

3. Кухтин М. Д. Мікробні біоплівки – явище існування та захисту мікроорганізмів / М. Д. Кухтин // *Вет. мед. України*, 2009. – № 10. – С. 20–21.
4. Романова Ю. М. Биопленки патогенных бактерий и их роль в хронизации инфекционного процесса. Поиск средств борьбы с биопленками / Ю. М. Романова, Л. В. Диденко, Э. Р. Толордава, А. Л. Гинцбург // *Вестн. РАМН*. – 2011. – №10. – С. 31–39.
5. Сідашенко О. І. Біоплівка як особлива форма організації бактерій та її роль в інфекційних процесах / О. І. Сідашенко, О. С. Воронкова, О. А. Сірокваша, А. І. Вінніков // *Вісник проблем біології і медицини*. – Випуск № 3 (103) / том 2 / 2013. – С. 36–40.
6. Stepanovic S. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation / S. Stepanovic, D. Vurovic, I. Duric, B. Savic // *J. Microbiol. Methods*. – 2000. – Vol. 40. – P. 175–179.
7. Costerton J. W. Biofilm in implant infections: its production and regulation / Costerton J. W., Montanaro L., Aciola C.R // *Int. J. Artif. Organs*. – 2005. – № 28. – P. 1062–1068.
8. Miller M. Quorum sensing in bacteria / M. Miller, B. Bassler // *Annu Rev. Microbiol.* – 2001. – Vol. 55. – P. 165–199.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2015

УДК 619:615:5.

Періг Ж. М., к. вет. н., ст. н. с. (E-mail:jeannakuzjo@mail.ru)

Кісців О. С., н. с., **Кабанець А. С.**, м. н. с. ©

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

ВИЗНАЧЕННЯ КЛАСУ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ «БРАВЕКТО» КЛАСИЧНИМ ТА АЛЬТЕРНАТИВНИМ ТЕСТАМИ

У статті наведено результати порівняльного визначення параметрів гострої токсичності препарату «Бравекто» за допомогою класичного та альтернативного (визначення класу гострої токсичності) методів.

Принцип альтернативного (європейського) методу визначення гострої токсичності ґрунтується на поетапній процедурі з використанням мінімальної кількості тварин на кожному етапі досліджень, що дозволяє зробити висновок щодо класифікації досліджуваної речовини з віднесенням його до одного з розрядів класів токсичності, які визначаються фіксованим DL_{50} порогових значень.

Установлено, що DL_{50} препарату «Бравекто» за класичним методом визначення параметрів гострої токсичності складає 2666,7 мг/кг, а альтернативним — 2500 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні білим щурам. Толерантна доза препарату, яка не спричиняла загибелі білих щурів за одноразового введення становила 2000 мг/кг.

Альтернативний метод визначення класу гострої токсичності згідно OECD тест № 423:2001 ІДТ є економічно вигіднішим і гуманнішим, бо при цьому не має необхідності визначення летального результату і для досліду використовується мінімальна кількість тварин. На дослідження за класичним методом було витрачено 48 лабораторних тварин, а за альтернативного — всього 6 тварин.

Ключові слова: *ОЕСД, ІСН, тест №423, класичний метод, альтернативний метод, гостра пероральна токсичність, передлетальний стан, фіксована доза, толерантна доза, бравекто, щури.*

УДК619:615:9.

Периг Ж. М., к. вет. н., ст. н. с., **Кисцив О. С.**, н. с., **Кабанець А. С.**, м. н.с.*Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина***ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛАССА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА БРАВЕКТО КЛАССИЧЕСКИМ И АЛЬТЕРНАТИВНЫМ ТЕСТАМИ**

В статье приведены результаты сравнительного определения параметров острой токсичности препарата «Бравекто» с помощью классического и альтернативного (определение класса острой токсичности) методов. Принцип альтернативного (европейского) метода определения острой токсичности основывается на поэтапной процедуре с использованием минимального количества животных на каждом этапе исследований, позволяет сделать вывод о классификации исследуемого вещества с отнесением его к одному из разрядов классов токсичности, которые определяются фиксированным DL_{50} пороговых значений.

Установлено, что DL_{50} препарата «Бравекто» классическим методом определения параметров острой токсичности составляет 2666,7 мг/кг, а альтернативным – 2500 мг/кг при внутрижелудочном введении белым крысам. Толерантная доза, которая не вызвала гибели белых крыс при однократном введении составила 2000 мг/кг.

Альтернативный метод определения класса острой токсичности согласно OECD тест № 423 2001 ИДТ экономически выгодный и гуманный, так как при этом нет необходимости определения летального исхода и для опыта необходимо минимальное количество животных. Для исследования классическим методом было использовано 48 лабораторных животных, а за альтернативного - всего 6 животных.

Ключевые слова: *ОЕСД, ICH, тест № 423, классический метод, альтернативный метод, острая пероральная токсичность, передлетальное состояние, фиксированная доза, толерантная доза, бравекто, крысы.*

UDC 619:615:5

Perih Zh. M., *Candidate of Veterinary Sciences, senior scientific worker,***Kistsiv O. S.**, *scientific worker, Kabanets' A. S.*, *junior scientific worker**State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine***THE DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY CLASS OF MEDICINAL PRODUCT BRAVECTO BY CLASSICAL AND ALTERNATIVE TESTS**

The article presents the results of comparative determination of acute toxicity parameters of the medicinal product «Bravecto» by means of classical alternative methods (the determination of acute toxicity class).

The principle of alternative (European) method of acute toxicity determination is based on step-by-step procedure using minimal quantity of animals on each stage of tests that allows to make a conclusion concerning the classification of studied substance by referring to one of the classes of toxicity defined by fixed DL_{50} of threshold meaning.

It was determined that DL_{50} of medicinal product «Bravecto» by classical method of parameters of acute toxicity constitutes 2666,7 mg/kg, by alternative one – 2500 mg/kg under conditions of intragastric administration to white rats. Tolerant dose of the medicinal product without causing death to white rats by single administration was equal to 2000 mg/kg.

The alternative method of acute toxicity class determination according to OECD test № 423:2001 ИДТ is economically more profitable and human because there is no any necessity to determine the lethal result and minimal number of animals is used for tests. 48 laboratory animals were used applying classical method and 6 animals for alternative one.

Key words: *OECD, ICH, test №423, classical method, alternative method, acute oral toxicity, fixed dose, tolerant dose, bravecto, rats.*

Вступ. За міжнародними вимогами випробування безпеки (токсичності) різних речовин на живих системах (людини, тварин, екосистем) здійснюються відповідно до гармонізованих методичних рекомендацій Організації економічного співробітництва і розвитку (ОЕСД) та Міжнародної конференції з гармонізації (ICH) [1].

Метод гострої токсичності (ОЕСД, тест № 423:2001 ІДТ) – Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method (Гостра пероральна токсичність – метод визначення класу токсичності за впливом хімічної продукції на організм людини) – Міжнародний документ розроблений Організацією Економічного Співробітництва та Розвитку (ОЕСР/ОЕСД). Це – поетапна процедура з використанням 3-х тварин однієї статі на кожному етапі. Залежно від смертності та /або переддетального стану тварин, висновок про гостру токсичність досліджуваної речовини проводиться в середньому у 2–4 етапи. Даний метод базується на біометричних оцінках з фіксованими дозами, які розподілені таким чином за часом застосування препарату, щоб була можливість оцінювати речовину за ступенем небезпечності та систематизувати результати досліджень [2, 3, 4, 5].

Відомо, що фармакологічна група інсектоакарацидних препаратів проти бліх та кліщів виробляється, в основному, у формі ін'єкційних розчинів та засобів зовнішнього застосування. Фірмою Intervet Internacional B. V., Нідерланди запропоновано препарат «Бравекто», для перорального застосування, виготовлений у формі таблеток. Бравекто належить до інсектоакарацидних препаратів системної дії. До складу препарату входить флуранер – інсектоакарацид групи ізоксазоліну, активний у відношенні блох [6].

Визначення токсичності ветеринарних лікарських засобів починається з гострого досліду, в якому отримують дані про величину смертельних доз, що визначають токсичну характеристику препарату в умовах короткотривалої дії на організм [7].

Мета досліджень полягала у визначенні гострої токсичності інсектоакарацидного препарату «Бравекто» класичним методом та згідно з вимогами ОЕСД.

Матеріали і методи. Визначення параметрів гострої токсичності препарату «Бравекто» вивчали на 60 білих щурах 3–4-місячного віку, масою 180–200 г. Препарат вводили білим щурам внутрішньошлунково, одноразово, за допомогою металевого зонда.

Встановлення середньосмертельної дози препарату «Бравекто» класичним методом проводили в два етапи: попередній та розширений. На попередньому етапі досліджень препарат вводили в дозах від 500 до 5000 мг/кг, з інтервалом 1000 мг/кг і на кожну дозу було використано по 3 лабораторні тварини. В результаті досліджень встановлені максимально переносима (DL_0) та смертельна (DL_{100}) дози. На розгорнутому етапі сформовані групи по 6 тварин в кожній. Препарат вводили в дозах від 2000 до 3000 мг/кг, з інтервалом 200 мг/кг маси тварин. DL_{50} вираховували за методикою Г. Кербера [8].

Згідно з альтернативним методом – тест № 423:2001 ІДТ (гостра пероральна токсичність) рівень початкової дози повинен бути таким, щоб з найбільшою вірогідністю викликати загибель деяких тварин, яким задають один із чотирьох фіксованих рівнів доз – 5, 50, 300 та 2000 мг/кг маси тіла. Виходячи з даних класичного методу досліджень, препарат вводили в початковій дозі 2000 мг/кг, використавши для цього 3 тварини. Оскільки загибелі після введення препарату в дозі 2000 мг/кг не було встановлено, дослід повторювали аналогічно. Клас токсичності та величину середньосмертельних доз визначали згідно з системою класифікації небезпеки та маркування хімічної продукції [4].

Результати досліджень. За вивчення токсичності класичним методом на попередньому етапі досліджень встановлена смертельна (DL_{100}) – 3000 мг/кг та максимально переносима (DL_0) дози препаратів – 2000 мг/кг.

Результати заключного етапу досліджень приведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Показники смертності білих щурів за перорального введення препарату «Бравекто»

Дози препарату, мг/кг	2000	2200	2400	2600	2800	3000
Вижило	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	200	200	200	200	200	
z d	100	300	600	900	1100	

При обчисленні за Г. Кербером, DL₅₀ препарату розраховували за формулою:

$$DL_{50} = DL_{100} - (\sum_{(zd)} / m) \quad (1)$$

Згідно формули, DL₅₀ = 3000 - (17500 : 6) = 2666,7 мг/кг.

Отже, згідно з класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності, препарат «Бравекто» належить до III класу — помірно токсичні речовини [9].

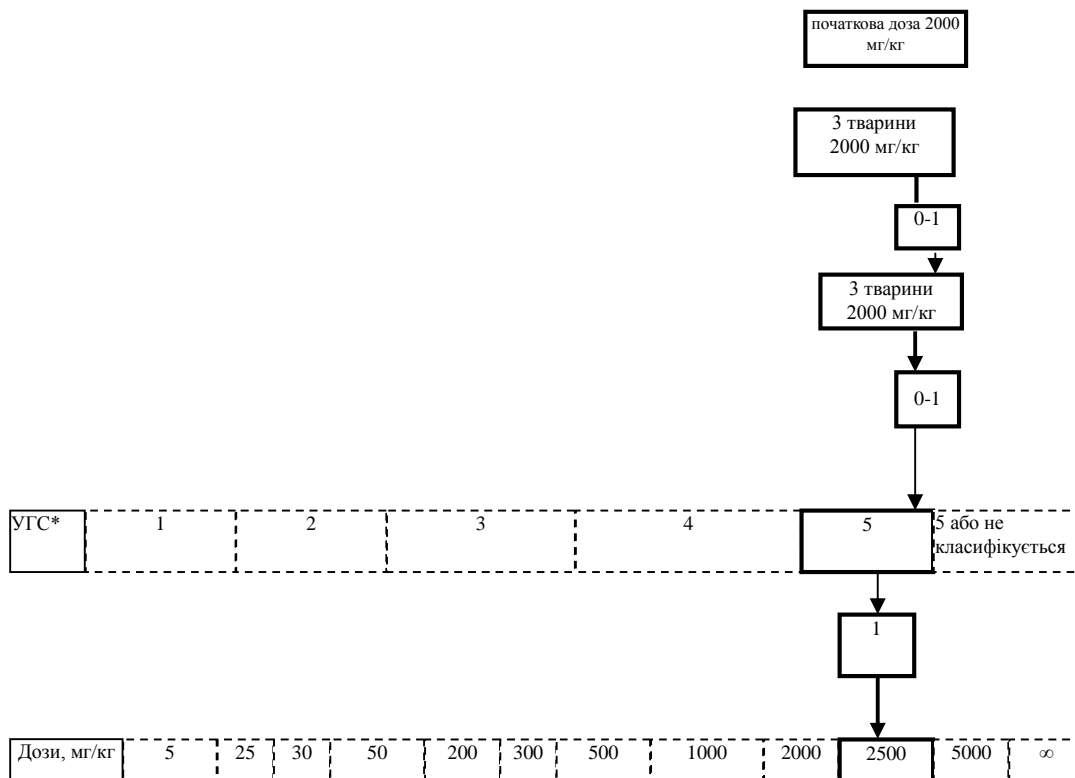


Рис. Схема проведення дослідження препарату «Бравекто»

- - дослід;
- - - - - шляхи можливого розвитку дослідів;
- 0, 1, 2, 3 - кількість тварин, які загинули;

*УГС – Узгоджена на глобальному рівні система класифікації небезпеки та маркування хімічної продукції.

За вивчення токсичності альтернативним методом, на першому етапі досліджень, після введення препарату в дозі 2000 мг/кг дослідним тваринам, загибелі дослідних тварин не відзначали. На наступному етапі досліджень, трьом тваринам повторно вводили препарат у дозі 2000 мг/кг. Оскільки загибелі тварин не фіксували, згідно з першими двома рівнями (рис.), препарат належить до 5 категорії токсичності (клас 5, $DL_{50} > 2000-5000$), а величина середньосмертельної дози складає 2500 мг/кг.

Таким чином, для визначення класу токсичності та величини LD_{50} препарату «Бравекто» було затрачено всього 6 лабораторних тварин. Перевага даного методу визначення класу токсичності полягає в тому, що для досліду використовується мінімальна кількість тварин і при цьому немає необхідності визначення летального результату.

Отже, згідно з класифікацією речовин за токсичністю, при внутрішньошлунковому введенні препарат належить до V категорії (клас 5, $DL_{50} > 2000-5000$), а DL_{50} складає 2500 мг/кг.

Висновки.

1. За класичного методу досліджень DL_{50} препарату «Бравекто» при внутрішньошлунковому введенні складає 2666,7 мг/кг і препарат належить до III класу токсичності – помірно токсичні речовини, згідно з ГОСТу 12.1.007-76.

2. За альтернативного методу досліджень DL_{50} препарату «Бравекто» при внутрішньошлунковому введенні складає 2500 мг/кг і препарат належить до 5 категорії токсичності (клас 5, $DL_{50} > 2000-5000$), згідно з СГС – узгодженої на глобальному рівні системи класифікації та маркування.

3. Альтернативний метод досліджень згідно з OECD тест № 423:2001 ІДТ є економічно вигіднішим і гуманнішим, ніж класичний, бо при цьому не має необхідності визначення летального результату. Для визначення класу токсичності та середньосмертельної дози препарату «Бравекто» за класичним методом було витрачено 48 лабораторних тварин, а за альтернативного – всього 6 тварин.

Перспективи подальших досліджень. З метою збереження тварин та дотримання біоетичних вимог згідно європейських стандартів заплановано проведення досліджень із визначення гострої токсичності ветеринарних лікарських засобів методом «Acute Oral Toxicity-Up-and-Down-Procedure (UDP)» OECD, Тест № 425.

Література

1. Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. Number 1. OECD Principles of Good Laboratory Practice (as reused in 1997). OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate: ENV/MC/CHEM (98).17 – Paris: OECD, 1998.
2. OECD Test № 423 «Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method».
3. Roll R. New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals / R. Roll, Th. Höfer-Bosse, D. Kayser //Toxicol. Lett. Suppl. – 1986. – P. 31.
4. Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien/ R. Roll, M. Riebschläger, U. Mischke, D. Kayser //Bundesgesundheitsblatt. – 1989. – Vol. 32. – P. 336–341.
5. OECD. Guidance Document on Acute Oral Toxicity / Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment. – 2000. – Vol. 24.

6. Хмельницький Г. О. Ветеринарна фармакологія / Г. О. Хмельницький, В. С. Хоменко, О. І. Канюка. – Харків, 1994. – 479 с.

7. Літвінова Н. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / Н. В. Літвінова, М. А. Філоненко-Патрушева, С. Б. Французова, В. В. Храпак. – К, 2001. – 527 с.

8. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Л, 1963. – 152 с.

9. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – Введ. 01.01.77. – проверен 01.10.81; Изменен №1; переиздан 01.12.81. – М.: Изд-во стандартов, 1982. – С.6.

Стаття надійшла до редакції 10.09.2015

УДК 636.09:577.1:616.98:636.7

Петренко О. С., к. вет. н. ©

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

ФУНКЦИОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ І НИРОК У СОБАК, УРАЖЕНИХ РІЗНИМИ СЕРОВАРАМИ ЛЕПТОСПИР

*Біохімічне дослідження сироваток крові собак, які характеризувалися наявністю специфічних антитіл проти різних сероварів лептоспир у діагностичних титрах, дозволило оцінити функціональний стан печінки та нирок, патологія яких може негативно впливати на перебіг та прогноз лептоспірозу. Встановлено, що за ураження собак сероваром *Icterohaemorrhagiae* 1:100–1:400 +++ істотні зміни функціонального стану печінки і нирок відсутні. У тварин, уражених сероваром *Canicola* 1:100–1:400 +++, діагностовано патологію печінки, на що вказують гіперпротеїнемія, гіпоальбумінемія, диспротеїнемія, гіперферментемія АЛАТ та зменшення коефіцієнта де Рітиса. За змішаної інфекції (серовари *Icterohaemorrhagiae* 1:100–1:3200 +++, *Canicola* 1:100–1:800 +++ та *Grippotyphosa* 1:100 +++) встановлені зміни, характерні для гепато-ренального синдрому: гіпоальбумінемія, виражена диспротеїнемія, гіперферментемія АЛАТ та АсАТ; гіперкреатинінемія та зростання концентрації молекул середньої маси.*

Ключові слова: лептоспіроз, серовар, собаки, реакція мікроаглютинації, титр, функціональний стан, печінка, нирки, метаболізм, діагностика.

УДК 636.09:577.1:616.98:636.7

Петренко А. С., к. вет. н.

Государственный научно-исследовательский институт лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, г. Киев

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК У СОБАК, ПОРАЖЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ СЕРОВАРАМИ ЛЕПТОСПИР

*Биохимическое исследование сывороток крови собак, которые характеризовались наличием специфических антител против различных сероваров лептоспир, позволило оценить функциональное состояние печени и почек, патология которых может негативно влиять на течение и прогноз лептоспіроза. Установлено, что при поражении собак сероваром *Icterohaemorrhagiae* 1:100–1:400 +++ существенные изменения функционального состояния печени и почек отсутствуют. У животных, пораженных сероваром *Canicola* 1:100–1:400 +++, диагностировано патологию печени, на что указывают гиперпротеинемия,*