

ВИЗНАЧЕННЯ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ БРОВЕРМЕКТИН–ГРАНУЛЯТ™ НА ОДНОРІЧКАХ КОРОПА

Ю. В. Лобойко, В. В. Стибель

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

У результаті вивчення токсичної дії бровермектин-грануляту, за умов щодобового введення його однорічкам коропа протягом 15-ти діб, встановлено незначні коливання досліджуваних показників за умови застосування препарату у дозах, вищих за терапевтичну (1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀). Зокрема, відмічали вірогідні зниження кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, лейкоцитів, нейтропенію, еозинопенію та лімфоцитоз. Встановлено вплив препарату на обмін білків (зниження загального білка, підвищення вмісту альбумінів, зниження β- та γ-глобулінів). Не виявлено суттєвих змін щодо активності аміотрасфераз у гепатопанкреасі, скелетних м'язів та зябрах коропа. Одержані результати свідчать про зменшення продукції загальних Т-лімфоцитів, які відіграють ключову роль у системі імунного захисту організму коропа.

За останні роки нагромаджений значний досвід застосування у практиці іхтіопатології різних протипаразитарних препаратів [1]. Вони відносяться до різних класів сполук і, як правило, є більш ефективними відносно окремих видів паразитів. При цьому слід зазначити, що більшість з них не є бездоганними в екологічному відношенні та токсичні для риб.

Виходячи з актуальності проблеми та відсутності ефективних засобів боротьби з ектопаразитарними інвазіями прісноводних риб, нами запропоновано комплексний протипаразитарний засіб Бровермектин-гранулят™. За зовнішнім виглядом — це мікрогранульований порошок на основі діючої речовини івермектину в поєднанні з токоферол ацетатом. Проведеними за останні роки дослідженнями встановлена його висока ефективність за ектопаразитарних захворювань риб [7], однак впровадження препарату у виробництво є неможливим без всебічного вивчення його впливу на організм риб.

Метою експерименту було дослідження хронічної токсичності бровермектин-грануляту™ та виявлення ступеня шкідливої дії його за умов тривалого введення у різних дозах.

Матеріали і методи. Досліди з хронічної токсичності виконували на однорічках коропа в акваріумах, ємністю 40 дм³, за температури води 21,0±2,0 °С, рН 7,5 і вмісту O₂ — 6,4-7,0 мг/л. Дослідження виконували на 24 рибах. Із них було сформовано чотири аналогічні групи по шість риб у кожній. Риби адаптувалися протягом 14 діб. Препарат вводили перорально щодобово, до годівлі. Упродовж досліду спостерігали за клінічним станом та поведінкою риб.

Бровермектин-гранулят вводили у терапевтичній, 1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀ дозах у формі гомогенної суспензії, виготовленої на 1 %-му розчині крохмалу індивідуально (табл.1). Після введення препарату спостереження за рибами проводили протягом 15 діб, враховуючи їх загальний стан, рухливість і чутливість. Для визначення хронічної токсичності визначали гематологічні показники [4], загальний білок сироватки крові та фракційний склад [3, 4], лейкоцитарний профіль крові [2], загальну кількість Т-лімфоцитів і кількість окремих їх субпопуляцій, а також кількість В-лімфоцитів [6].

Активність аспарат- (АсАТ-К.Ф.2.6.1.1) і аланін-амінотрансфераз (АлАТ-К.Ф.2.6.1.2) в тканинах встановлювали за методом Райтмана–Френкеля [5].

Таблиця 1

Дози препарату, які використовували у хронічному досліді

| Групи тварин | Дози препарату (мг/кг) |
|------------------------------|------------------------|
| I (контрольна) | - |
| II (терапевтична) | 120 |
| III (1/25 DL ₅₀) | 450 |
| IV (1/10 DL ₅₀) | 1100 |

Результати й обговорення. При пероральному введенні однорічкам коропа бровермектин-грануляту™ у терапевтичній дозі 120 мг/кг на 15-у добу загальна маса тіла риб була на 1,8 % вищою, порівняно з рибами контрольної групи, водночас відмічали зростання загального та середньодобового приростів на 7,4 % (табл. 2).

Таблиця 2

Маса тіла та прирости маси тіла однорічок коропа при введенні бровермектин-грануляту™, г (M±m, n=6)

| Групи риб | Маса тіла | | | | Приріст маси тіла | | |
|-----------|--------------------|---------------------|------------------------|---------------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | на початку досліді | | на 15-ту добу введення | | Загальний за 15 діб, по групі | середньодобовий у перерахунку на: | |
| | загальна по групі | середня однієї риби | загальна по групі | середня однієї риби | | всіх риб групи | однієї риби з групи |
| I | 273,0 | 45,5±2,22 | 422,4 | 70,4±3,52 | 149,4 | 9,96 | 1,66 |
| II | 268,8 | 44,8±1,94 | 430,2 | 71,7±1,62 | 161,4 | 10,76 | 1,79 |
| III | 271,8 | 45,3±2,04 | 413,4 | 68,9±2,69 | 141,6 | 9,44 | 1,57 |
| IV | 264,6 | 44,1±1,88 | 403,8 | 67,3±2,74 | 139,2 | 9,28 | 1,54 |

При аналізі гематологічних показників однорічок коропа на 15-ту добу введення бровермектин-грануляту™ встановлено вірогідне зменшення кількості еритроцитів на 27,6 % та 30,5 % (p<0,05) при введенні препарату відповідно у дозах 1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀. В однорічок коропа відмічали незначне зниження вмісту гемоглобіну, проте вірогідні зміни встановлено тільки у четвертій дослідній групі на 7,9 % (p<0,05) (табл. 3).

У досліді встановлено вірогідне зниження кількості лейкоцитів у третій та четвертій дослідних групах при введенні препарату у дозах 1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀, відповідно, на 14,9 (p<0,05) та 20,9 % (p<0,05).

Дослідження величин гематологічних показників за довготривалого введення однорічкам коропа бровермектин-грануляту™ вказують на незначну інтоксикацію організму. Визначена еритроцитопенія та лейкоцитопенія свідчать про інгібуючу дію препарату на кровотворні органи.

Таблиця 3

Показники крові однорічок коропа на 15-ту добу після введення бровермектин-грануляту™ (M±m, n=6)

| Показники | Групи риб | | | |
|-----------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | I | II | III | IV |
| Еритроцити, Т/л | 1,74±0,14 | 1,64±0,11 | 1,26±0,09* | 1,21±0,10* |
| Гемоглобін, г/л | 88,62±2,32 | 87,45±2,87 | 84,56±3,43 | 81,64±1,43* |
| Гематокрит, л/л | 0,342±0,05 | 0,349±0,07 | 0,324±0,04 | 0,337±0,08 |
| Лейкоцити, С/л | 29,65±1,52 | 25,92±1,14 | 25,24±1,12* | 23,44±1,78* |

Примітка: * – p<0,05.

Аналіз лейкоцитарного профілю однорічок коропа показав, що за тривалого введення бровермектин-грануляту™ в дозах 1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀ у лейкограмі відзначалося вірогідне зменшення, порівняно до контролю, кількості еозинофілів на 25,7 (p<0,05) та 33,5 % (p<0,05) (табл. 4). Водночас відмічали зниження числа паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів, однак вірогідні значення було встановлено тільки при застосуванні дози 1/10 DL₅₀, відповідно, на 20,5 (p<0,05) та 24,5 % (p<0,05). У четвертій дослідній групі риб встановлено зниження кількості базофілів на 32,9 % (p<0,05). Також виявлена тенденція до незначного збільшення кількості лімфоцитів за перорального введення однорічкам коропа бровермектин-грануляту™.

Таблиця 4

Лейкограма однорічок коропа на 15-ту добу після введення бровермектин-грануляту™ (M±m, n=6)

| Показники | Групи риб | | | |
|---------------------------|------------|------------|------------|------------|
| | I | II | III | IV |
| Еозинофіли | 2,45±0,23 | 2,58±0,52 | 1,82±0,14* | 1,63±0,22* |
| Паличкоядерні нейтрофіли | 3,42±0,16 | 3,40±0,21 | 2,98±0,26 | 2,72±0,24* |
| Сегментоядерні нейтрофіли | 0,98±0,08 | 0,95±0,07 | 0,79±0,11 | 0,74±0,07* |
| Базофіли | 2,52±0,24 | 2,64±0,29 | 1,92±0,25 | 1,69±0,12* |
| Моноцити | 4,89±0,47 | 4,92±0,79 | 3,26±0,62 | 3,05±0,42 |
| Лімфоцити | 85,74±3,42 | 85,51±3,24 | 89,23±3,85 | 90,17±3,72 |

Примітка: * – p<0,05.

Встановлена лейкопенія внаслідок дії бровермектин-грануляту вказує на інгібуючу дію препарату на кровотворні органи, та про зниження реактивності організму. Зокрема, нейтропенія свідчить про пригнічення функції кісткового мозку, а зменшення кількості еозинофілів, базофілів та моноцитів, на тлі лейкопенії слід вважати ознакою порушення імунного стану організму. Про зниження захисних сил організму вказує також виявлений лімфоцитоз на тлі лейкопенії та еозинопенії, що свідчить про перехід гострого процесу в хронічний.

Аналіз біохімічних показників крові однорічок коропа показав, що в сироватці крові риб четвертої групи, яким вводили бровермектин-грануляту™ у найвищій 1/10 DL₅₀ дозі, встановлено вірогідне зниження рівня загального білка на 18,7 % (p<0,05) (табл. 5).

Встановлено вірогідне збільшення відсотку альбумінів на 8,1 (p<0,05) і 4,2 % (p<0,05) та зменшення рівня глобулінів на 9,6 (p<0,05) і 8,9% (p<0,05) за введення препарату в дозах 1/25 DL₅₀ та 1/10 DL₅₀, відповідно. Встановлено вірогідне зменшення вмісту γ-глобулінів на 25,1 (p<0,05), 36,7 (p<0,01) і 29,1 % (p<0,05) за введення препарату, відповідно, у терапевтичній, середній і найвищій дозах. Рівень β-глобулінів характеризувався загальною тенденцією до зниження у всіх дослідних групах.

Таблиця 5

Рівень білка і його фракцій у сироватці крові однорічок коропа на 15-у добу після введення бровермектин-грануляту™, % (M±m, n=6)

| Показники | Групи риб | | | | |
|----------------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|
| | I | II | III | IV | |
| Білок загальний, г/% | 42,35±2,46 | 44,51±2,48 | 39,85±2,65 | 34,42±1,78* | |
| Альбуміни | 52,32±1,03 | 55,61±1,29 | 56,92±1,12* | 54,59±1,35* | |
| Глобуліни | 47,68±1,14 | 44,39±1,08 | 43,08±1,15* | 43,42±1,05* | |
| Глобуліни | α | 20,49±1,22 | 21,18±1,54 | 20,23±1,24 | 21,18±2,04 |
| | β | 17,52±1,12 | 15,96±0,87 | 16,73±1,05 | 15,37±0,92 |
| | γ | 9,67±0,72 | 7,25±0,58* | 6,12±0,85** | 6,86±0,76* |
| А/Г коефіцієнт | 1,09 | 1,25 | 1,32 | 1,25 | |

Примітка: тут і в наступних таблицях: * – p<0,05; ** – p<0,01.

Проведені нами дослідження, результати яких наведені у таблиці 6, показали, що активність амінотрансфераз у гепатопанкреасі і скелетних м'язах та зябрах коропа дещо змінюється за тривалого введення бровермектин-грануляту™. Зокрема, активність АЛАТ та АсАТ в гепатопанкреасі, скелетних м'язах та зябрах однорічок коропа 3-ї та 4-ї груп зростала, порівняно з контрольною групою.

Таблиця 6

Активність амінотрансфераз у тканинах однорічок коропа на 15-ту добу дослідження після введення бровермектин-грануляту™ (M±m, n=6)

| Показники | Групи риб | | | |
|--------------------------|----------------|-------------|-------------|-------------|
| | I | II | III | IV |
| | Гепатопанкреас | | | |
| АЛАТ, мкмоль/г ткан./год | 114,52±5,42 | 112,34±6,72 | 115,76±5,46 | 117,95±5,57 |
| АсАТ, мкмоль/г ткан./год | 158,54±5,76 | 154,59±5,37 | 157,63±4,52 | 162,73±5,32 |
| | Скелетний м'яз | | | |
| АЛАТ, мкмоль/г ткан./год | 221,76±6,46 | 220,34±5,87 | 224,46±6,21 | 227,28±5,85 |
| АсАТ, мкмоль/г ткан./год | 250,90±8,06 | 259,82±5,46 | 272,90±6,57 | 273,68±8,90 |
| | Зябра | | | |
| АЛАТ, мкмоль/г ткан./год | 162,34±5,72 | 160,25±6,14 | 168,75±5,58 | 172,95±5,37 |
| АсАТ, мкмоль/г ткан./год | 208,35±7,95 | 206,89±6,84 | 212,58±7,64 | 216,47±6,52 |

За тривалого введення бровермектин-грануляту™ відмічали вірогідне зменшення кількості загальних Т-лімфоцитів у 4-й дослідній групі риб на 15,6 % (p<0,05) (табл. 7).

Таблиця 7

Кількість Т- і В лімфоцитів у крові однорічок коропа на 15-ту добу після введення бровермектин-грануляту™, % (M±m, n=6)

| Показники | Групи риб | | | |
|--------------------------|------------|------------|------------|--------------|
| | I | II | III | IV |
| Загальні Т-лімфоцити, % | 46,52±2,23 | 45,52±2,42 | 42,23±1,64 | 39,24±2,32* |
| Активні Т-лімфоцити, % | 42,18±1,17 | 43,85±1,34 | 40,42±1,14 | 40,32±1,21 |
| Т-лімфоцити хелпери, % | 36,87±1,32 | 37,62±1,45 | 34,52±1,17 | 29,23±1,18** |
| Т-лімфоцити супресори, % | 9,65±0,86 | 7,90±0,57 | 7,71±0,62 | 10,01±1,03 |
| В-лімфоцити, % | 27,92±1,12 | 28,34±1,21 | 28,57±1,14 | 30,12±0,97 |

У дослідних риб 3-ї та 4-ї групи відмічали незначне зниження кількості Т-хелперів на 6,4 та 20,7 % (p<0,01), відповідно. Максимальну кількість Т-супресорів у крові, яка незначно перевищувала контрольні значення, встановлено у риб 4-ї групи. Водночас відмічали незначне зростання кількості В-лімфоцитів. При аналізі наведених у таблиці даних звертає на себе увагу нижча функціональна активність системи Т-лімфоцитів крові у однорічок коропа 3-ї та 4-ї групи дослідних груп.

Отже, незначні коливання показників крові у дослідних груп риб, порівняно до контрольної, може вказувати на компенсаторні процеси, які проходять в організмі у відповідь на дію препарату.

ВИСНОВКИ

Дослідженнями хронічної токсичності протипаразитарного препарату бровермектин-грануляту™ за умови застосування однорічкам коропа в дозі 1/10 DL₅₀ протягом 15 діб встановлено вірогідні зниження кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, лейкоцитів, еозинофілів, паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів та базофілів, загального білка

($p < 0,05$), підвищення вмісту альбумінів та зниження глобулінів ($p < 0,05$), зменшення продукції загальних Т-лімфоцитів ($p < 0,05$) і Т-лімфоцитів хелперів ($p < 0,01$).

Перспективи подальших досліджень. Планується проведення експериментів щодо вивчення зворотного відновлення процесів обміну речовин та їх функцій за тривалого застосування препарату бровермектин-гранулят™.

DEFINITION OF CHRONIC TOXICITY OF BROVERMECTIN-GRANULATE™ ON EARLING CARP

Y. V. Loboiko, V. V. Stybel

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyj

S U M M A R Y

As a result the study of toxic effects of brovermectin-granulate™ provided daily basis putting it of earling carp for 15 days found minor variations of the studied parameters, provided the drug at doses higher than therapeutic (1/25 DL₅₀ and 1/10 DL₅₀). In particular noted the significant reduction in the number of erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, neutropenia, eosinopenia and lymphocytosis. Installed the effect of the drug on protein metabolism (decrease in total protein, elevated levels of albumin, decreased β - and γ -globulins). There were no significant changes in activity of aminotransferase in hepatopancreas, gills and skeletal muscles of carp. The results indicate a decrease in total production of T-lymphocytes, which play a key role in the immune defense of the carp organism.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА БРОВЕРМЕКТИН-ГРАНУЛЯТ™ НА ОДНОГОДКАХ КАРПА

Ю. В. Лобойко, В. В. Стибель

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий
имени С. З. Гжицкого

А Н Н О Т А Ц И Я

В результате изучения токсического действия бровермектин-гранулята™ в условиях ежедневного введения его одногодкам карпа в течение 15-ти суток установлены незначительные колебания исследуемых показателей при применении препарата в дозах выше терапевтической (1/25 DL₅₀ и 1/10 DL₅₀). Отмечено незначительное снижения количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, нейтропению, эозинопению и лимфоцитоз. Установлено влияние препарата на обмен белков (снижение общего белка, повышение содержимого альбуминов, снижение β - и γ -глобулинов). Не выявлено существенных изменений относительно активности аминотрасфераз в гепатопанкреасе, скелетных мышцах и жабрах карпа. Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении продукции общих Т-лимфоцитов, клеток, которые играют ключевую роль в системе иммунной защиты организма карпа.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Биологические препараты и химические вещества в аквакультуре / [Давыдов О. Н., Абрамов А. В., Куровская Л. Я. и др.]; під ред. Н. С. Мандигри. — К. : Логос, 2009. — 307 с.
2. *Иванова Н. Т.* Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб / Иванова Н. Т. — М., 1983. — 184 с.

3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / [И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко и др.]; под ред. И. П. Кондрахина. — М.: Колос, 2004. — 520 с.
4. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / [Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др.]; под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
5. *Осадчая Л. М.* Определение активности аминотрансфераз в тканях: Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. — С. 246–250.
6. *Новиков Д. К.* Клеточные методы иммунодиагностики / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. — Минск: Здоровье, 1979. — 286 с.
7. *Лобойко Ю. В.* Ефективність застосування бровермектин-грануляту™ за лернеозної інвазії коропа та його вплив на гематологічні показники риб / Ю. В. Лобойко, А. В. Березовський, В. В. Стибель // Міжвідомчий тематичний науковий збірник Ветеринарна медицина. — Алушта, 2011. — В. 95. — С. 366–367.