

УДК 619:615.038

КУЛІНІЧ О.В.\*, e-mail: olyakulnch@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН

САЧУК Р.М., канд. вет.наук, e-mail: sachuk.08@mail.ru

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН

## ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА КУМУЛЯТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АЕРОЗОЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ «МЕТРАЗОЛ-БІО»

*За результатами досліджень параметрів гострої токсичності препарату «Метразол-біо» встановлено величину напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>) при внутрішньошлунковому введенні білим мишам, яка становила 5283 (4593,9-6075,5) мг/кг. Величина ЛД<sub>50</sub> при внутрішньошлунковому введенні щуром – 6100 (4149,7-8967) мг/кг. Це дозволило віднести аерозольний препарат «Метразол-біо» до четвертого класу небезпеки (відповідно до ГОСТ 12.1.007-76). Визначений коефіцієнт кумуляції при багаторазовому оральному введенні білим мишам становив 7,4, що дозволило віднести його до препаратів, у яких відсутні кумулятивні властивості (якщо  $K_{\text{кум}} > 1$ ).*

**Ключові слова:** післяродова інфекція, хлоргексидин, гостра токсичність, кумуляція, лабораторна тварина, «Метразол-біо», антимікробна дія.

**Вступ.** Для профілактики і лікування післяродових внутрішньоматкових інфекцій у корів, кобил, свиней, овець і кіз ПП «Біофарм», спільно з Дослідною станцією епізоотології ІВМ НААН, розроблено новий аерозольний внутрішньоматковий препарат «Метразол-біо», до складу якого входить хлоргексидину біглюконат. Обов'язковою умовою застосування нових лікарських препаратів є попередні доклінічні та клінічні випробування, у першу чергу токсикологічні дослідження на лабораторних тваринах. Ця умова знайшла своє відображення в Гельсінкській декларації Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження" і в Законі про ветеринарну медицину України [1–3]. На результати досліджень, у тому числі щодо токсичного впливу речовин на організм, можуть суттєво впливати і супутні чинники, такі як стан та утримання тварин, їх статево-вікові особливості та ін. Тому першим етапом дослідження має стати одержання інформації щодо дії досліджуваної речовини в умовах короткотривалого експерименту та визначення перспектив подальших випробувань.

**Метою** роботи було визначити параметри гострої токсичності та кумулятивних властивостей аерозольного внутрішньоматкового препарату «Метразол-біо» на лабораторних тваринах.

**Матеріали і методи досліджень.** В роботі використано нову розробку – аерозольний внутрішньоматковий препарат «Метразол-біо», який містить хлоргексидину біглюконат, декспантенол і ефірну олію полину таврійського, які

---

\* Аспірант, науковий керівник – канд.вет.наук, Р.М. Сачук

мають синергічну дію. Аерозоль застосовують для профілактики та лікування післяродових внутрішньоматкових інфекцій у корів, свиней, овець і кіз (ендометритів, пірометри, цервіцитів, вагінітів, затримки посліду, спричинених чутливими до хлоргексидину мікроорганізмами), після надання рододопомоги, кесаревого розтину та післяродової санації матки. Препарат застосовують згідно настанови, після його застосування продукцію тваринництва використовують без обмежень. Препарат проходить передреєстраційні доклінічні випробування.

Вивчення гострої токсичності препарату проводили на 50 мишах (*Mus musculus*, родина *Muridae*) масою тіла 18–20 г і 40 нелінійних білих (альбіносні і мішані форми) щурах (*Rattus*) з масою тіла 180–200 г, які знаходилися в умовах віварію комунального закладу «Рівненська обласна станція переливання крові» та віварію Дослідної станції епізоотології ІВМ НААН. Для досліду використовували клінічно здорових тварин, яких утримували за температури 18–25 °С, вологості 50–60%, звичайному світловому режимі «день-ніч» на стандартному раціоні з необмеженим доступом до води. Випробуваний препарат вводили внутрішньошлунково за допомогою модифікованого інсулінового шприца, канюля якого продовжена латексною трубкою діаметром 2 мм і наскірно. Препарат «Метразол-біо» при внутрішньошлунковому введенні мишам вивчали в діапазоні доз від 2500 до 10000 мг/кг живої маси. Лабораторним щурам препарат вводили в діапазоні від 3400 до 10500 мг/кг живої маси. Розрахунок ЛД<sub>50</sub> здійснювали методом Літчфілда і Уїлкоксона в модифікації З. Рота [3] та методиками, викладеними у виданні «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (2006) [4].

Вивчення кумулятивних властивостей препарату проводилися з використанням тесту субхронічної токсичності за К. С. Лімом зі співавторами у модифікації К. К. Сидорова (1961) [5, 6]. Залежно від дози препарату, вираховували коефіцієнт кумуляції за формулою:  $K_{\text{кум}} = \text{ЛД}_{50n} / \text{ЛД}_{50}$ , де  $K_{\text{кум}}$  – коефіцієнт кумуляції;  $\text{ЛД}_{50n}$  і  $\text{ЛД}_{50}$  – середні смертельні дози за багаторазового та одноразового введення відповідно. У досліді використали 80 білих мишей масою 18–25 г, розділених на 2 групи по 40 в кожній. Тваринам дослідної групи препарат вводили перорально: в перші 4 доби – 1/10 від  $\text{ЛД}_{50}$ , потім кожні наступні 4 доби дозу збільшували в 1,5 рази. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в дозі 0,5 мл. Спостереження за мишами проводили протягом 28 діб. При цьому враховували: стан (збудження, пригнічення), характер, ступінь активності та координацію рухів, реакцію тварини на орієнтовні, тактильні і больові реакції, наявність тремору, судом, паралічів, виділень з очей, носових та сечовивідних шляхів. Одночасно з показником виживання, спостерігали за станом та поведінковими реакціями тварин, здатністю вживати корм та воду, проявами шлунково-кишкової діяльності, диханням, станом шерстного покриву та ін.

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами експериментальних досліджень встановлено, що через 20–30 хвилин після введення препарату в дозах від 5283 до 10000 мг/кг живої маси виникало

пригнічення лабораторних мишей, а через 24 години тварини гинули. Після введення токсичних доз препарату (6100–11200 мг/кг живої маси) лабораторним щурам пригнічення виникало через 30–40 хвилин, із загибеллю протягом 24-х годин. Патоморфологічна картина при введенні лабораторним гризунам токсичних доз була однотипна, її вираженість варіювала залежно від дози. Зокрема, при гострому токсикозі відзначали крововиливи на епікарді серцевої сумки, набряклість легень, дегенеративні зміни в печінці та нирках, надлишкове кровонаповнення паренхіматозних органів. В трахеї і бронхах виявляли велику кількість пінистої рідини, на їх слизовій оболонці – точкові крововиливи. Крововиливи знаходили також під ендокардом і епікардом, в печінці та нирках. Нормалізація клінічного стану у тих, що вижили тварин проходила протягом 8–10 діб. Після нашкірного нанесення препарату явища токсикозу у тварин не виникали, тому обрахунок показників ЛД<sub>50</sub> при нашкірному нанесенні був не можливий. Результати досліджень параметрів гострої токсичності препарату «Метразол-біо» для лабораторних тварин представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Параметри гострої токсичності препарату «Метразол-біо» для лабораторних тварин, мг/кг**

ЛД <sub>0</sub>	ЛД <sub>16</sub>	ЛД <sub>50</sub> з межами	ЛД <sub>84</sub>	ЛД <sub>100</sub>	Кількість тварин в досліді
<b>Введення в шлунок</b>					
Миші					
2500	3220	5283 (4593,9-6075,5)	8950	10000	50
Щури					
3400	3610	6100 (4149,7-8967)	10300	11200	40
<b>Нанесення на шкіру</b>					
Щури					
		>20212,5			

Встановлена величина напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>) при внутрішньошлунковому введенні білим мишам – 5283 (4593,9-6075,5) мг/кг. Величина ЛД<sub>50</sub> при внутрішньошлунковому введенні щурам – 6100 (4149,7–8967) мг/кг. Це дозволяє віднести аерозольний препарат «Метразол-біо» до четвертого класу небезпеки (відповідно до ГОСТ 12.1.007-76).

Результати досліджень із визначення коефіцієнта кумуляції препарату «Метразол-біо» представлені в табл. 2.

Аналізуючи отримані результати, необхідно відмітити, що при щоденному пероральному введенні білим мишам аерозольного препарату в сумарній дозі 10038,4 мг/кг маси тіла не відбувається загибель тварин. Початок загибелі мишей було відмічено при сумарній дозі – 17171,6 мг/кг. Загибель тварин у наступні дні тривала при сумарних дозах введеного лікарського засобу 27870,8 мг/кг, 43919,6 мг/кг і 67992,8 мг/кг живої маси. Коефіцієнт кумуляції (К<sub>кум</sub>) препарату склав 7,4. Відповідно до методичних рекомендацій із

визначення токсичних властивостей препаратів, які застосовуються у ветеринарії [3], якщо  $K_{\text{кум}} > 1$ , то препарат відносять до групи лікарських засобів, у яких відсутні кумулятивні властивості. Відповідно до методичних рекомендацій з вивчення загальнотоксичної дії фармакологічних речовин, якщо  $K_{\text{кум}} < 1$ , то це акумуляція, якщо  $K_{\text{кум}} > 1$ , то звикання [3, 5].

Таблиця 2

**Визначення коефіцієнта кумуляції препарату «Метразол-біо» на білих мишах з використанням тесту субхронічної токсичності**

Кумулятивна доза в мг/кг	Доба введення	Кількість мишей	Падіж за період введення	Сумарний падіж по періодам	Відсоток смертності
10038,4	9-12	40	-	-	-
17171,6	13-16	40	5	5	12,5
27870,8	17-20	40	10	17	42,5
43919,6	21-24	40	19	30	75,0
67992,8	24-28	40	22	40	100,0
$K_{\text{кум}} = \text{ЛД}_{50n} : \text{ЛД}_{50} = 39015,8 : 5283 = 7,4$					

**Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. За результатами експериментальних досліджень проведено кількісну оцінку параметрів гострої токсичності препарату «Метразол-біо» із визначенням величини напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>) при внутрішньошлунковому введенні білим мишам, яка становила 5283 (4593,9–6075,5) мг/кг. Величина ЛД<sub>50</sub> при внутрішньошлунковому введенні щурам – 6100 (4149,7–8967) мг/кг. Це дозволяє віднести аерозольний препарат «Метразол-біо» до четвертого класу небезпеки.

2. Визначений коефіцієнт кумуляції становить 7,4, що дозволяє віднести його до препаратів, у яких відсутні кумулятивні властивості (якщо  $K_{\text{кум}} > 1$ ).

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення хронічної токсичності, ембріотоксичної і тератогенної дії аерозольного препарату «Метразол-біо».

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. [Electronic resource] – <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>.
2. Закон України «Про ветеринарну медицину» від 25 червня 1992 р. №2498-ХІІ (зі змінами і доповненнями).
3. Косенко М.В. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: методичні рекомендації / М.В. Косенко, О.Г. Малик, І.Я. Коцюмбас та ін. – К., 1997. – 34 с.
4. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега та ін.; за редакцією І. Я. Коцюмбаса. – Львів : Тріада плюс, 2006. – 360 с.
5. Сидоров К. К. О некоторых методах количественной оценки кумулятивного эффекта / К. К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. – 1967. – Вып. 9. – Л.: Медицина. – С. 19–27.

6. Lim K. S. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / K. S. Lim, K. G. Rink, H. G. Glass // Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther. – 1961. – Vol. 130. – P. 336–353.

7. Маланин Л.П. Ветеринарные препараты: Справочник / Л.П. Маланин, А.П. Морозов, А.С. Селиванова; Под ред. А.Д. Третьякова.- М.: Агропромиздат, 1988. – 319 с.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ АЭРОЗОЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «МЕТРАЗОЛ-БИО» / Кулинич О.В., Сачук Р.Н.

*В результате исследований параметров острой токсичности препарата «Метразол-био» была установлена величина полудетальной дозы (ЛД<sub>50</sub>) при внутривентрикулярном введении белым мышам, которая составляла 5283 (4593,9-6075,5) мг/кг. Значение ЛД<sub>50</sub> при внутривентрикулярном введении крысам – 6100 (4149,7-8967) мг/кг. Это позволяет отнести аэрозольный препарат «Метразол-био» к четвертому классу опасности (согласно ГОСТ 12.1.007-76). Определенный коэффициент кумуляции при многократном оральном введении белым мышам составляет 7,4, что позволяет отнести его к препаратам, в которых отсутствуют кумулятивные свойства (если  $K_{cum} > 1$ ).*

**Ключевые слова:** послеродовая инфекция, хлоргексидин, острая токсичность, кумуляции, лабораторная животное, «Метразол-био», антимикробное действие.

#### DETERMINING PARAMETERS OF THE AEROSOL “METRAZOL-BIO” ACUTE TOXICITY AND CUMULATIVE PROPERTIES / Kulinich O.V., Sachuk R.M.

**Introduction.** *The indispensable prerequisite of using a new intrauterine aerosol “Metrozol-bio”, which is designed for prevention and treatment of postnatal intrauterine infections of cows, mares, swine, sheep and goats, is conducting preliminary toxicological studies on laboratory animals.*

**The goal of the work** *was to determine the parameters of acute toxicity and cumulative properties of aerosol “Metrazol-bio” on laboratory animals.*

**Materials and methods.** *The study of acute toxicity of an intrauterine aerosol “Metrazol-bio” with the active substance Chlorhexidine bigluconate was performed on 50 mice, weighing 18-20 g, and 40 white nondescript rats, weighing 180-200 g, which were in vivarium conditions at 18-25° C and humidity of 50-60% in standard plastic cages on a standard diet. The trial medication was injected over the skin (cutaneous) and intragastric. Calculation of median lethal dose (LD<sub>50</sub>) and other indicators was determined by Litchfield and Wilcoxon method modified by Roth (1963) and the method described in the publication “Preclinical studies of veterinary medications” (2006).*

**Results of research and discussion.** *Intrauterine aerosol “Metrazol-bio” at intragastric administration to mice was studied in the dose range from 2,500 to 10,000 mg/kg live weight. Laboratory rats were administered a preparation in the dose range from 3,400 to 10,500 mg/kg live weight. In 20-30 minutes after administration of toxic doses of the preparation depression of laboratory mice took place and after 24 hours the animals died. After the administration of toxic doses of the preparation, depression of laboratory rats occurred in 30-40 minutes and after 24 hours the animals died. According to the research of “Metrazol-bio” acute toxicity parameters, it was set the value of LD<sub>50</sub> at intragastric administration to white mice, which was 5283 (4593,9-6075,5) mg/kg. LD<sub>50</sub> at intragastric administration to rats accounted for 6100 (4149.7-8967) mg/kg. This allows relating the aerosol “Metrazol-bio” to the fourth class of danger (according to GOST (National State Standard) 12.1.007-76).*

*The specified cumulation factor after repeated oral administration to white mice amounted 7,4, allowing to carry the medication to preparation without cumulative effect (if  $K_{cum} > 1$ ).*

**Conclusions and prospects for further research.** *According to the research of “Metrazol-bio” acute toxicity parameters it was set the value of LD<sub>50</sub> at intragastric administration to white*

mice amounts to 5283 mg/kg. The value of  $LD_{50}$  at intragastric administration to rats amounts to 6100 mg/kg. This allows attributing aerosol "Metrazol-bio" to the fourth class of danger. The specified cumulation coefficient amounted to 7.4, which allows attributing medication to preparation without cumulative effect. Further studies will relate to the definition of chronic toxicity, embryotoxic and teratogenic properties of "Metrazol-bio".

**Keywords:** postpartum infection, chlorhexidine, acute toxicity, cumulation, laboratory animal, "Metrazol-bio", antimicrobial effect.

#### REFERENCES

1. WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects [Electronic resource] – <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>.
2. Закон України «Про ветеринарну медицину» від 25 червня 1992 р. №2498-XII (зі змінами і доповненнями) [The Law of Ukraine of June 25, 1992 N 2498-XII «On veterinary medicine» (amended and supplemented)] [in Ukrainian].
3. Kosenko, M.V., Malik, O.G., & Kotsyumbas I.Ya. (1997). *Toksikologichnij kontrol' novih zasobiv zahistu tvarin: metodichni rekomendacii* [Poison control of new means of protecting animals: guidelines]. Kiev [in Ukrainian].
4. Kotsyumbas, I.Ya., Malik, O.G., & Patereha I.P. et al. (2006). *Doklinichni doslidzhennja veterinarних лікарських засобів* [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Kotsyumbas, I.Ya. (Ed.). Lviv: Triad plus [in Ukrainian].
5. Sidorov, K.K. (1967) О некоторых методах количественной оценки кумулятивного эффекта [Some methods of quantifying the cumulative effect]. *Toksikologija novyh promyshlennyh himicheskikh veshhestv – Toxicology new industrial chemicals*, 9, 19-27 [in Russian].
6. Lim, K.S., Rink, K.G. & Glass, H.G. (1961). A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.*, 130, 336-353.
7. Malanin, L.P., Morozov A.P., & Selivanova, A.S. (1988). *Veterinarnye preparaty* [Veterinary medicines]. *Reference book*. Tretyakov A.D. (Ed.). Moscow: Agropromizdat [in Russian].

#### УДК 619:614.4

**ЛИСИЦЯ А. В.**, д-р. біол. наук, доцент, e-mail: lysyca@ukr.net,

**МАНДИГРА Ю. М.**, e-mail: julijamandygra@gmail.com

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН

**ВИСОЦЬКИЙ А. О.**, канд. вет. наук, доцент, e-mail: androv1357.yan@yandex.ua

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького

### ПЕРСПЕКТИВНІ НАПРЯМИ ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ ГУАНІДИНУ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ, БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА АГРОВИРОБНИЦТВІ (ОГЛЯДОВА СТАТТЯ)

Наведено результати аналізу потенційних можливостей використання різних похідних гуанідину у ветеринарній медицині, агровиробництві, біотехнології тощо. Встановлено, що перспективним є застосування солей полігексаметиленгуанідину не лише для дезінфекції і деконтамінації. Значний потенціал цих сполук може бути корисним також