

УДК 619:615.5

**Патерега І. П.**, к. вет. н., с.н.с., (ippater@ukr.net) ©*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів*

## **ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ І МУТАГЕННОСТІ МЕТРОНІДАЗОЛУ ТА ПРОТИПРОТОЗОЙНОГО І ПРОТИМІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ НА ЙОГО ОСНОВІ**

*Представлені результати вивчення на лабораторних тваринах гострої токсичності та мутагенної активності із застосуванням різних методів досліджень Метронідазолу та протипротозойного і протимікробного препарату на його основі.*

**Ключові слова:** *гостра токсичність, лабораторні тварини, Метронідазол, мутагенна активність.*

**Вступ.** Вивчення токсичності, кумуляції, побічної дії та віддалених наслідків є етапом розробки нових препаратів. Визначення гострої токсичності, як правило, є першим етапом досліджень, метою якого є одержання інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини для здоров'я в умовах короткотривалої дії та в результаті проведення якого передбачається отримання даних про смертельні дози та концентрації.

Встановлення віддалених ефектів – необхідний етап дослідження при токсикометрії різних фармакологічних субстанцій та препаратів. Віддалені ефекти – це якісно новий стан органів і систем, що може розвиватися протягом тривалого часу внаслідок певних впливів у віддалені строки після довготривалої дії препарату.

Мета дослідження: провести токсикологічну оцінку протипротозойного і протимікробного препарату Метронідазол і препарату на його основі "Інтезол 0,5 %" фірми "ІНТЕК-К" при одноразовому ("гостра" токсичність) введенні лабораторним тваринам та встановити мутагенну активність із застосуванням різних методів досліджень.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили згідно з методичними рекомендаціями "Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин" (1997) і "Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів" (2006) [1, 2].

Гостру токсичність препаратів вивчали на білих мишах 3-4-місячного віку, масою тіла 19-22 г та білих щурах 3-4-місячного віку, масою тіла 165-180 г.

Метронідазол у вигляді суспензії на 1 % розчині крохмалю вводили одноразово в наступних дозах: внутрішньошлунково білим щурам – 7000, 7500, 8000, 8500, 9000 і 9500 мг/кг маси тіла; мишам – 1000, 1400, 1800, 2200, 2600 і 3000 мг/кг маси тіла.

Інтезол 0,5 % вводили одноразово внутрішньошлунково білим щурам в дозах 1,0; 3,0 і 5,0 мл на тварину; мишам – 0,1; 0,3 і 0,5 мл на тварину. Найвищу дозу препарату 0,5 мл (для мишей) та 5 мл (для щурів) вводили повторно шести білим щурам і шести білим мишам. Аналогічно препарат Інтезол 0,5 % було досліджено і за умов підшкірного введення.

Після введення препарату, спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання і т.д. Значення LD<sub>50</sub> розраховували з використанням методу Кербера [3].

У короткотривалих дослідженнях (□гостра токсичність□) використали 84 білих щурів і 84 білих мишей.

Досліди з визначення мутагенності проводили згідно з “Методичними вказівками з визначення токсичних властивостей препаратів, які застосовуються в ветеринарії та тваринництві” [4].

Суть методу зі встановлення мутагенної дії за допомогою мікроядерного методу (тест Heddle і Schmid) полягає в обліку кількості еритроцитів з мікроядрами. Оцінку частоти мікроядер здійснювали на периферичній крові білих щурів.

Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих самцях щурів, з яких було сформовано 4 групи аналогів по 6 тварин у кожній та яких утримували за загальними правилами.

Щурам I та II груп вводили відповідно Метранідазол високоочищений у дозах 1/2 та 1/5 LD<sub>50</sub> внутрішньошлунково, натще на 1,5 % розчині крохмалю. Тваринам III групи вводили підшкірно терапевтичну дозу Інтезолу 0,5 %, а – IV групи слугували контролем, яким вводили внутрішньошлунково, натще 1,5 % розчин крохмалю.

З хвостової вени тварин через 24, 48 і 72 години отримували кров, яку переносили на предметне скло, змішавши її з краплею фетальної сироватки. Потім робили мазок, сушили на повітрі, фіксували у метанолі і фарбували азур-еозином за Романовським.

Отримані мазки аналізували під мікроскопом зі збільшенням 90x10. Підраховували кількість мікроядер на 1000 клітин. Результати наведені у промілях (‰). Достовірне перевищення контрольного рівня свідчить про мутагенність препарату.

Досліди з виявлення мутагенності за допомогою метафазного аналізу клітин кісткового мозку білих лабораторних щурів (тест Forta) проводили на білих нелінійних статевозрілих самцях щурів, з яких було сформовано 4 групи тварин-аналогів по 6 у кожній та які утримувались за загальними правилами.

Тваринам I та II груп вводили відповідно Метранідазол високоочищений у дозах 1/2 та 1/5 LD<sub>50</sub> внутрішньошлунково, натще на 1,5 % розчині крохмалю. Щурам III групи вводили підшкірно терапевтичну дозу Інтезолу 0,5 % (по 0,8 мл/кг 5 діб підряд), а – IV група слугувала контролем, яким вводили

внутрішньошлунково, натще 1,5 % розчин крохмалю. Присипляння тварин проводили шляхом декапітації під слабким ефірним наркозом через 24, 48 і 72 години.

Дослідним тваринам за 2 години до присипляння вводили внутрішньочеревно 0,04 % розчин колхіцину (0,01 мл на 1 г маси тіла), який призводить до накопичення клітин, на стадії метафази, тобто на тій стадії мітозу, коли хромосоми найбільш придатні для цитологічного аналізу. Тварин присипляли і швидко видобували стегнову кістку, зрізували епіфізи та за допомогою шприца, наповненого попередньо нагрітим у термостаті до 37 °С розчином калію хлориду (0,075 М), вимивали кістковий мозок у центрифужну пробірку і поміщували на 35-40 хвилин у термостат для гіпотонічної обробки. Після гіпотонізації суспензію центрифугували зі швидкістю 1000 об/хв протягом 5 хвилин. Надосадкову рідину обережно відсмоктували, в осад додавали фіксатор, в якості якого використовували суміш етилового спирту і оцтової кислоти у співвідношенні 3:1.

Після триразової заміни фіксатора готували препарати хромосом шляхом розкапування суспензії клітин на охолоджене предметне скло з наступним пломбуванням фіксатора над полум'ям горілки. Для фарбування препаратів використовували специфічні для ДНК барвники, такі як ацетокармін, ацетоарсеїн. Пофарбовані препарати аналізували шляхом мікроскопії, знаходячи пошкоджені хромосоми і аналізуючи аберації, порівняно з контролем.

Встановлення мутагенної активності Метронідазолу методом обліку аномальних головок спермій (АГС) у мишей використовується для попередньої оцінки мутагенної дії препарату на статеві клітини тварин. Дослід проводили на самцях білих мишей. Спонтанний рівень аномальних спермій для мишей коливається від 9,4 до 35 %.

У роботі використовувалися самці мишей у віці 2,5-3 місяці по 6 тварин у групі. Метранідазол вводили в дозі  $1/2 DL_{50}$  одноразово, внутрішньошлунково, натще. Евтаназію тварин проводили через 35 діб після введення, вважаючи цей термін оптимальним під час сперміогенезу, для виходу максимальної кількості пошкоджених спермій. Для отримання препаратів два епідидімуса від кожного самця поміщували у фізіологічний розчин хлориду натрію і подрібнювали тонкими ножицями та ретельно суспензували. У суспензію вносили 4 краплі 1 % розчину еозину та через 40 хвилин після фільтрації крізь капронове ситечко готували на склі повітряно сухі мазки.

Для підрахунку аномальних головок враховували 300 спермій самця.

Достовірне збільшення частоти АГС у дослідній групі, порівняно з контрольною, вказувало на мутагенну активність препарату.

Оцінка мутагенної дії препаратів за допомогою обліку домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) у зародкових клітинах передбачає встановлення проявів спадкових змін у статевих клітинах батьківських особин, які приводять до загибелі нащадків першого покоління під час ембріонального розвитку.

Після отримання тварин з розплідника самки протягом 3-х тижнів знаходилися під наглядом, щоб виключити неконтрольовану вагітність.

За добу до підсадки самцям I та II груп вводили Метранідазол високоочищений відповідно у дозах 1/2 та 1/5 ЛД<sub>50</sub> внутрішньошлунково, натще на 1,5 % розчині крохмалю. Щурам III групи вводили підшкірно терапевтичну дозу Інтезолу 0,5 % - 4,0 мл/кг, а – IV група слугувала контролем, яким вводили внутрішньошлунково, натще 1,5 % розчин крохмалю. Досліджувані препарати тваринам вводили одноразово.

Тварин підсаджували з розрахунку на 1 самця 3 самки.

Виявлення спермій у вагінальних мазках самок, яке проводили щоденно під час досліду, вважали першою добою вагітності. Після парування самок мітили і відбирали в окремі клітки, де вони знаходилися до дня забою (19-а доба вагітності). Вагітним самкам Інтезол 0,5% 0,5 % вводили одноразово підшкірно в дозі 0,8 мл/кг.

Підсадку здійснювали таким чином, щоб у заплідненні брали участь чоловічі гамети, які знаходяться в різних стадіях сперміогенезу: I – зрілих спермій; II – сперміотид; III – сперміоцитів; IV – сперміоцитів у стані спокою та сперміогоній типу B; V – сперміогоній типу A (табл. 1).

Всього для досліджень використано 24 самці та 360 самок (по 6 самців та 90 самок на кожну дозу).

Виявлення спермій у вагінальних мазках самок, яке проводили щоденно під час досліду, вважали першою добою вагітності. Після парування самок мітили і відбирали в окремі клітки, де вони знаходилися до дня забою (19-а доба вагітності).

Виникнення ДЛМ визначали за підвищеною ембріональною смертністю. При розтині тварин на 19 добу вагітності у кожної самки реєстрували кількість жовтих тіл вагітності, місць імплантації, живих і мертвих ембріонів.

Основними показниками рівня ДЛМ вважається:

загальна ембріональна смертність =  $((B - A) / B) \cdot 100$ ;

загибель до імплантації =  $(B - (A + B)) / B \cdot 100$ ;

загибель після імплантації =  $(B / (A + B)) \cdot 100$ ,

де: A – кількість живих ембріонів, B – кількість ембріонів, що загинули,

B – кількість жовтих тіл.

Статистичну вірогідність різниць результатів досліду та контролю визначали за критерієм Стьюдента-Фішера. У випадку отримання вірогідних різниць визначали індуковану летальність за формулою:

$$I = ((1 - (At - Ac)) / (1 - Ac)) \cdot 100$$

де: індексами t і c позначені показники втрат для досліду і контролю.

За величиною індукованої летальності визначали ступінь мутагенної активності. Препарат, який викликає індуковану загибель від 0 до 10 %, вважається слабким мутагеном (1 бал), від 10 до 25 % - середнім (2 бали), вище 25 % - сильним (3 бали) мутагеном.

**Результати досліджень.** При внутрішньошлунковому введенні Метронідазолу встановлено, що доза препарату 7000 мг/кг не викликала загибелі щурів; при подальшому збільшенні доз, що вводилися, пропорційно зростала кількість тварин, які загинули. Доза 9500 мг/кг була абсолютно смертельною.

При введенні токсичних доз препарату симптоми інтоксикації у щурів з'являлися досить швидко, приблизно через 2-3 години. Вони проявлялися в пригніченні, порушенні координації рухів, тварини мали неохайний вигляд.

Загибель щурів проходила протягом 1-3 діб у прямій залежності від кількості введеного препарату.

Матеріали досліджень та підрахунки  $LD_{50}$  препарату висвітлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати досліджуваних доз Метронідазолу для щурів						
Дози препарату, мг/кг	7000	7500	8000	8500	9000	9500
Вжило	6	5	4	2	1	0
Загинуло	0	1	2	4	5	6
Z	0,5	1,5	3,0	4,5	5,5	
d	500	500	500	500	500	
z d	250	750	1500	2250	750	

$LD_{50}$  розраховували за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma(z d)/m,$$

де:  $LD_{100}$  – доза, від якої загинули всі тварини;

$\Sigma$  – символ суми;

z – половина загальної кількості тварин, які загинули від двох наступних доз;

d – різниця двох наступних доз;

m – кількість тварин у групі на кожну дозу.

Згідно з формулою,  $LD_{50}$  препарату Метронідазол складало:

$$LD_{50} = 9500 - [(250+750+1500+2250+2750):6] = 8250 \text{ мг/кг}$$

Таким чином,  $LD_{50}$  препарату Метронідазол при внутрішньошлунковому введенні білим щурам становить 8250 мг/кг.

При внутрішньошлунковому введенні встановлено, що препарат Метронідазол у дозі 1000 мг/кг не викликав загибелі мишей; дози в межах 1400-2600 мг/кг були явно токсичними і призводили до загибелі тварин; доза 3000 мг/кг була абсолютно смертельною.

В цілому картина інтоксикації у мишей була схожою із симптоматикою, яку спостерігали у щурів, проте проявлялися сильніше. Серед ознак токсичної дії препарату можна було виділити: пригнічення, порушення координації рухів, тварини мали неохайний вигляд, з часом спостерігали виснаження.

Матеріали досліджень та підрахунки  $LD_{50}$  препарату висвітлені у таблиці 2.

Таблиця 2

**Результати досліджуваних доз Метронідазолу для мишей**

Дози препарату, мг/кг	1000	1400	1800	2200	2600	3000
Вижило	6	5	4	3	1	0
Загинуло	0	1	2	3	5	6
Z	0,5	1,5	2,5	4,0	5,5	
d	400	400	400	400	400	
z d	200	600	1000	1600	2200	

ЛД<sub>50</sub> розраховували за формулою:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \Sigma(z d)/m,$$

Згідно з формулою, ЛД<sub>50</sub> препарату Метронідазол для білих мишей:

$$ЛД_{50} = 3000 - [(200+600+1000+1600+2200):6] = 2066,7 \text{ мг/кг}$$

Таким чином, ЛД<sub>50</sub> Метронідазол при внутрішньошлунковому введенні білим мишам становить 2066,7 мг/кг.

За умов внутрішньошлункового і підшкірного введення встановлено, що препарат "Інтезол 0,5 %" у дозах 0,1, 0,3 та 0,5 мл для однієї миші не викликав загибелі тварин, лише спостерігали короткочасне пригнічення лабораторних тварин, яким задавали препарат у дозі 0,5 мл (мишам). Аналогічну картину спостерігали і у білих щурів: дози препарату 1,0, 3,0 і 5,0 мл на тварину за внутрішньошлункового і підшкірного введення не викликали загибелі. Короткочасне пригнічення спостерігали лише у тих тварин, яким задавали препарат у дозі 5,0 мл на щура, що пов'язано з потраплянням в організм тварин великої кількості рідини. На наступну добу змін в клінічному стані тварин дослідних груп не спостерігали. Такі ж результати було отримано і при повторному введенні лабораторним тваринам препарату у цих же дозах.

Таким чином, Інтезол 0,5% належить до малотоксичних речовин. ЛД<sub>50</sub> препарату при внутрішньошлунковому і підшкірному введенні лабораторним тваринам (білим щурам та мишам) є більшою 25000 мг/кг.

У дослідженнях еритроцитів щурів при встановленні мутагенної дії Метронідазолу й Інтезолу 0,5% за допомогою мікроядерного методу (тест Heddle і Schmid) вірогідної різниці між кількістю мікроядер у тварин дослідних і контрольної груп не виявлено. Деяко збільшений рівень тілець Жолі спостерігали за дози 1/2 ЛД<sub>50</sub> при експозиції 24 години (табл. 3).

Таблиця 3

**Кількість мікроядер в еритроцитах периферичної крові білих щурів після одноразового введення Метронідазолу та Інтезолу 0,5%, ‰ (M±m, n = 6)**

Дози препаратів	Кількість еритроцитів з мікроядрами, через:		
	24 години	48 годин	72 години
Контроль	0,62±0,30	0,53±0,21	0,60±0,35
1/2 ЛД <sub>50</sub> Метронідазолу	0,81±0,45	0,63±0,30	0,67±0,33
1/5 ЛД <sub>50</sub> Метронідазолу	0,57±0,33	0,64±0,35	0,55±0,25
Інтезол 0,5%, 0,2 мг/кг	0,60±0,28	0,52±0,20	0,57±0,27

Під час мікроскопічного дослідження в еритроцитах периферичної крові виявляли мікроядра різної величини (1-2,5 мкм).

Отже, за умов мікроядерного тестування на еритроцитах периферичної крові білих щурів у гострому досліді вірогідного збільшення кількості тілець Жолі при застосуванні Інтезолу 0,5%, порівняно з контролем, не було виявлено. При вивченні цитогенетичної дії за допомогою метафазного аналізу клітин кісткового мозку білих щурів (тест Forta) у соматичних клітинах було встановлено, що різні дози Метронідазолу і терапевтична доза Інтезолу 0,5 % не викликали достовірно більших структурних змін у хромосомах, порівняно з контрольною групою (табл. 4).

Таблиця 4

**Частота та спектр виникнення хромосомних та хроматидних аберацій у клітинах кісткового мозку білих щурів після одноразового введення Метронідазолу та Інтезолу 0,5 %, n = 6**

Препарат	Експозиція, год.	Доза	Число			% аберацій	Тип аберацій	
			метафазних пластинок	клітин з перебуваю	аберацій		хромосомні	хроматидні
Метронідазол	24	1/2 ЛД <sub>50</sub>	300	11	11	3,7	6	5
Інтезол 0,5%		1/5 ЛД <sub>50</sub>	300	9	9	3,0	5	4
Контроль		0,2 мг/кг	300	6	6	2,0	3	3
		-	300	7	7	2,3	4	3
Метронідазол	48	1/2 ЛД <sub>50</sub>	300	11	11	3,7	8	3
Інтезол 0,5%		1/5 ЛД <sub>50</sub>	300	8	8	2,7	6	2
Контроль		0,2 мг/кг	300	4	4	1,3	3	1
		-	300	5	5	1,7	4	1
Метронідазол	72	1/2 ЛД <sub>50</sub>	300	10	10	3,3	6	4
Інтезол 0,5%		1/5 ЛД <sub>50</sub>	300	8	8	2,7	5	3
Контроль		0,2 мг/кг	300	5	5	1,7	4	1
		-	300	6	6	2,0	3	3

При експозиції протягом 24 годин у тварин дослідних і контрольної груп спостерігали поліплоїдний набір хромосом та поліцентричні хромосоми. При дослідженні клітин кісткового мозку через 48 годин після введення препаратів у

дослідних групах виявляли поліплодію, ендоредуплікацію та хроматидні пробіли.

При експозиції протягом 72 годин у метафазних пластинках дослідних тварин встановлено поліплоїдний набір хромосом, часткове розходження хроматид, кільцеві хромосоми (замкнуті структури, що вміщують ділянки обох плечей і центроміру), ендоредупліканти та хроматидні пробіли. В контрольних метафазних пластинках спостерігався поліплоїдний набір хромосом.

Отже, у дослідах на білих щурах Інтезол 0,5% у терапевтичній дозі з експозицією 24, 48 та 72 години не проявив дії на хромосоми клітин кісткового мозку щурів.

Дія досліджуваних доз при встановленні мутагенної активності Інтезолу 0,5% і Метранідазолу методом урахування (обліку) аномальних головок сперміїв (АГС) у мишей не виявила вірогідної різниці щодо появи аномальних головок (табл. 5).

Таблиця 5

**Результати підрахунку аномальних головок сперміїв мишей, індукованих різними дозами метранідазолу та Інтезолу 0,5%, n = 6**

Показники	Дослід						Контроль						
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
№ тварини													
Розщеплення акросом частини головки, %	6	5	3	6	3	3	2	4	3	5	5	8	
Хвилеподібна головка, %	8	2	2	5	-	1	2	-	2	1	3	5	
Зменшені головки, %	7	8	5	4	3	3	4	2	6	5	3	5	
Збільшені головки, %	7	14	5	7	9	8	8	2	5	7	3	2	
Дві головки, %	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	1	

Отримані дані подані у таблиці 5, свідчать, що токсична доза Метранідазолу (1/2 ЛД<sub>50</sub>) не викликала статистично вірогідних відмінностей у появі аномальних головок сперміїв між дослідною та контрольною групами.

Таким чином, доза 1/2 ЛД<sub>50</sub> Метранідазолу не викликала у самців білих мишей утворення аномальних головок сперміїв, порівняно з спонтанним рівнем.

У дослідах з оцінки мутагенної дії Інтезолу 0,5 % за допомогою обліку домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) у зародкових клітинах встановлено, що токсичні дози метранідазолу (1/2 та 1/5 ЛД<sub>50</sub>) і терапевтична доза Інтезолу 0,5 % не викликали домінуючих летальних мутацій у зародкових клітинах білих щурів (табл. 6).



Таблиця 6

**Частота домінантних мутацій в білих щурів після одноразового введення  
Метранідазолу та Інтезол 0,5%у (M±m, n = 90)**

Стадія сперміогенезу	Препарат і група	Доза	Кількість			
			тіл вагітності (В)	місць імплантації	живих ембріонів (А)	мертвих ембріонів (Б)
I	контроль	-	9,7±0,6	9,5±0,6	9,0±0,7	0,42±0,17
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	10,4±0,3	9,4±0,6	8,2±0,8	1,16±0,41*
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	10,7±0,6	9,7±0,6	9,2±0,7	0,47±0,18
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	10,3±0,7	9,4±0,8	8,4±0,9	0,3±0,18
II	контроль	-	8,8±0,8	8,3±0,8	8,1±0,8	0,45±0,2
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	8,2±1,1	7,7±1,0	6,6±1,2	0,9±0,6*
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	10,2±0,3	9,9±0,4	9,7±0,4	0,3±0,10
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	9,2±0,6	8,8±0,7	7,7±0,89	0,8±0,64
III	контроль	-	9,4±0,9	8,6±0,9	8,2±0,9	0,5±0,3
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	9,8±0,5	9,3±0,5	8,5±0,4	0,8±0,3
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	9,7±1,1	9,0±1,0	8,3±0,9	0,6±0,4
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	9,6±0,8	9,2±0,7	8,6±0,5	0,4±0,1
IV	контроль	-	10,1±0,7	9,4±0,5	8,8±0,5	0,5±0,3
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	10,6±0,7	8,8±0,5	8,2±0,9	0,8±0,3
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	10,4±0,5	8,8±0,5	8,3±0,7	0,6±0,4
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	10,2±0,7	9,8±0,9	9,6±0,8	0,5±0,3
V	контроль	-	9,9±0,5	9,4±0,4	8,8±0,5	0,6±0,2
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	10,4±1,4	8,7±1,3	8,4±0,8	0,8±0,6
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	9,7±0,5	9,3±0,5	8,2±0,8	0,5±0,3
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	9,8±0,6	9,2±0,4	9,0±0,5	0,5±0,4

Примітка: \* - P < 0,05; \*\* - P < 0,01 до контролю

## Продовження таблиці 6.

Стадія сперміогенезу	Препарат і група	Доза	Загибель		
			до імплантації	після імплантації	загальна
I	контроль	-	2,3±1,3	4,2±1,7	5,9±2,2
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	10,8±4,6**	12,6±5,9	17,2±6,0
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	8,2±3,7*	7,9±3,1	11,1±4,2
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	2,5±1,2	3,1±1,3	5,2±1,5
II	контроль	-	1,7±1,3	4,0±1,7	5,1±2,69
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	7,2±5,6	10,2±5,9	16,6±7,5*
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	2,4±1,3	2,4±1,0	4,5±1,8
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	2,1±1,7	3,6±1,2	5,4±2,8
III	контроль	-	2,3±1,1	2,3±1,03	4,6±1,6
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	2,0±1,5	3,2±1,2	5,3±2,8
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	1,8±1,1	3,9±1,3	4,6±2,6
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	3,1±2,1	2,3±1,2	5,6±1,9
IV	контроль	-	3,1±1,5	2,1±1,3	5,1±2,1
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	3,2±1,7	2,3±1,3	5,2±2,3
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	2,6±1,2	2,9±1,3	4,8±1,4
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	2,8±1,3	1,8±1,1	4,8±1,7
V	контроль	-	2,1±1,3	2,6±1,3	5,2±1,8
	Метранідазол	1/2 ЛД <sub>50</sub>	2,8±1,3	3,1±1,9	5,6±2,6
		1/5 ЛД <sub>50</sub>	2,1±1,1	2,8±1,5	4,8±1,9
	Інтезол 0,5%	0,8 мл/кг	2,1±1,1	2,5±1,3	4,6±1,3

Примітка: \* -  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$  до контролю

Індукована летальність метранідазолу у першій стадії сперміогенезу за дози 1/2 ЛД<sub>50</sub> становила 0,9 % та у II стадії - 0,3 %.

Отже, Інтезол 0,5% не викликав загальної, до- та постімплантаційної ембріональної загибелі і не виявив мутагенної дії на статеві клітини білих щурів. Метранідазол за дози 1/2 ЛД<sub>50</sub> у перших двох стадіях сперміогенезу проявив відповідно 0,9 та 0,3 % індукованої летальності, що відносить його за мутагенним ефектом за бальною шкалою до 1 балу, тобто до слабких мутагенів.

#### Висновки

1. При пероральному введенні щурам і мишам значення LD<sub>50</sub> Метранідазолу складають відповідно 8250 і 2066,7 мг/кг маси тіла. У відповідності із загальноприйнятою гігієнічною класифікацією ГОСТ 12.1.007-76 Метранідазол відноситься до 3 класу небезпеки.

2. Препарат "Інтезол 0,5 %" належить до малотоксичних речовин. LD<sub>50</sub> препарату при внутрішньошлунковому і підшкірному введенні лабораторним тваринам (білим щурам та мишам) є більшою 25000 мг/кг.

3. За умов мікроядерного тестування на еритроцитах периферичної крові білих щурів у гострому досліді вірогідного збільшення кількості тілець Жолі при застосуванні Інтезолу 0,5%, порівняно з контролем, не було виявлено.

4. У дослідях на білих щурах Інтезол 0,5% у терапевтичній дозі з експозицією 24, 48 та 72 години не проявив дії на хромосоми клітин кісткового мозку щурів.

5. Препарат Інтезол 0,5% не викликав загальної, до- та постімплантаційної ембріональної загибелі і не виявив мутагенної дії на статеві клітини білих щурів. Метранідазол за дози 1/2 ЛД<sub>50</sub> у перших двох стадіях сперміогенезу проявив відповідно 0,9 та 0,3 % індукованої летальності, що відносить його за мутагенним ефектом за бальною шкалою до 1 балу, тобто до слабких мутагенів.

### Література

1. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: Методичні рекомендації / М.В. Косенко, О.Г. Малик, І.Я. Коцюмбас та ін. – К., 1997. – 34 с.

2. 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.

3. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л., 1963. - 152 с.

4. Маланин Л.П., Морозов А.П., Селиванова. А.С. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве // Ветеринарные препараты: Справочник / Под ред. А.Д. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 239-289.

### Summary

**I. P. Patereha**

***State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine***

**RESEARCH OF TOXICITY AND MUTAGENIC ACTIVITY OF METRONIDAZOLE AND ANTI-PROTOZOAL, ANTI-MICROBIAL PREPARATIONS BASED ON IT**

*The results of the acute toxicity and mutagenic activity studying on laboratory animals with the use of metronidazole different research methods and anti-protozoal, anti-microbial preparations based on it are shown in the article.*

Рецензент — д.вет.н., професор Стибель В.В