

ВИЗНАЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРОТИПРОТОЗОЙНОГО І ПРОТИМІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ ТА СУБСТАНЦІЇ, З ЯКОЇ ЙОГО ВИГОТОВЛЕНО

І. П. Патерега

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

У проведених дослідках встановлено, що препарат інтезол 0,5 % не проявляв у білих щурів кумулятивних властивостей. Коефіцієнт кумуляції за тестом “субхронічної токсичності” є більшим 5,3 одиниць. За 20-добового введення препарату у наростаючих дозах спостерігається достовірне збільшення коефіцієнту маси печінки, вірогідне зменшення креатиніну та підвищення рівня сечовини.

В Україні реєструють і виготовляють багато препаратів для ветеринарної медицини, у тому числі протозойних. Одним з таких препаратів є інтезол 0,5 % (0,5 % розчин метронідазолу високої очистки (99,9 %) фірми “ІНТЕК-К”, який пропонується для профілактики та лікування протозойних і бактерійних інфекцій великої рогатої худоби, овець і свиней. Однак, внаслідок застосування відповідних розчинників невідомий токсичний вплив новоствореної лікарської форми. Багаторазове введення в організм тварин лікарської речовини може призвести до нагромадження її у тканинах організму, тому знання кумулятивних властивостей речовин або умов, які можуть призвести до кумуляції, особливо важливі для розуміння патогенезу інтоксикації, бо це явище часто лежить в основі гострих і хронічних отруєнь [1]. Отже, вивчення кумулятивної дії інтезолу 0,5 % та субстанції для його виготовлення — метронідазолу дасть змогу прогнозувати токсичну дію препарату та виникнення хронічного отруєння.

Метою роботи було визначення кумулятивних властивостей препарату інтезол 0,5 % та субстанції для його виготовлення — метронідазолу на білих щурах.

Матеріали і методи. Властивості препаратів щодо кумуляції вивчали на білих щурах-самцях, 2–3-місячного віку, масою 170–185 г по 6 тварин у дослідних і контрольній групах. Для визначення ступеня кумуляції препарату використали метод-тест “субхронічної токсичності” за К. С. Лімом із співавторами у модифікації К. К. Сидорова [1–3]. Щурам інтезол 0,5 % вводили підшкірно (згідно з настановою по використанню), щодобово, починаючи з дози 2500 мг/кг (0,25 мл/кг), яка відповідно становила 1/10 DL₅₀, з послідовним збільшенням дози у 1,5 рази через кожні 4 доби. Субстанцію метронідазолу (метронідазол) білим щурам вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда щодобово, починаючи з дози 825 мг/кг, яка відповідно становила 1/10 DL₅₀, з послідовним збільшенням дози у 1,5 рази через кожні 4 доби. Дозу 1/10 DL₅₀ було визначено при проведенні дослідження гострої токсичності інтезолу 0,5 % та субстанції для його виготовлення — метронідазолу на білих щурах [4].

Під час вказаних досліджень враховували загальний стан і загибель лабораторних тварин та, залежно від дози препарату, вираховували коефіцієнт кумуляції за формулою, яку запропонували Ю. С. Каган і В. В. Станкевич [1–3]:

$$K_{\text{кум}} = \text{DL}_{50 \text{ н}} : \text{DL}_{50 \text{ 1}}$$

де: $K_{\text{кум}}$ — коефіцієнт кумуляції, $\text{DL}_{50 \text{ н}}$ та $\text{DL}_{50 \text{ 1}}$ — середні смертельні дози за багаторазового та одноразового введення, відповідно.

Сумарну введену середню дозу препарату на одну дослідну тварину визначали за

К. К. Сидоровим [2, 3].

Масу тіла визначали зважуванням перед початком досліду, на 9 (для метронідазолу) і 21 (для інтезолу 5 %) доби введення препаратів. Для вивчення впливу препаратів на організм на 9 (для метронідазолу) і 21 (для інтезолу 5 %) після введення щурів декапітували, за умов легкого ефірного наркозу, та, за визнаними методиками, відбирали кров для проведення гематологічних, біохімічних і імунологічних досліджень; відділяли і зважували внутрішні органи, визначали їх коефіцієнти маси [1]. Отримані показники порівнювали з даними контролю.

Результати й обговорення. При дослідженні кумулятивних властивостей інтезолу 0,5 % за методом “субхронічної токсичності” загибелі тварин дослідної і контрольної груп впродовж усього досліду не було, тобто, коефіцієнт кумуляції є більшим 5,3 одиниці, а це за даною методикою свідчить про відсутність кумулятивних властивостей препарату [2, 3]. На 21 добу, використовуючи ефірний наркоз, білі щури були виведені з досліду. При зважуванні тварин встановлено, що показники маси тіла щурів дослідної (183,7±7,81 г) і контрольної групи (183,2±7,98 г) були однакові.

Аналізуючи результати визначення коефіцієнтів внутрішніх органів тварин, які отримували інтезол 0,5 % встановлено лише достовірне ($P < 0,05$) збільшення коефіцієнту маси печінки на 18,2 % у порівнянні до контролю (табл. 1).

Таблиця 1

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 21 добу при вивченні властивостей інтезолу 0,5 % щодо кумуляції ($M \pm m, n = 12$)

Органи	Група тварин	
	дослідна	контрольна
Серце	3,98±0,77	3,49±0,15
Селезінка	5,91±0,66	4,25±0,61
Нирка права	3,36±0,13	3,17±0,11
Нирка ліва	3,25±0,17	3,05±0,11
Печінка	42,82±2,33*	36,22±0,32
Легені	9,38±0,77	7,43±0,62

Примітка: у цій і наступних таблицях: ступінь вірогідності до контролю * — $p < 0,05$

Серед гематологічних показників виявлена лише тенденція, порівняно з контролем, до зниження рівня гемоглобіну та кількості лейкоцитів, а у лейкограмі — тенденція до збільшення кількості еозинофілів та моноцитів. Серед біохімічних показників крові виявлено вірогідне ($P < 0,05$) зменшення креатиніну на 16,9 % та підвищення рівня сечовини — на 19,3 % (табл. 2).

Таблиця 2

Біохімічні показники сироватки крові білих щурів на 21 добу при вивченні властивостей інтезолу 0,5 % щодо кумуляції (хронічний дослід) ($M \pm m, n = 12$)

Показники	Групи тварин	
	Дослідна	контрольна
Загальний білок, г/л	68,4±5,69	69,4±1,33
АЛТ, Од/л	62,2±3,08	68,7±4,30
АСТ, мккат/л	221,7±18,49	221,4±5,04
ЛФ, мккат/л	233,5±49,79	233,2±26,81
Сечовина, ммоль/л	9,9±0,59*	8,3±0,55
Креатинін, мкмоль/л	64,6±3,72*	77,7±1,71

Таким чином, при визначенні кумулятивних властивостей інтезолу 0,5 % за методом “субхронічної токсичності” встановлено, що коефіцієнт кумуляції є більшим 5,3 одиниці, спостерігається достовірне збільшення коефіцієнту маси печінки, вірогідне

зменшення креатиніну та підвищення рівня сечовини.

При дослідженні кумулятивних властивостей метронідазолу за метод-тестом “субхронічної токсичності” встановлено, що перша тварина загинула на 8 добу від початку введення препарату, а решту дослідних тварин були різко пригнічені, не реагували на тактильні, світлові та звукові подразники. Зважуванням встановлено достовірне зменшення ($P < 0,05$) маси тіла дослідних тварин ($157,6 \pm 6,63$ г) у порівнянні з контролем ($179,4 \pm 8,04$ г).

При патологоанатомічному розтині щурів, встановлено: легені запалені, дещо збільшені, де-не-де червоного кольору, на розрізі виділялася кров'янисто-піниста рідина. Серце заокругленої форми, передсердя заповнені згустками крові, коронарні судини розширені. На кишечнику з серозної поверхні крапкові крововиливи. Печінка в'ялої консистенції, темно-вишневого кольору, повнокровна. Нирки темно-вишневого кольору, в'ялої консистенції. Селезінка темно-вишневого кольору, краї заокруглені. Очеревина гладенька, блискуча, волога. Отже, при патоморфологічному дослідженні щурів за внутрішньошлункового введення метронідазолу макроскопічно встановлено застійну гіперемію і вогнищевий набряк легень, розширення правої половини серця та застійну гіперемію печінки, нирок і селезінки, катарально-геморагічний ентерит, коліт.

Використавши метод-тест “субхронічної токсичності” встановили, що метронідазол викликав загибель щурів від повторно введеної дози, яка сумарно складала на одну тварину 10105,5 мг/кг. Згідно з формулою, $K_{\text{кум}}$ становив: $K_{\text{кум}} = 10105,5 : 825 = 1,2$ одиниці.

Аналізуючи результати визначення коефіцієнтів внутрішніх органів тварин, які отримували метронідазол, встановлено достовірне ($P < 0,05$) збільшення коефіцієнту маси печінки на 7,3%, правої нирки на 13,8 %, лівої нирки на 16,0 % та достовірне ($P < 0,05$) зменшення коефіцієнту маси серця на 23,2 % і легень — на 29,4 % (табл. 3).

Таблиця 3

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 10 добу при вивченні властивостей метронідазолу щодо кумуляції ($M \pm m, n = 12$)

Органи	Група тварин	
	Дослідна	Контрольна
Серце	$3,12 \pm 0,11^*$	$4,06 \pm 0,35$
Селезінка	$4,70 \pm 0,55$	$4,35 \pm 0,15$
Нирка права	$3,78 \pm 0,07^*$	$3,26 \pm 0,20$
Нирка ліва	$3,87 \pm 0,07^*$	$3,25 \pm 0,15$
Печінка	$38,17 \pm 1,33^*$	$35,4 \pm 1,27$
Легені	$6,54 \pm 0,51^*$	$9,26 \pm 2,16$

Серед гематологічних показників виявлена лише тенденція, порівняно з контролем, до збільшення рівня гемоглобіну та кількості лейкоцитів, а у лейкограмі — тенденцію до збільшення кількості моноцитів, та зниження еозинофілів.

Серед біохімічних показників крові виявлено вірогідне ($P < 0,01$) зниження активності лужної фосфатази на 45,2 % та лише тенденцію до збільшення загального білку, АЛТ, АСТ, сечовини і зниження креатиніну (табл. 4).

Таблиця 4

Біохімічні показники сироватки крові білих щурів на 10 добу при вивченні властивостей метронідазолу щодо кумуляції (хронічний дослід) ($M \pm m, n = 12$)

Показники	Групи тварин	
	дослідна	контрольна
Загальний білок, г/л	$77,0 \pm 2,99$	$72,9 \pm 4,22$
АЛТ, Од/л	$75,0 \pm 8,19$	$64,8 \pm 0,26$
АСТ, мккат/л	$247,9 \pm 27,69$	$195,0 \pm 24,20$
ЛФ, мккат/л	$165,2 \pm 16,13^{**}$	$301,5 \pm 30,0$
Сечовина, ммоль/л	$11,1 \pm 0,43$	$9,97 \pm 0,59$
Креатинін, мкмоль/л	$70,7 \pm 2,29$	$74,7 \pm 2,92$

Примітка: ступінь вірогідності до контролю $**$ — $p < 0,01$

Отже, при визначенні кумулятивних властивостей метронідазолу за метод-тестом “субхронічної токсичності” встановлено, що коефіцієнт кумуляції становить 1,2 одиниці (загибель тварин почалась на 8 добу досліду), спостерігається достовірне збільшення коефіцієнту маси печінки, нирок, вірогідне зменшення коефіцієнту маси серця і легень, зменшення активності лужної фосфатази.

В И С Н О В К И

1. Препарат інтезол 0,5 % не проявляв у білих мишей кумулятивних властивостей. Коефіцієнт кумуляції за тестом “субхронічної токсичності” за підшкірного введення є більшим 5,3 одиниць.

2. За підшкірного введення впродовж 20 діб, при вивченні кумулятивних властивостей інтезолу 0,5 %, встановлено достовірне збільшення коефіцієнту маси печінки, вірогідне зменшення креатиніну та підвищення рівня сечовини.

3. Коефіцієнт кумуляції за тестом “субхронічної токсичності” за внутрішньошлункового введення метронідазолу становить 1,2 одиниці.

4. При вивченні кумулятивних властивостей метронідазолу встановлено достовірне збільшення коефіцієнту маси печінки, нирок, вірогідне зменшення коефіцієнту маси серця і легень, зменшення активності лужної фосфатази.

Перспективи подальших досліджень. Для повнішої токсикологічної характеристики доцільно провести дослідження щодо віддалених наслідків дії препарату інтезол 0,5 % на організм тварин.

DETERMINATION OF CUMULATIVE PECULIARITIES OF ANTIPROTOZOAL AND ANTIMICROBIAL MEDICINAL PRODUCT AND ITS SUBSTANCE

I. P. Patereha

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

S U M M A R Y

The conducted test showed that medicinal product Intezol 0,5 % did not demonstrate cumulative peculiarities in white rats. The cumulation coefficient according to test “subchronic toxicity” is higher than 5,3 units. The administration of medicinal product during 20 days in increasing doses shows possible increase of *weight coefficient* of the *liver*, possible decrease of creatinine levels and increase of urine level.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ АНТИПРОТОЗОЙНОГО И ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА И СУБСТАНЦИИ, ДЛЯ ЕГО ПРОИЗВОДСТВА

И. П. Патерега

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

В проведенных опытах установлено, что препарат интезол 0,5 % у белых крыс не проявлял кумулятивных свойств. Коэффициент кумуляции за тестом “субхронической токсичности” больше 5,3 единиц. Введения препарата в возрастающих дозах на протяжении 20-ти суток вызывает достоверное увеличение коэффициента массы печени, достоверное уменьшение креатинина и повышение уровня мочевины.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега та ін.; За ред. І. Я. Коцюмбаса. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.
2. 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.
3. 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.
4. Патерега І. П. Дослідження гострої токсичності метронідазолу та протипротозойного і протимікробного препарату на його основі // НТБ Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів. 2013. — Вип. 14, № 3, 4.— С. 189–192.