

## ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ «ТІМТИЛ<sup>TM</sup>–150»

А. В. Березовський, Т.І. Фотіна, Л.Г. Улько, В.В. Сенча

Сумський національний аграрний університет

*Препарат «ТімТил<sup>TM</sup>–150» при введенні в шлунок білим мишам у максимально допустимій кількості не викликає симптомів отруєння та відхилень у поведінці.  $DL_{50}$  при внутрішньочеревному введенні препарату «ТімТил<sup>TM</sup>–150» білим мишам становить 1,02 мл на 1 кг маси, що в десять разів перевищує терапевтичну дозу. Середньосмертельна доза ( $DL_{50}$ ) препарату «ТімТил<sup>TM</sup>–150» для білих мишей при підшкірному введенні становить 7,9 мл на 1 кг маси. Згідно з отриманими даними досліджень на щурах  $LD_{50}$  при підшкірному введенні становить 8,33 мл на 1 кг маси тіла.*

**Ключові слова:** ПРЕПАРАТ «ТІМТИЛ<sup>TM</sup>–150», ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, БІЛІ МИШІ, ЩУРИ, СЕРЕДНЬОСМЕРТЕЛЬНА ДОЗА

Можливості розвитку молочного тваринництва істотно обмежують хвороби викликані умовно-патогенною мікрофлорою, серед яких велику питому вагу займають мастити, ендометрити та хвороби кінцівок.

Найбільш часто у виникненні та розвитку гнійно-некротичних хвороб дистального відділу кінцівок значну роль відіграють умовно-патогенні та патогенні мікроорганізми *Escherichia*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium* та їх асоціації [1–3], що ускладнює перебіг хвороби і вибір ефективного лікарського засобу. Для лікування таких асоційованих інфекцій часто недостатньо використання монопрепаратів, тому що практично не існує антибіотиків активних проти всього спектру мікроорганізмів. Тому доцільно застосовувати комбіновані лікарські засоби, які володіють максимально широким спектром дії і активних у відношенні як первинного етіологічного фактора, так і відносно вторинної бактеріальної інфекції.

Одночасно зі збільшенням кількості антибактеріальних препаратів, що застосовуються у тваринництві, збільшується кількість збудників, стійких до антимікробних засобів. Застосування науково обґрунтованих комбінацій антибактеріальних речовин є важливим напрямком сучасної хіміотерапії бактеріальних інфекцій, що дозволяє не тільки подолати проблему антибіотикорезистентності, значно розширити спектр антимікробної дії.

Виходячи з аналізу даних вітчизняних і зарубіжних дослідників розробка зручного у застосуванні і безпечного комплексного антибактеріального препарату, використання якого дозволить підвищити ефективність лікування широкого спектру змішаних форм інфекційних захворювань тварин є актуальним питанням ветеринарної медицини.

### Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проведені у відповідності до вимог лікарсько-біологічний експерименту по підбору аналогів, постановці контролю, дотриманню

однакових умов годівлі та утримання під час проведення досліду та обліку результатів. Перед експериментами тварин витримували на протязі двох тижнів в карантинних умовах на стандартному раціоні. Для досліду тварин брали в експеримент після внутрішньогрупової адаптації.

Гостру токсичність експериментального препарату «ТімТил™–150» визначали відповідно до «Доклінічних досліджень ветеринарних лікарських засобів» (І.Я. Коцюмбас зі співавт., 2006). Досліди з визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™–150» при внутрішньошлунковому введенні проводили на білих мишах віком 2 місяці, масою 18-20 г. Для досліду було сформовано за принципом аналогів 11 груп білих мишей (10 дослідних і 1 контрольна) по 10 голів у кожній.

Препарат вводили зранку натще, внутрішньошлунково, одноразово за допомогою шприца з'єданого з голкою з тупим кінцем у дозах 0,5; 2,0; 3,5; 5,0; 6,5; 8,0; 9,5; 11,0; 12,5 та 14,0 мл на 1 кг маси. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин у дозі 14 мл на 1 кг маси.

Для досліду підібрали 15 груп білих мишей по 10 голів у кожній. ТімТил™–150 вводили у дозах від 0,1 до 1,5 мл на 1 кг маси з інтервалом між дозами 0,1 мл.

На наступному етапі визначення гострої токсичності препарат «ТімТил™–150» вводили внутрішньочеревно та підшкірно. Для досліду при внутрічеревному введенні препарату підібрали 15 груп білих мишей по 10 голів у кожній. ТімТил™–150 вводили у дозах від 0,1 до 1,5 мл на 1 кг маси з інтервалом між дозами 0,1 мл. Гостру токсичність «ТімТил™–150» при одноразовому підшкірному введенні вивчали на 132 статевозрілих білих мишах обох статей масою 18-20 г та 84 щурах масою 180-210 г.

На попередньому етапі між дозами брали діапазон доз від 2,5 до 10 мл на 1 кг маси з між дозовим інтервалом 2,5 мл. На кожну дозу використовували по три тварини. Встановили, що найменша із досліджуваних доз, яка не викликала загибелі тварин та змін у їх загальному стані при підшкірному введенні становить 5 мл на 1 кг маси. Доза при якій відмічали загибель усіх тварин (100%) — 10 мл на 1 кг маси.

На наступному етапі для уточнення дози препарату, враховуючи, те що найнижча доза, яка не викликала загибелі тварин — 5 мл на 1 кг маси, а найвища 10 мл/кг препарат «ТімТил™–150» проводили розгорнутий дослід. Тваринам вводили ТімТил™–150 в дозах: 5; 6; 7; 8; 9 та 10 мл на 1 кг маси. Кожну дозу препарату випробовували на 10 мишах і 6 щурах. Спостереження за клінічним станом тварин проводили на протязі 15 діб. В процесі досліду враховували клінічний стан тварин, рухову активність, відхилення від поведінки, апетит і спрагу, стан шерстного покриву та слизових оболонок.

Після введення препарату спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 15 діб. При цьому оцінювали загальний стан піддослідних мишей, їх живу вагу, стан сечовиділення, акт дефекації, поведінкові реакції, споживання корму та води, стан шерстного покриву та слизових оболонок, ритм і частоту дихання, час виникнення та характер і ступінь токсичної дії, перебіг, час загибелі тварин або покращення загального стану. В залежності від кількості введеного препарату «ТімТил™–150» визначали середньосмертельну ( $LD_{50}$ ) дозу та основні параметри гострої токсичності, використовуючи методи Г. Кербера (1931) та Г. Першина (1939, 1950).

## Результати й обговорення

Середньосмертельну дозу ( $LD_{50}$ ) препарату «ТімТил™–150» при введенні в шлунок визначити не вдалось, так як введення препарату у максимально допустимій для білих мишей кількості (14 мл на 1 кг) маси не викликає симптомів отруєння та відхилень у поведінці тварин.

У зв'язку з тим, що нам не вдалося при введенні в шлунок білим мишам препарату «ТімТил™–150» визначити середньосмертельні дози на наступному етапі визначення гострої токсичності препарат вводили внутрішньочеревно. Для досліду підібрали 15 груп білих мишей по 10 голів у кожній. «ТімТил™–150» вводили у дозах від 0,1 до 1,5 мл на 1 кг маси з інтервалом між дозами 0,1 мл.

Результати по визначенню гострої токсичності препарату «ТімТил™–150» при внутрішньочеревному введенні білим мишам представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

**Гостра токсичність препарату «ТімТил™–150» при внутрішньочеревному введенні**

Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин	Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин
0,7	0/10	1,0	4/6
0,8	1/9	1,1	6/4
0,9	2/8	1,2	10/0

Визначення середньосмертельних доз препарату «ТімТил™–150» методом Г. Першина проводили за формулою:

$$DL_{50} = \frac{\Sigma[(a + b) \cdot (m - n)]}{200}$$

де: a і b — величини суміжних доз,

m і n — відповідні цим дозам частоти смертельних наслідків у відсотках.

Таблиця 2

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™–150» при внутрішньочеревному введенні за Г. Паршиним**

Дози препарату, мл/кг	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
Результати, що спостерігалися, загинуло /вижило тварин	0/10	1/9	2/8	4/6	6/4	10/0
Відсоток тварин, які загинули	0	10	20	40	60	100
a + b	1,5	1,7	1,9	2,1	2,3	
m – n	10	10	20	20	40	
(a + b) • (m – n)	15	17	38	42	92	

$$DL_{50} = \frac{\Sigma[(a + b) \cdot (m - n)]}{200} = \frac{15+17+38+42+92}{200} = \frac{204}{200} = 1,02$$

Отже  $DL_{50}$  при внутрішньочеревному введенні препарату «ТімТил™–150» білим Мишам становить 1,02 мл на 1 кг маси, що в десять разів перевищує терапевтичну дозу.

Визначення середньосмертельних доз препарату «ТімТил™–150» за Г. Кербером:

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma(z d)}{m}$$

де:  $DL_{100}$  ( $DE_{100}$ ) — доза речовини, яка вивчається і викликає загибель (ефект, який враховується) у всій групі тварин;

d — інтервал між кожними двома суміжними дозами;

z — середньоарифметичне з числа тварин, що загинули, або у котрих спостерігалася прихована реакція під впливом кожних двох суміжних доз;

m — число тварин у кожній групі.

Таблиця 3

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150»  
при внутрішньочеревному введенні за Г. Кербером**

Дози препарату, мл/кг	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
Вижило, тварин	10	9	8	6	4	0
Загинуло, тварин	0	1	2	4	6	10
z	0,5	1,5	3,0	5,0	8,0	
d	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
z d	0,05	0,15	0,3	0,5	0,8	

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum(z d)}{m} = 1,2 - \frac{0,05+0,15+0,3+0,5+0,8}{10} = 1,02$$

Обчислення, проведені нами за двома методами, повністю співпадають. Отже, середньосмертельна доза препарату «ТімТил™-150» для білих мишей при внутрішньочеревному введенні становить 1,02 мл на 1 кг маси.

При підшкірному введенні препарату «ТімТил™-150» в діапазоні доз від 5 до 10 мл/кг маси тіла з інтервалом між дозами 1 мл максимальною дозою ТімТилу™-150, яка переносилася мишами була 5 мл/кг (LD0) маси тіла. Доза 10 мл/кг являється абсолютно смертельною і відповідає LD100 (табл. 4, 5, 6).

Таблиця 4

**Гостра токсичність препарату «ТімТил™-150» при підшкірному введенні білим мишам**

Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин	Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин
5	0/10	8	4/6
6	1/9	9	8/2
7	3/7	10	10/0

Таблиця 5

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150»  
при підшкірному введенні білим мишам за Г. Паршиним**

Дози препарату, мл/кг	5	6	7	8	9	10
Результати, що спостерігалися, загинуло /вижило тварин	0/10	1/9	3/7	4/6	8/2	10/0
Відсоток тварин, які загинули	0	10	30	40	80	100
a + b	11	13	15	17	19	
m - n	10	20	10	40	20	
(a + b) • (m - n)	110	260	150	680	380	

$$DL_{50} = \frac{\sum[(a + b) \cdot (m - n)]}{200} = \frac{110+260+150+680+380}{200} = \frac{1580}{200} = 7,9$$

Таблиця 6

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150»  
при підшкірному введенні білим мишам за Г. Кербером**

Дози препарату, мл/кг	5	6	7	8	9	10
Вижило, тварин	10	9	7	6	2	0
Загинуло, тварин	0	1	3	4	8	10
z	0,5	2	3,5	6	9	
d	1	1	1	1	1	
z d	0,5	2	3,5	6	9	

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum(z d)}{m} = 10 - \frac{0,5 + 2 + 3,5 + 6 + 9}{10} = 7,9$$

Результати визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150» при підшкірному введенні білим мишам проведені нами двома способами повністю співпадають. Отже, середньосмертельна доза (DL<sub>50</sub>) препарату «ТімТил™-150» для білих мишей при підшкірному введенні становить 7,9 мл на 1 кг маси.

Таблиця 7

**Гостра токсичність препарату «ТімТил™-150» при підшкірному введенні щурам**

Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин	Дози препарату, мл/кг	загинуло /вижило, тварин
5	0/6	8	2/4
6	0/6	9	4/2
7	1/5	10	6/0

Таблиця 8

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150» при внутрішньочеревному введенні щурам за Г. Паршиным**

Дози препарату, мл/кг	5	6	7	8	9	10
Результати, що спостерігалися, загинуло /вижило тварин	0/6	0/6	1/5	2/4	4/2	6/0
Відсоток тварин, які загинули	0	0	16,67	33,33	66,67	100
a + b	11	13	15	17	19	
m – n	0	16,67	16,66	33,34	33,33	
(a + b) • (m – n)	0	216,71	249,90	566,78	633,27	

$$DL_{50} = \frac{\Sigma[(a + b) \cdot (m - n)]}{200} = \frac{0 + 216,71 + 249,90 + 566,78 + 633,27}{200} = \frac{1466,66}{200} = 8,33$$

Таблиця 9

**Визначення гострої токсичності препарату «ТімТил™-150» при підшкірному введенні за Г. Кербером**

Дози препарату, мл/кг	5	6	7	8	9	10
Вижило, тварин	6	6	5	4	2	0
Загинуло, тварин	0	0	1	2	4	6
z	0	0,5	1,5	3	5	
d	1	1	1	1	1	
z d	0	0,5	1,5	3	5	

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma(z d)}{m} = 10 - \frac{0 + 0,5 + 1,5 + 3 + 5}{6} = 8,33$$

При визначенні гострої токсичності препарату «ТімТил™-150» при підшкірному введенні білим мишам двома способами повністю співпадають. Отже, середньосмертельна доза (LD<sub>50</sub>) препарату «ТімТил™-150» для білих мишей становить 7,9 мл на 1 кг маси, а на щурах — 8,33 мл на 1 кг маси тіла.

**Висновки**

1.Препарат «ТімТил™-150» при введенні в шлунок білим мишам у максимально допустимій кількості не викликає симптомів отруєння та відхилень у поведінці.

2.DL<sub>50</sub> при внутрішньочеревному введенні препарату «ТімТил™-150» білим мишам становить 1,02 мл на 1 кг маси, що в десять разів перевищує терапевтичну дозу.

3. Середньосмертельна доза (DL<sub>50</sub>) препарату «ТімТил™-150» для білих мишей при підшкірному введенні становить 7,9 мл на 1 кг маси.

4. LD<sub>50</sub> при підшкірному введенні становить 8,33 мл на 1 кг маси тіла щурів.

5. Препарат «ТимТил™-150» належить до IV класу токсичності згідно ГОСТ 12.1.007-76. тобто відноситься до малотоксичних речовин.

**Перспективи подальших досліджень.** Визначення підгострої та хронічної токсичності препарату «ТимТил™-150» його кумулятивних властивостей та віддаленої дії, а також досліджень з встановлення строків видалення препарату з організму, а також з молоком.

*A. V. Berezovskiy, T. I. Fotina, L. G. Ul'ko, V. V. Sencha*

#### **DEFINITION OF ACUTE TOXICITY OF EXPERIMENTAL PREPARATION «TIMTYL™-150»**

##### **S u m m a r y**

The drug «TimTyl™-150» incoming into the belly white mice in the maximum amount does not cause symptoms of poisoning and deviations in behavior. DL<sub>50</sub> at intraperitoneal introduction of the drug «TimTyl™-150» to white mice of 1,02 ml per 1 kg of that ten times higher than therapeutic dose. DL<sub>50</sub> of preparation TimTyl™-150 "for white mice by subcutaneous injection is 7,9 ml per 1 kg. According to the findings of research on rats by subcutaneous injection LD<sub>50</sub> input is 8,33 ml per 1 kg body weight.

*A. B. Березовский, Т. И. Фотина, Л. Г. Улько, В. В. Сенча*

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «ТИМТИЛ™-150»**

##### **А н н о т а ц и я**

Препарат «ТимТил™-150» при введении в желудок белым мышам в максимально допустимом количестве не вызывает симптомов отравления и отклонений в поведении. DL<sub>50</sub> при внутрибрюшном введении препарата «ТимТил™-150» белым мышам составляет 1,02 мл на 1 кг массы, что в десять раз превышает терапевтическую дозу. Средньосмертельна доза (DL<sub>50</sub>) препарата «ТимТил™-150» для белых мышей при подкожном введении составляет 7,9 мл на 1 кг массы. Согласно полученным данным исследований на крысах LD<sub>50</sub> при подкожном введении составляет 8,33 мл на 1 кг массы тела.

1. *Никулин В. Н.* Бактериальный фон при заболеваниях дистального отдела конечностей / В. Н. Никулин // Актуальные проблемы ветеринарной хирургии. — Троицк, 2004. — С. 93.

2. *Попов Ю. Г.* Значение условно-патогенной микрофлоры при массовых болезнях крупного рогатого скота // Актуальные вопросы микробиологии и инфекционной патологии животных : Мат. междунар. науч.-произв. конф. — СПб., 2004. — С. 103–104.

3. *Фотіна Т. І.* Система протиєпізоотичних заходів при гнійно-некротичних ураженнях копитець у корів, викликаних асоціацією умовно-патогенних мікроорганізмів / Т. І. Фотіна, Л. Г. Улько // Науково-технічний бюлетень Ін-т. біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добав. — 2009. — В.10, №3. — С. 318–322.

**Рецензент:** головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор В. Г. Янович.