УДК 619: 623. 95. 024: 612. 014. 4

Світлична-Кулак Ю.О., аспірант ©
Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ НЕОВЕРМУ ДЛЯ БІЛИХ ЩУРІВ

Надані відомості із визначення токсичних доз протипаразитарного препарату нового покоління, що належить до групи лікарських засобів з діючою речовиною івермектин для щурів. За експериментально отриманими даними встановлено, що LD_{16} неоверму для білих щурів складає 51,6 мг/кг, LD_{50} – 65,18 мг/кг, LD_{84} – 101,58 мг/кг і LD_{100} – 124,28 мг/кг маси тіла. Похибка LD_{50} складає ±9,8 мг/кг і згідно з загальною класифікацією отруйних речовин неоверм можна віднести до високотоксичних сполук.

Встановлено, що неоверм є високотоксичною сполукою ($ЛД_{50}$ – 65,18 мг/кг маси тіла).

Ключові слова: *неоверм, івермектин, білі щури*

УДК 619 : 623. 95 . 024 : 612 . 014. 4

Светличная - Кулак Ю.А., аспирант
Харьковская государственная зооветеринарная академия , г. Харьков

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НЕОВЕРМУ ДЛЯ БЕЛЫХ КРЫС

Предоставляемые сведения по определению токсичных доз противопаразитарного препарата нового поколения, относится к группе лекарственных средств с действующим веществом ивермектин для крыс. По экспериментально полученным данным установлено , что LD16 неоверму для белых крыс составляет 51,6 мг / кг , LD50 - 65,18 мг / кг , LD84 - 101,58 мг / кг и LD100 - 124,28 мг / кг массы тела. Погрешность LD50 составляет ± 9,8 мг / кг и согласно общей классификации ядовитых веществ неоверм можно отнести к высокотоксическим соединениям.

Установлено , что неоверм является высокотоксичным соединением (ЛД50 - 65,18 мг / кг массы тела).

Ключевые слова: *неоверм , ивермектин , белые крысы*

UDC 619: 623. 95. 024: 612. 014. 4

Svetlychna-Kulak Y.S., a post-graduate student
Kharkiv State Zooveterinary academy, Kharkiv

DETERMINATION OF DL_{50} OF NEOVERM FOR RATS

The given information is from determination of toxic doses of anti parasitogenic preparation of new generation that behaves to the group of medicinal facilities with the operating substance of ivermectin for rats.

© Світлична-Кулак Ю.О., 2014

The experimental data obtained revealed that neovermu LD16 for rats is 51.6 mg / kg, LD50 - 65,18 mg / kg, LD84 - 101,58 mg / kg and LD100 - 124,28 mg / kg body weight. Accuracy is ± 9,8 LD50 mg / kg and under the general classification of toxic substances neoverm be attributed to the highly toxic compounds

It is set that neoverm is high-toxic connection (DL_{50} - 65,18 мg/кg the masses of body).

Keywords: *neoverm, ivermectin, white rats.*

Вступ. Визначення параметрів гострої токсичності є одним з найважливіших критеріїв в оцінці безпеки застосування лікарських препаратів у гуманітарній і ветеринарній медицині.

Неоверм – протипаразитарний препарат нового покоління, що належить до групи лікарських засобів широкого спектру дії, основною діючою речовиною якого є івермектин. Івермектин належить до групи сполук, що продукуються ґрунтовими мікроорганізмами *Streptomyces avermitilis*. Цей препарат посилює зв′язок гамма-аміномасляної кислоти із спеціальними рецепторами на нервових закінченнях гельмінтів, що призводить до порушення передачі імпульсів, паралічу і їх загибелі [1].

Метою роботи є визначення параметрів гострої токсичності неоверму для білих щурів.

Матеріали і методи досліджень. Визначення $ЛД_{50}$ неоверму проводили на дорослих білих щурах масою 250-300 г. Контрольних і піддослідних тварин годували за стандартним раціоном. Щури були розділені на 12 груп по 8 голів у кожній (n=96). Препарат у формі готового 1 % розчину вводили у шлунок за допомогою стравоходного зонда, у дозах 1 групі 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 і 100 мг/кг маси тіла. Дози були вибрані з урахуванням вмісту компонентів діючих речовин і відомої величини $ЛД_{50}$ івермектину для щурів – 90 мг/кг. Перед введенням неоверму тварин зважували і об'єм речовини розраховували індивідуально кожній тварині. Спостереження за дослідними щурами проводили упродовж 14 днів, відзначаючи терміни появи клінічних ознак отруєння і загибелі тварин. Контрольній групі тварин вводили воду в тих же кількостях.

Визначення DL_{50} дози препаратів здійснювалося методом пробіт-аналізу на персональному комп'ютері за методикою Miller і Tainter, 1944 [2] у модифікації В. Б. Прозоровского [3, 4]. При визначенні ступеню токсичності препаратів керувалися гігієнічною класифікацією пестицидів за основними параметрами шкідливості (Л.І. Ведмідь і співавт., 1986) [5].

Результати досліджень. Дослід показав, що при введенні неоверму щурам у шлунок у дозі 45 мг/кг клінічних ознак отруєння не відмічено. Поведінка щурів залишалася нормальною, апетит і рухливість не порушувалися. У 2 групі (50 мг/кг) відмічалась млявість, яка через декілька годин після введення препарату зникала. На 3 добу загинула 1 тварина.

У щурів 3 і 4 груп (55 і 60 мг/кг) майже зразу після введення неоверму спостерігали пригнічений стан і помірну спрагу. У перші дві доби загинуло по 3 голови у кожній групі. Тварини весь час лежали, шерсть була скуйовдженою,

шкіра і слизові оболонки - із жовтуватим відтінком, відмічалась уповільнена реакція на подразники. На 4-5 добу загальний стан тварин помітно покращав: з'явився апетит, тварини вільно пересувалися по клітці, шерстний покрив став гладким і чистим.

При застосуванні препарату у дозі 65 і 70 мг/кг (5 і 6 групи) в перші години після введення неоверму загальний стан характеризувався пригніченням, у деяких тварин – дуже сильним. У кожній групі впродовж трьох діб загинуло по 4 щури. Через 8 діб тварини виглядали клінічно здоровими, без ознак зміни поведінки.

Тварини 7-10 груп (75, 80, 85 і 90 мг/кг) були різко пригнічені, апетит і спрага відсутні, у них порушувалась координація рухів, шерстний покрив був скуйовджений, тварини приймали вимушені, неприродні пози. Надалі стан щурів погіршувався, при цьому спостерігали судомні скорочення м'язів тулуба і кінцівок у відповідь на звуковий подразник. Загибель наставала впродовж перших двох діб при використанні дози 75 і 80 мг/кг, загинуло по 5 голів в кожній групі і по 6 щурів при застосуванні дози 85 і 90 мг/кг маси.

У щурів 11 групи (доза 95 мг/кг) видимі ознаки отруєння спостерігали вже через 40 хвилин після введення неоверму. Тварини лежали скупчено, важко дихали, температура їх тіла різко впала до 33,4^{0}С. Чотири щури загинули з яскраво вираженими нервовими ознаками і ще 3 – із кровотечею із прямої кишки.

В останній 12 групі (доза 100 мг/кг) у першу добу загинули усі тварини з яскраво вираженими нервовими ознаками.

Загибель щурів в групах, що отримувала препарат в дозі 70 мг/кг маси тіла складала 50 %, в дозі 90-100 мг/кг – 87,5-100 % відповідно (табл. 1).

Таблиця 1.

Динаміка загибелі щурів при введенні різних доз неоверму при визначенні ЛД $_{50}$ (n=96)

Доза, мг/кг мас тіла тварини	Кількість голів в групі	Термін дослідження			
		4 години	1 доба	2 доба	3-14 доба
45	8	-	-	-	-
50	8	-	-	-	1
55	8	-	2	1	-
60	8	1	2	-	-
65	8	1	2	-	1
70	8	-	3	1	-
75	8	3	1	1	-
80	8	3	2	-	-
85	8	2	1	3	-
90	8	4	1	1	-
95	8	4	3	-	-
100	8	7	1	-	-

При патологоанатомічному дослідженні загиблих щурів відмічені зміни в головному мозку, паренхіматозних органах і шлунково-кишковому тракті, які супроводжувалися розладом гемодинаміки (розширення і повнокров'я судин, крововиливи, набряк, явища стазу, тромбоутворення). Ці зміни поєднувалися з дистрофічними змінами елементів печінки і нирок.

Дані показників летальності щурів вносили у таблицю розрахунків пробіт-аналізу (табл. 2).

Залежність між дозами і пробітами виражалася формулою:

$$Y = A_0 + A_1 X$$

Коефіцієнти $\mathbf{A_0}$ і $\mathbf{A_1}$ знаходили з рівнянь:

$$(\sum Z) \cdot A_0 + (\sum XZ) \cdot A_1 = \sum YZ$$

$$(\sum Z) \cdot A_0 + (\sum X^2 Z) \cdot A_1 = \sum XYZ$$

$$A_0 = \frac{(\Sigma YZ) - (\Sigma XZ) \cdot A_1}{\Sigma Z} \qquad A_1 = \frac{(\Sigma XYZ \cdot Z) - (XZ \cdot YZ)}{Z \cdot X^2 Z - XZ}$$

Таблиця 2

Розрахунок прямої графіка пробіт-анализу кривої летальності щурів при введенні неоверму

Доза в мг/кг Хэ	Летальність % Yэ	Місце доз X	Пробіти, Y	Ваговий коеф., Z	XZ	X2Z	YZ	XYZ
45	0	1	3,13	1,2	1,2	1,2	3,76	3,76
50	12,5	2	3,87	3,2	6,4	12,8	12,38	24,77
55	37,5	3	4,70	4,7	14,1	42,3	22,09	66,27
60	50	4	5,0	4,7	18,8	75,2	23,25	94,0
65	50	5	5,0	5,0	25	125	25	125
70	62,5	6	5,33	4,7	28,2	169,2	25,05	150,3
75	62,5	7	5,33	4,7	32,9	230,3	25,05	175,36
80	62,5	8	5,33	4,7	37,6	300,8	25,05	200,41
85	75	9	5,67	4,1	42,3	332,1	23,25	209,22
90	75	10	5,67	4,1	36,9	410	23,25	232,47
95	87,5	11	6,18	2,9	31,9	350,9	17,92	197,14
100	100	12	6,87	1,2	14,4	172,8	8,24	98,93
N=8			∑	45,2	289,7	2222,6	234,54	1577,63

Прирівнюючи ці два рівняння $[\Sigma YZ – (\Sigma YZ) \cdot A_1] + (X^2Z) A_1 = XYZ$ і підставляючи математичні значення ΣZ_1, ΣXZ_1, $\Sigma X^2 Z$ та ΣXYZ в рівняння, знаходили величину коефіцієнта A_1:

$[\sum YZ - (\sum YZ) - A_1] + (X^2Z) - A_1 = \sum Z, \sum XZ, \sum ZX^2Z$ і $\sum XYZ$, знаходили величину коефіцієнта A_1:

$$A_1 = \frac{1577{,}63 \cdot 45{,}2 – 289{,}7 \cdot 234{,}54}{45{,}2 \cdot 2222{,}6 – 289{,}7} = \frac{3362{,}64}{100171{,}82} = 0{,}03$$

Підставляючи A_1 в рівняння, розраховували A_0

$$A_0 = \frac{234{,}54 – 294{,}1 \cdot 0{,}03}{45{,}2} = 4{,}99$$

Знайшовши коефіцієнти A_0 і A_1, розраховували показники Y для усіх значень X за формулою: $Y = A_0 + A_1X$. Цю ж формулу використали для обчислення величини X відповідно $ЛД_{50}$, $ЛД_{16}$ і $ЛД_{84}$.

$Y = 4, 99 + 0, 03 \cdot X;$

$Y_1 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 1 = 5,02$	$Y_7 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 7 = 5, 20$;
$Y_2 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 2 = 5,05$	$Y_8 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 8 = 5, 23$;
$Y_3 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 3 = 5,08$	$Y_9 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 9 = 5, 26$;
$Y_4 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 4 = 5,11$	$Y_{10} = 4, 99 + 0, 03 \cdot 10 = 5, 29$;
$Y_5 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 5 = 5,14$	$Y_{11} = 4, 99 + 0, 03 \cdot 11 = 5, 32$;
$Y_6 = 4, 99 + 0, 03 \cdot 6 = 5,17$	$Y_{12} = 4, 99 + 0, 03 \cdot 12 = 5, 35$;

Враховуючи, що $Y_э = 50$ % відповідає пробіту 5, підставляючи значення A_0 і A_1 у формулу, знаходимо: $Y = A_0 + A_1X$

$$5 = \frac{4,99 - 1,36}{1,36} = 2,67 \qquad ХЛД_{50} = \frac{5 - 2,67}{0,03} = 77,67$$

Це число вказує розрахункове місце дози X, яка викликає загибель 50% тварин. Використовуючи ці таблиці, знаходимо:

$$LD_{50} = 60 \pm 5,18 = 65,18 \pm 9,8 \text{ мг/кг}$$

Відповідно:

$$ХЛД_{16} = \frac{3,87 - 2,67}{0,03} = 40,0 \qquad ХЛД_{84} = \frac{5,67 - 2,67}{0,03} = 100,0$$

$LD_{16} = 50 \pm 1,6 = 51,6$ мг/кг $\qquad LD_{84} = 90 \pm 11,58 = 101,58$ мг/кг;

$$ЛД_{100} = 101,58 + \frac{101,58 - 56,18}{2} = 124,28 \text{ мг/кг.}$$

За формулою Миллера і Тайтнера розраховуємо величину помилки $ЛД_{50}$:

$$S_x = \frac{\pm 2\delta}{\sqrt{2N}}, \text{ де}$$

S_x - величина помилки $ЛД_{50}$

N - загальна кількість тварин в групах, летальність яких не менше 6,7% (пробіт 3,5) і не більше 93,3% (пробіт 6,5).

$$S_x = \frac{\pm 2\delta}{\sqrt{2N}} = \frac{124,28 - 51,67}{\sqrt{48}} = 10,60 \text{ мг/кг.}$$

$$S_{LD50} = \pm 124,25 - 51,7648 = \pm 67,236,9 = \pm 9, 7 \text{ мг/кг;}$$

Висновок. За експериментально отриманими даними встановлено, що LD_{16} неоверму для білих щурів складає 51,6 мг/кг, LD_{50} – 65,18 мг/кг, LD_{84} –

101,58 мг/кг і LD_{100} – 124,28 мг/кг маси тіла. Похибка LD_{50} складає ±9,8 мг/кг і згідно з загальною класифікацію отруйних речовин неоверм можна віднести до високотоксичних сполук.

Література

1. Листівка-вкладка для застосування неоверму. – ТОВ "АТ Біофарм", 2013

2. Miller C.L., Tainter M.L. // Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.). – 1944. – Vol. – 5. – С. 261-265.

3. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – № 1-3. – С. 115-120.

4. Бабич П. Н. Применение пробит-анализа в токсикологии и фармакологии с использованием программы MICROSOFT EXCEL для оценки фармакологической активности при альтернативной форме учета реакций. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н. // www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2003/03_4_16.htm (24 КБ) 17.02.2004.

5. Малинин О.А Ветеринарная токсикология / О.А. Малинин, Г.А. Хмельницкий, А.Т. Куцан : Учеб. Пособие.– Корсунь-Шевченковский: ЧП Майданченко, 2002.– С. 14.

Рецензент – д.вет.н., професор Гунчак В.М.