс Браун весом 39-42 г. Экспериментальную инфекцию воспроизводили путём внутрибрюшинного введения суспензии из суточной культуры *E. coli* мутностью 1 по стандарту McFarland в объёме 0,5 мл на цыпленка (150 млн. колониеобразующих единиц). В первом опыте для определения профилактической эффективности левофлоксацина сформировано 16 групп цыплят по 10 голов в каждой. Препарат вводили внутрибрюшинно, однократно, в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела за 24; 8; 6; 4; 2 и 1 час до заражения, а также одновременно с ним. Во втором опыте для определения лечебной эффективности левофлоксацина использовали 200 цыплят, из которых сформировали 20 групп по 10 голов в каждой. Препарат вводили внутрибрюшинно, однократно, в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; и 7 часов после зара-

жения, а также одновременно с ним. Проведенные исследования показали, что при введении препарата с профилактической целью в дозе 5 мг/кг массы тела за 2 часа до заражения суммарная продолжительность жизни цыплят равнялась 92%, это свидетельствует о высокоактивной дозе. При повышении дозы препарата до 10 мг/кг массы тела существенно увеличивалась и его профилактическая эффективность. Во все временные промежутки до 4 часов доза препарата была высокоактивной. При назначении левофлоксацина с лечебной целью в дозе 5 мг/кг массы тела высокоактивная доза была установлена в промежутки времени до 5 часов; при назначении 10 мг/кг – до 7 часов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современные антимикробные препараты занимают ведущее место в лечении колибактериоза птиц. В ветеринарную практику постоянно вводятся новые химиотерапевтические средства [1]. Основной причиной, стимулирующей развитие исследований по созданию и внедрению противомикробных средств в ветеринарию, является возникновение и широкое распространение антибиотикоустойчивости (резистентности), а это в свою очередь приводит к снижению эффективности лечения инфекционных заболеваний [2, 3].

На сегодняшний день для лечения бактериальных болезней, особенно, когда в их этиологии принимают участие грамотрицательные микроорганизмы, используют фторхинолоны [4]. Это обусловлено широким спектром антимикробной активности [5, 6, 7, 8] и низкой токсичностью препаратов этой группы [9, 10, 11].

Важным аспектом выбора антимикробного препарата для лечения той или иной болезни является проведение доклинических исследований по определению его химиотерапевтического действия [12]. Так, в проведенных нами ранее исследованиях уже была установлена эффективность препаратов этой группы при лечении экспериментального колибактериоза лабораторных животных и цыплят [13].

Целью данной работы являлась оценка химиотерапевтического действия лекарственного средства на основе левофлоксацина для лечения цыплят, экспериментально зараженных колибактериозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями по экспериментальному (доклиническому) изучению новых

фармакологических веществ [14].

Нами проведено два опыта на цыплятах суточного возраста (средняя масса 39 гр.) кросса Хайсекс Браун. По однотипной схеме проводилось воспроизведение экспериментальной инфекции – внутрибрюшинным инъецированием суспензии из суточной культуры *E. coli* мутностью 1 по стандарту McFarland в объеме 0,5 мл на цыпленка (150 млн. колониеобразующих единиц). Заражающая доза была установлена в предварительных опытах.

В исследовании оценивали эффективность препарата в различные сроки до и после заражения.

В первом опыте для определения профилактической эффективности левофлоксацина нами было сформировано 16 групп цыплят по 10 голов в каждой. Левофлоксацин вводили внутрибрюшинно, однократно, в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела за 24, 8, 6, 4, 2 и 1 час до заражения, а также одновременно с ним. Во втором опыте для определения лечебной эффективности левофлоксацина использовали 200 цыплят, из которых сформировали 20 групп по 10 голов в каждой. Препарат вводили внутрибрюшинно, однократно, в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; и 7 часов после заражения, а также одновременно с ним.

В каждом из опытов находилась контрольная группа цыплят, которых заражали, но не лечили, а также интактная группа, цыплятам которой внутрибрюшинно вводили изотонический раствор натрия хлорида в объеме 0,5 мл.

Наблюдение за птицей вели в течение 10 дней. Оценка эффективности препарата проводили путём сравнения выживаемости и сроков гибели цыплят в контрольных и экспериментальных группах.

Оценивали профилактическую и ле-

чебную эффективность препарата на основе определения суммарной продолжительности жизни птиц в опыте. Максимальная суммарная продолжительность жизни (СПЖ) цыплят составляла 100 условных дней (10 голов × 10 дней). Продолжительность жизни цыплят выражали в процентах от максимально возможной за период наблюдения. Эффективность использованных доз препарата оценивали по следующим показателям: высокоактивная доза – СПЖ в пределах 80-100 %, активная доза – 40-80 %, слабоактивная доза – 30-40 %. Неактивной считали дозу

препарата, при использовании которой разница в продолжительности жизни с контрольной группой была недостоверной [2]. Статистическую обработку полученных данных проводили стандартными методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты исследований по изучению профилактической эффективности левофлоксацина, применяемого однократно парентерально в различных дозах цыплятам, экспериментально зараженных *E. coli*, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Профилактическая эффективность левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят

Время введения препарата до заражения	Кол-во цыплят в группе	Суммарная продолжительность жизни			
		5 мг/кг		10 мг/кг	
		дней	%	дней	%
За 24 часа до заражения	10	34	34	8	8
За 8 часов -//-	10	28	28	89	89
За 6 часов -//-	10	68	68	65	65
За 4 часа -//-	10	64	64	83	83
За 2 часа -//-	10	92	92	90	90
За 1 час -//-	10	61	61	91	91
Одновременно с заражением	10	75	75	94	94
Контрольная группа	10	38	38	38	38
Интактная группа	10	100	100	100	100

Таблица 2 – Лечебная эффективность левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят

Время введения препарата после заражения	Кол-во цыплят в группе	Суммарная продолжительность жизни			
		5 мг/кг		10 мг/кг	
		дней	%	дней	%
Одновременно с заражением	10	82	82	100	100
Через 0,5 часа	10	100	100	100	100
-//- 1 час	10	90	90	100	100
-//- 2 часа	10	77	77	81	81
-//- 3 часа	10	100	100	90	90
-//- 4 часа	10	86	86	91	91
-//- 5 часов	10	95	95	89	89
-//- 6 часов	10	77	77	96	96
-//- 7 часов	10	72	72	96	96
Контрольная группа	10	6	6	6	6
Интактная группа	10	100	100	100	100

Анализ результатов первого опыта, показал, что максимальная продолжительность жизни птиц при назначении левофлоксацина в дозе 5 мг/кг массы тела за 24 и 8 часов до заражения составила 34 и 28 % соответственно. Это указывает на то, что в данные временные промежутки вышеуказанная доза оказалась слабоактивной. При введении препарата за 2 часа до заражения суммарная продолжительность жизни цыплят равнялась 92%, что свидетельствует о высокоактивной дозе. В остальные временные промежутки доза препарата 5 мг/кг массы тела являлась активной.

При повышении дозы препарата до 10 мг/кг массы тела увеличивалась и его профилактическая эффективность. Так, слабоактивная доза была только в одном случае, когда левофлоксацин назначали за 24 часа до заражения. Суммарная продолжительность жизни в этот промежуток времени составила всего лишь 8 %. Во все остальные промежутки времени за исключением 6 часов доза препарата была высокоактивной.

Результаты второго опыта, где нами изучалась лечебная эффективность левофлоксацина, применяемого однократно парентерально в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела при экспериментальном колибактериозе цыплят, представлены в таблице 2.

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что суммарная продолжительность жизни при назначении препарата в дозе 5 мг/кг массы тела через 6 и 7 часов после заражения равнялась 77 и 72 %, следовательно, дозы являются активными. Во все остальные временные промежутки, за исключением 2 часов, где СПЖ составила 77 % (активная доза), доза левофлоксацина была высокоактивной. Суммарная продолжительность жизни цыплят при назначении левофлоксацина в дозе 10 мг/кг массы тела независимо от времени введения препарата после заражения составляла от 81 до 100 %. Доза препарата была высокоактивной во все временные промежутки введения при лечении экспериментального колибактериоза цыплят.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При введении препарата с профилактической целью в дозе 5 мг/кг массы тела за 2 часа до заражения суммарная продолжительность жизни цыплят равнялась 92%, что свидетельствует о высокоактивной дозе. При повышении дозы препарата до 10 мг/кг массы тела увеличивалась и его профилактическая эффективность. Во все временные промежутки до 4 часов доза препарата была высокоактивной.

При назначении левофлоксацина с лечебной целью в дозе 5 мг/кг массы тела высокоактивная доза была установлена в промежутки времени до 5 часов; при назначении 10 мг/кг – до 7 часов.

ASSESSMENT OF CHEMOTHERAPEUTIC ACTION OF LEVOFLOXACIN - BASED DRUG IN EXPERIMENTAL COLIBACILLOSIS OF CHICKS

Mazur A.D. * – Junior Researcher (ORSID 0000 0003 1340 8024), **Skvortsov V.N.** – D. V. Sc., Head of Department (0000 0002 9629 0000), **Yurin D.V.** – C. V. Sc., Leading Researcher (0000-0001-9380-4136), **Kravtsova A.R.** –Research Assistant (0009 0009 9768 953X).

FGBNU "Federal Scientific Centre – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and Ya. R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

*an4.mazur@yandex.ru

ABSTRACT

The aim of the present study was to assess chemotherapeutic action of a levofloxacin-based drug, administered singly parenterally at doses 5 mg/kg and 10 mg/kg, for treatment of experimental colibacillosis of chicks. We conducted two experiments with day-old Hisex Brown chicks (body weight ranging from 39 g to 42 g). We challenged the chicks by injecting each of them with 0.5 mL of one-day old *E. coli* culture in suspension intraperitoneally, having adjusted its McFarland standard to ensure cell density of 1.5×10^8 CFUs (1 McFarland standard). For the first experiment we made 16 groups

of chicks (n=10). The drug was injected intraperitoneally singly at doses 5 mg/kg and 10 mg/kg at 24h, 8h, 6h, 4h, 2h and 1h prior to the challenge and simultaneously with the challenge. In the second experiment we endeavoured to assess therapeutic effectiveness of levofloxacin and we made 20 groups of chicks (n=10). The drug was injected intraperitoneally singly at doses 5 mg/kg and 10 mg/kg at 0.5h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h and 7h following the challenge and simultaneously with the challenge.

The experiments we conducted show that the total lifespan of the chicks was 92% when the drug was administered at a dose 5 mg/kg at 2h prior to the challenge. That dose 5 mg/kg therefore can be considered a highly active dose. When we increased the dose to 10 mg/kg the prophylactic effectiveness of the drug rose significantly. At all time intervals below 4 hours the dose of the drug was highly active.

When levofloxacin was administered for prophylaxis at a dose 5 mg/kg that dose was proven as highly active for all time intervals below 5 hours, and at a dose 10 mg/kg – 7 hours.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мазур, А.Д. Изучение острой токсичности левофлоксацина для лабораторных животных при подкожном введении / А.Д. Мазур // Актуальные вопросы современной ветеринарии: материалы национальной научно-производственной конференции (Майский, 01 декабря, 2021 г.). – Майский: Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина, 2021. – С. 106-107.
2. Методы экспериментальной химиотерапии: практ. руководство / Под ред. Г. Н. Першина. – 2-е изд. – Москва : Медицина, 1971. – 539 с.
3. Antibacterial and pharmacological evaluation of fluoroquinolones: a chemoinformatics approach / D. Sood, N. Kumar, A. Singh [and others] // Genomics Inform. – 2018. – Vol. 16(3). – P. 44-51. DOI: 10.5808/GI.2018.16.3.44.
4. Emergency department visits for antibiotic-associated adverse events / N. Shehab, P. R. Patel, A. Srinivasan, D. S Budnitz // Clin Infect Dis. – 2008 Sep 15. – Vol. 47(6). – P. 735-743. DOI: 10.1086/591126. PMID: 18694344.
5. Токсикологическая характеристика фармацевтической субстанции левофлоксацина гемигидрат в острых опытах при различных путях поступления в организм лабораторных животных / В.Н. Гапанович, С.В. Андреев, Е.К. Власенко [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сборник материалов международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию республиканского унитарного предприятия «научно-практический центр гигиены» (Минск, 24–25 ноября, 2022 г.) – Минск: Издательский центр БГУ, 2022. – С. 436 – 440.
6. Соколов, В.Д. Повышать эффективность и безопасность лекарств / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 8 – 13.
7. Антимикробная активность энрофлоксацина in vitro / Д. В. Юрин, В. В. Невзорова, А.А. Балбуцкая, С.С. Белимова // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 99-103. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.2.31.
8. Sitovs A. Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review / A. Sitovs, I. Sartini, M. Giorgi // Research in Veterinary Science. – 2021. – Vol. 137. – P. 111-126. – DOI: 10.1016/j.rvsc.2021.04.031.
9. Заикина, Е.Н. Чувствительность эшерихий, выделенных от птиц, к антимикробным препаратам / Е.Н. Заикина, В.Н. Скворцов, А.А. Присный // Ветеринария Кубани. – 2017. – №.2. – С. 20 – 21.
10. Антимикробная активность фторхинолонов в отношении микроорганизмов, выделенных от животных / Д.В. Юрин, А.А. Балбуцкая, В.Н. Скворцов, А.А. Присный // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – №3. – С. 63 – 67.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под редакцией Р.У. Хабриева – Издание 2-е, переработанное и дополненное. – Москва: Издательство "Медицина", 2005. – 832 с.

12. Изучение бактериальных инфекций на птицефабриках / Н.Л. Андреева, М.Е. Дмитриева, А.А. Климов, Л.С. Фогель // Ветеринария. – 2004. – № 5. – С. 14 – 16.

13. Падейская, Е.Я. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике / Е.Я. Падейская, В.П. Яковлев. – Москва: ЛОГАТА, 1998 – 205 с.

14. Мазур, А.Д. Эффективность использования левофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят / А.Д. Мазур // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и зоотехнии: Материалы Национальной научной конференции студентов и аспирантов, посвященной 85-летию профессора В.П. Кулаченко (Майский, 27 октября, 2022 г.). – Майский: Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина, 2022. – С. 79 – 81.

REFERENCES

1. Mazur, A.D. Izucheniie ostroi toksichnosti levofloksatsina dlia laboratornykh zhivotnykh pri podkozhnom vvedenii [Study of acute toxicity of levofloxacin in laboratory animals with subcutaneous administration] / A.D. Mazur // Aktual'nye voprosy sovremennoi veterinarii: materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Maysky, 01 dekabria, 2021 g.) [Actual issues in modern veterinary medicine: Proceedings of National Science and Production Conference (Maysky, 1 December 2021)], Maysky, Belgorod State Agricultural University named after V.Ya. Gorin, 2021, pp. 106-107. (In Russ.)

2. Metody eksperimental'noi khimioterapii: Prakticheskoe rukovodstvo [Methods in experimental chemotherapy. Practical Guide] / Ed. G.N. Pershin. Second Edition, Moscow, Meditsina Publ., 1971, 539 p. (In Russ.)

3. Antibacterial and pharmacological evaluation of fluoroquinolones: a chemoinformatics approach / D. Sood, N. Kumar, A. Singh [and others] // Genomics Inform. – 2018. – Vol. 16(3). – P. 44-51. DOI: 10.5808/GI.2018.16.3.44.

4. Emergency department visits for antibiotic-associated adverse events / N. Shehab, P. R

Patel, A. Srinivasan, D. S Budnitz // Clin Infect Dis. – 2008 Sep 15. – Vol. 47(6). – P. 735-743. DOI: 10.1086/591126. PMID: 18694344.

5. Toksikologicheskaya kharakteristika farmatsevticheskoi substantsii levofloksatsina gemidrat v ostrykh opytakh pri razlichnykh putiakh postupleniya v organizm laboratornykh zhivotnykh [Toxicologic characteristics of pharmaceutical substance levofloxacin hemihydrate in acute experiments with laboratory animals with different routes of administration] / V.N. Gapanovich, S.V. Andreev, Ye.K. Vlasenko [et al.] // Zdorovie i okruzhaiushchaya sreda: sbornik materialov mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posviashchennoi 95-letiiu respublikanskogo unitarnogo predpriiatiia "Nauchno-prakticheskii tsentr gigieny" (Minsk, 24-25 noiabria 2022 g.) [Health and the Environment: Proceedings of International scientific and practical conference in honour of 95-th anniversary of Republican unitary enterprise "Scientific Practical Centre of Hygiene" (Minsk, 24-25 November 2022)], Minsk, Publ. company of BSU, 2022, pp. 436-440. (In Russ.)

6. Sokolov V.D. Povyshat' effektivnost' i bezopasnost' lekarstv [To increase efficiency and safety of drugs] / V.D. Sokolov, N.L. Andreeva // Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii [International Bulletin of Veterinary Medicine], 2014, no. 4, pp. 8-13. (In Russ.)

7. Antimikrobnaya aktivnost' enrofloksatsina in vitro [Antimicrobial activity of enrofloxacin in vitro] / D.V. Yurin, V.V. Nevzorova, A.A. Balbutskaya, S.S. Belimova // Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii [International Bulletin of Veterinary Medicine], 2020, no. 2, pp. 99-103. DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.2.31. (In Russ.)

8. Sitovs A. Levofloxacin in veterinary medicine: a literature review / A. Sitovs, I. Sartini, M. Giorgi // Research in Veterinary Science. – 2021. – Vol. 137. – P. 111-126. – DOI: 10.1016/j.rvsc.2021.04.031.

9. Zaikina Ye.N. Chuvstvitel'nost' esherikhii, vydelennykh ot ptits, k antimikrobnym preparatam [Sensitivity of Escherichia, isolated from poultry, to antimicrobial preparations] / Ye.N. Zaikina, V.N. Skvortsov, A.A.

- Prisnyi // Veterinariia Kubani [Veterinaria Kubani], 2017, no. 2, pp. 20-21. (In Russ.)
10. Antimikrobnaya aktivnost' florkhinolonov v otnoshenii mikroorganizmov, vydelenykh ot zhivotnykh [Antimicrobial activity of fluoroquinolones concerning the microorganisms allocated from animals] / D.V. Yurin, A.A. Balbutskaya, V.N. Skvortsov, A.A. Prisnyi // Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii [International Bulletin of Veterinary Medicine], 2018, no. 3, pp. 63-67. (In Russ.)
11. Khabriev R.U. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniiu novykh farmakologicheskikh veshchestv. [Handbook of experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances] / Pod obshchei redaktsiei R.U. Khabrieva. 2 izd., pererab. i dop. [R.U. Khabriev, Editor-in-Chief, Second Edition, Revised & Expanded]. Moscow, Meditsina Publ., 2005, 832 p. (In Russ.)
12. Izucheniye bakterial'nykh infektsii na ptitsefabrikakh (Leningradskaia obl.) [Study of bacterial infections in poultry farms] / N.L. Andreeva, M.Ye. Dmitrieva A.A. Klimov, L.S. Fogel' // Veterinariia [Veterinariya], 2004, no. 5, pp. 14-16. (In Russ.)
13. Padeiskaya Ye.N. Antimikrobnye preparaty gruppy florkhinolonov v klinicheskoi praktike [Fluoroquinolone antimicrobials in clinical practice] / Ye.N. Padeiskaya, V.P. Yakovlev // Moscow, LOGATA Publ., 1998, 352 p. (In Russ.)
14. Mazur A.D. Effektivnost' ispol'zovaniia levofloksatsina pri eksperimental'nom kolibakterioze tsypliat [Effectiveness of levofloxacin administration in experimental colibacillosis of chickens] / A.D. Mazur // Aktual'nye voprosy veterinarnoi meditsiny i zootekhnii: Materialy Natsional'noi nauchnoi konferentsii studentov i aspirantov, posviashchennoi 85-letiiu professora V.P. Kulachenko (Mayskii, 27 oktiabria, 2022 g.) [Actual issues in veterinary medicine and zootechnics: Proceedings of National Scientific Conference of Undergraduate and Postgraduate Students to Honour 85-th Anniversary of Professor V.P. Kulachenko (Maysky, 27 October 2022)], Maysky, Belgorod State Agricultural University named after V.Ya. Gorin, 2022, pp. 79-81. (In Russ.)