

ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТЕБУКОНАЗОЛУ ДЛЯ ПЕРЕПЕЛІВ САМЦІВ

Р. В. Доценко, канд. вет. наук, пр. н. с.

Національний науковий центр
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61000, Україна

У статті наведено результати визначення гострої токсичності тебуконазолу для перепелів за одноразового перорального введення. Клінічна картина отруєння у перепелів характеризувалася ступором – птиця сиділа на одному місці та порушенням координації рухів, що проявлялось у хиткій ході та падінні на бік. Загибель птиці відбувалася протягом перших чотирьох діб після введення тебуконазолу. Патологоанатомічна картина за гострого отруєння, характеризувалася кровонаповненням серця, судин внутрішніх органів та печінки; катарально-геморагічним запаленням слизової оболонки дванадцятипалої кишки. За результатами досліджень встановили, що DL_{50} тебуконазолу, за одноразового перорального введення перепелам самцям складає $825,55 \pm 93,76$ мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведем (1987) та ДСП 8.8.1.2.002-98, до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки).

Ключові слова: ТЕБУКОНАЗОЛ, ПЕРЕПЕЛИ, ГОСТРЕ ОТРУЄННЯ, DL_{50} .

Перепільництво – важлива галузь птахівництва, яка з кожним роком демонструє постійне зростання обсягів вирощування яєць та м'яса птиці. В Україні на сьогоднішній день налічується більше 5 млн. перепелів, а обсяги виробництва яєць становлять приблизно 500 млн. штук на рік [1].

Невід'ємною складовою технології вирощування сільськогосподарської птиці є застосування високопоживних безпечних та якісних кормів [2]. Широке застосування пестицидів у сільському господарстві обумовлює їх потрапляння до раціону птиці, що призводить до негативного впливу на метаболічні процеси організму, і, як наслідок, зниження продуктивності та потрапляння залишкових кількостей пестицидів до яєць і м'яса [3, 4].

Визначення гострої токсичності пестицидів призначено для одержання первинної інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини. Метою проведення дослідів зі встановлення гострої токсичності є класифікація речовин, яка виражається показником середньої летальної дози (DL_{50}), що визначається як статистично вірогідна доза речовини, від якої може загинути 50 % тварин експериментальної групи [5]. Тому, метою нашої роботи було визначити гостру токсичність тебуконазолу на моделі перепелів техаських.

Матеріали і методи. В експериментах використовували препаративну форму тебуконазолу концентрацією 250 г/дм³, яка використовується як системний фунгіцид з рід регулюючими властивостями для захисту зернових культур [3]. Експерименти були проведені на 91 самці перепелу техаського, середньою масою $200,0 \pm 20,0$ г, яких утримували за оптимальних умов віварію. Птиця мала вільний доступ до води та корму [6, 7].

У попередньому досліді за принципом аналогів було сформовано 4 дослідні групи, яким вводили тебуконазол у формі водної емульсії в дозах – 200, 1000, 2000 і 3000 мг/кг маси тіла, відповідно ($n=7$). В основному експерименті, за принципом аналогів було сформовано 7 дослідних груп птиці. Тебуконазол застосовували в дозах – 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 і 1400 мг/кг маси тіла відповідно ($n=7$). Також було сформовано дві контрольні групи птиці. У кожній групі було по 7 перепелів.

Експерименти проводили відповідно до існуючих нормативних документів, що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотримання принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) [8].

За клінічним станом дослідної птиці спостерігали упродовж 14 діб. Відмічали появу та розвиток клінічних ознак отруєння, терміни загибелі або відновлення стану організму до норми. Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин для виявлення макроскопічних змін в органах і тканинах [9].

За результатами загибелі птиці вираховували DL_{50} , DL_{16} , DL_{84} , DL_{100} та похибку DL_{50} методом пробіт-аналізу в модифікації В. Б. Прозоровського. Токсикометричні параметри розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Були визначені відсоток летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z). Для побудови графіка, обчислення DL_{50} та її помилки використовували формулу прямої пропорційної залежності [5].

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакету програм StatPlus 5.9.8.5 і представлені у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівня довірчої ймовірності 95 %.

Результати й обговорення. За умов проведення попереднього дослідження встановили, що одноразове внутрішньошлункове введення водної емульсії тебуконазолу перепелам I дослідної групи не викликало змін клінічного стану птиці. Птиця була активною, добре реагувала на зовнішні подразники, активно споживала корм і воду. Загибель птиці відмічали у II–IV групах протягом перших трьох діб після введення тебуконазолу (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка загибелі перепелів у попередньому досліді визначення гострої токсичності тебуконазолу (n=7)

Термін загибелі птиці	Групи птиці та дози пестициду, мг/кг маси тіла				
	Контроль	I (200,0)	II (1000,0)	III (2000,0)	IV (3000,0)
0 – 3 год	–	–	–	1	2
3 – 12 год	–	–	1	1	2
12 – 24 год	–	–	2	2	1
2 доба	–	–	1	2	1
3 доба			1	1	1
4 – 14 діб			–	–	–
Усього загинуло	–	–	5	7	7

В основному досліді, під час спостереження за перепелами I дослідної групи, не відмічали картини гострого отруєння. У птиці II–VII дослідних груп протягом першої години після введення водної емульсії тебуконазолу реєстрували розвиток пригнічення, зниження реакції на зовнішні подразники. Протягом першої доби дослідження перепела знаходились у стані ступору та втрачали координацію рухів, що проявлялося в хиткій ході та падінні на бік. Фекалії у птиці були водянисті, білого кольору. У перші три доби у птиці реєстрували майже повну відмову від корму та води. Загибель самців перепелів відмічали протягом перших чотирьох діб після введення препарату (табл. 2).

У перепелів, що залишилися живими протягом перших трьох діб, спостерігали ступор, відсутність апетиту, виснаження, фекалії були водянистої консистенції білого кольору. На четверту – п'яту доби відмічали поступову нормалізацію стану птиці: клінічний стан характеризувався незначним пригніченням, перепела почали прийом корму та води. Починаючи з шостої доби, у птиці не виявляли ознак отруєння і в подальшому її загальний стан не відрізнявся від стану перепелів контрольної групи. Термін спостереження становив 14 діб.

Динаміка загибелі перепелів в основному досліді при визначенні гострої токсичності тебуконазолу (n=7)

Терміни загибелі птиці	Групи птиці та дози препарату, мг/кг маси тіла							
	контроль	I (200,0)	II (400,0)	III (600,0)	IV (800,0)	V (1000,0)	VI (1200,0)	VII (1400,0)
0 – 3 год	–	–	–	–	–	–	–	–
3 – 12 год	–	–	–	–	–	–	1	1
12 – 24 год	–	–	–	1	1	1	1	1
2 доба	–	–	1	–	1	1	3	1
3 доба	–	–	–	1	1	1	1	2
4 – 14 діб	–	–	–	–	–	1	1	2
Усього загинуло	–	–	1	2	3	4	7	7

Після загибелі перепелів проводили патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів птиці перед розтином: змін пір'яного покриву і видимих слизових оболонок не відмічали, реєстрували рідкі виділення з клоаки білого кольору. На розтині не реєстрували змін слизових оболонок ротової та носової порожнин, трахеї, глотки та стравоходу; у волі виявляли рідину, в ділянці вола відмічали гіперемію підшкірної клітковини; реєстрували кровонаповнення серця; кров не згорнута; печінка – кровонаповнена, темно-вишневого кольору, жовчний міхур – наповнений жовчю; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки – коричневого кольору, збільшені в об'ємі; на слизовій оболонці залозистого шлунку – білий наліт, м'язовий шлунок – порожній; судини брижі тонкого кишечника кровонаповнені, в дванадцятипалій кишці та тонкому кишечнику – катарально-геморагічне запалення слизової оболонки.

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик тебуконазолу було визначення середньолетальної дози DL_{50} та її стандартної похибки, а також DL_{16} , DL_{84} , DL_{100} .

Середньолетальну дозу (DL_{50}) розраховували методом графічного пробіт-аналізу. Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз (мг/кг), а на осі ординат – значення ефекту (%). Графічне зображення кривої, що характеризує залежність «доза-ефект» для самців перепелів відображено на рисунку.

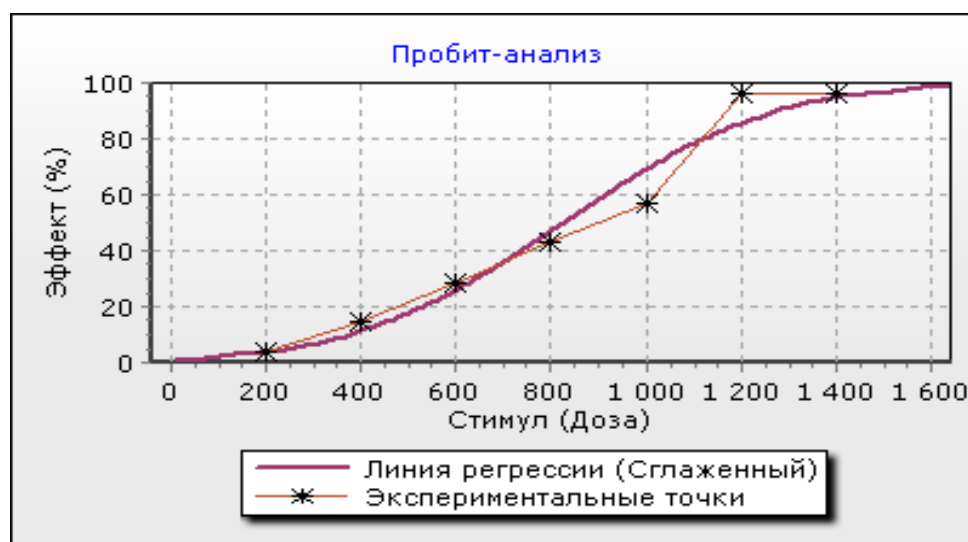


Рис. Крива летальності перепелів за умов одноразового введення тебуконазолу

За результатами досліджень встановили, що DL_{50} препарату за одноразового перорального уведення складає $825,55 \pm 93,76$ мг/кг, DL_{10} – 375,89 мг/кг, DL_{16} – 474,73 мг/кг, DL_{84} – 1176,37 мг/кг, DL_{90} – 1275,21 мг/кг, DL_{100} – 1351,79 мг/кг м. т., відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

**Результати обчислення летальних доз тебуконазолу
за умов одноразового перорального введення перепелам**

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
200	0,036	7	3,20	1,39
400	0,143	7	3,93	3,30
600	0,286	7	4,43	4,37
800	0,429	7	4,82	4,82
1000	0,571	7	5,18	4,82
1200	0,964	7	6,80	1,39
1400	0,964	7	6,80	1,39
Регресійна статистика				
LD_{50}	825,55	LD_{50} Стандартна похибка		93,76
LD_{10}	375,89	DL_{16}	474,73	
LD_{84}	1176,37	DL_{90}	1275,21	
LD_{100}	1351,79			

Отже, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведом [10, 11] та ДСП 8.8.1.2.002-98, тебуконазол за ступенем токсичності слід віднести до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки).

В И С Н О В К И

1. DL_{50} тебуконазолу, за одноразового перорального уведення перепелам самцям, складає $825,55 \pm 93,76$ мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки) згідно ДСП 8.8.1.2.002-98.

2. Гостре отруєння тебуконазолом самців перепелів техаських проявлялося ступором, зниженням реакції на зовнішні подразники, а також порушенням координації рухів. Загибель птиці настає протягом перших чотирьох діб після введення тебуконазолу. Патологоанатомічна картина характеризувалась: гіперемію підшкірної клітковини в області вола; кровонаповненням серця; печінка – кровонаповнена, темно-вишневого кольору, жовчний міхур – наповнений жовчю; нирки – коричневого кольору, збільшені в об'ємі; на слизовій оболонці залозистого шлунку – білий наліт, м'язовий шлунок – порожній; судини брижі тонкого кишечника кровонаповнені, в дванадцятипалій кишці та тонкому кишечнику – катарально-геморагічне запалення слизової оболонки.

Перспективи досліджень. Наступним етапом буде проведення досліджень щодо визначення параметрів токсикокінетики та токсикодинаміки тебуконазолу на перепелам.

ACUTE TOXICITY OF THE TEBUCONAZOLE IN QUAILS

R. Dotsenko

National Scientific Center
"Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine",
83, Pushkinska str., Kharkiv, 61000, Ukraine

S U M M A R Y

The aim of our work was to determine the acute oral toxicity of tebuconazole in quails model. Range of doses was defined in the preliminary experiment. Four test groups were

administered tebuconazole as aqueous emulsion in doses 200, 1000, 2000 and 3000 mg/kg of body weight. In the second experiment 7 groups of quails were formed for preparation application in doses 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 and 1400 of body weight. Also two control groups were formed. Each group had 7 quail ($n = 7$). Acute poisoning of quails with tebuconazole showed the following clinical symptoms: depression, lack of appetite, decreased reaction to external stimuli. The death of the birds observed during the first four days after administration of tebuconazole. Pathologic signs of acute poisoning characterized by increase in atrial and liver size, vessels of the internal organs were filled with blood. The DL_{50} value of tebuconazole after single oral treatment in male quail is $825,55 \pm 93,76$ mg/kg of body weight, which can be attributed to medium toxic substances (3st class of danger) in accordance with hygienic classification of pesticides by Medved L.I. (1987) and DSP 8.8.1.2.002-98.

Keywords: TEBUCONAZOLE, QUAIL, ACUTE POISONING, DL_{50} .

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ТЕБУКОНАЗОЛА НА САМЦАХ ПЕРЕПЕЛОВ

Р. В. Доценко

Национальный научный центр
«Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»,
ул. Пушкинская, 83, г. Харьков, 61000, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Цель нашей работы состояла в определении острой пероральной токсичности тебуконазола на модели перепелов самцов. В предварительном эксперименте был определен диапазон доз для основного эксперимента. Так четверым исследовательским группам вводили тебуконазол в форме водной эмульсии в дозах 200, 1000, 2000 и 3000 мг/кг массы тела. В основном эксперименте были сформированы 7 групп перепелов, которым вводили препарат в следующих дозах 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 и 1400 мг/кг массы тела. Кроме того, были сформированные две контрольные группы. Каждая группа состояла из 7 перепелов ($n = 7$). В условиях острого отравления перепелов тебуконазолом выявляли следующие клинические симптомы: ступор, отсутствие аппетита, снижение реакции на внешние раздражители. Гибель птицы отмечали на протяжении первых четырех суток после введения тебуконазола. Патологические признаки острого отравления характеризуется кровенаполнением сердца, печени и сосудов внутренних органов. Было установлено, что значение LD_{50} тебуконазола после однократного перорального введения для перепелов самцов составляет $825,55 \pm 93,76$ мг/кг массы тела, то есть тебуконазол можно отнести к средне токсичным веществам (3 класс опасности) согласно гигиеничной классификации пестицидов за Медведем Л.И. (1987) и ДСП 8.8.1.2.002-98.

Ключевые слова: ТЕБУКОНАЗОЛ, ПЕРЕПЕЛА, ОСТРОЕ ОТРАВЛЕНИЕ, DL_{50}

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Жеребов М. Є.* Перепільництво в Україні / М. Є. Жеребов // Ефективне птахівництво. – 2011. – № 8. – С. 34–38.
2. *Володкевич С. В.* Вплив різних чинників на продуктивність перепелів / С. В. Володкевич // Сучасне птахівництво. – 2013. – № 4. – С. 10–12.
3. Pesticide toxicology and international regulation / Timothy T. Marrs, Bryan Ballantyne // John Wiley & Sons, 2004. – 592 p.
4. *Ісаєнко В. М.* Основи екологічної токсикології / В. М. Ісаєнко – Київ: НАУ, 2007.— 67 с.

5. *Прозоровский В. Б.* Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – Вып. 3–4. – С. 2090–2120.
6. *Харчук Ю.* Разведение и содержание перепелов / Ю. Харчук // Ростов н/Д: Феникс, 2005. – 96 с. ISBN 5-222-07498-6.
7. US Environmental Protection Agency. Avian acute oral toxicity test / Washington, DC: 2012. Ecological effects test guidelines OCSPP 850.2100.
8. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. – 1986. – P. 1–29.
9. *Жаров А. В.* Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных / А.В. Жаров, И. В. Иванов, А. П. Стрельников. – М.: Колос, 2003. – 400 с.
10. *Медведь Л. И.* Гигиеническая классификация пестицидов по основным параметрам вредности / Л. И. Медведь, Ю. С. Каган, Е. И. Спыну // Ветеринарная токсикология. – М., 1987. – 187 с.
11. Державні санітарні правила і гігієнічні норми «Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності». ДСП 8.8.1.2.002-98.

Рецензент – А. П. Палій, д. вет. н., ННЦ «ІЕКВМ».