

Л. В. НАГОРНА, кандидат ветеринарних наук

Є. М. МИХАЙЛОВА, аспірантка *

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ “ЛІТАРЗИН[™]”

У ході досліджень з встановлення параметрів гострої токсичності препарату “Літарзин[™]”: визначено летальну (DL_{100}) та напівлетальну (DL_{50}) дози препарату. Згідно них, цей засіб відповідно ГОСТ 12.1.007-76, відноситься до третього класу токсичності. DL_{50} досліджуваного препарату за підшкірного введення лабораторним тваринам становить 21,87 мг/кг (при розрахунку за методом Кербера).

Ключові слова: безпритульні тварини, “Літарзин[™]”, гостра токсичність, знеухомлення тварин.

Нині, проблема з безпритульними тваринами залишається до кінця не вирішеною у багатьох країнах світу. Так, за повідомленнями з Російської Федерації, в окремих її регіонах чисельність їх становить близько 40 % від наявного поголів'я [1].

Проте, в переважній більшості – регулювання чисельності популяції таких тварин проводиться шляхом їх безповоротного відлову, зокрема так діють у Великобританії, Німеччині, Фінляндії, Швеції, Польщі тощо [2–5].

В останні роки в містах та великих населених пунктах України також досить гостро постала проблема швидкого неконтрольованого зростання популяції безпритульних собак та кішок. Разом з тим, сучасне державне законодавство зобов'язує органи місцевого самоврядування проводити системну роботу в цьому питанні. Так статтею 24 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» регламентується, що собаки, незалежно від породи, належності та призначення, у тому числі й ті, що мають нашийники з номерними знаками і намордники, але знаходяться без власника на вулицях, площах, ринках, у скверах, садах, пляжах, дворах та інших громадських місцях, вважаються безпритульними і підлягають вилуу [6].

Відомо, що в процесі відлову тварин, обмеження їх рухливості досягається за допомогою механічних та лікарських засобів. Для цього в країнах ЄС та США налагоджено промислове виготовлення асортименту різноманітних пристосувань для гуманного відлову тварин.

У переліку названих пристосувань є різноманітні фіксатори у вигляді петель, спеціальні сітки, клітки-капкани, ультразвукові пристрої та “літаючі-шприци” для дистанційного введення седативних речовин [7, 8]. У зв'язку з відсутністю на вітчизняному ринку ефективних седативних комбінацій з швидкою седативною дією та для полегшення процесу відлову безпритульних тварин і підвищення безпечності персоналу спеціалізованих бригад, що виконують таку функцію, в НВФ “Бровафарма” створено та проведено державну реєстрацію препарату з торговою маркою “Літарзин[™]” [9, 10].

* Науковий керівник професор А. В. Березовський

Метою роботи було встановлення параметрів гострої токсичності препарату “ЛітарзинTM”.

Матеріали і методи досліджень. Визначення токсикологічних параметрів експериментального препарату проводили згідно “Методических указаний по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве” та “Доклінічних досліджень ветеринарних лікарських засобів” [11].

Вивчення гострої токсичності досліджуваного препарату “ЛітарзинTM”, проводили на 44 здорових безпородних білих мишах-самцях та самках. Перед початком досліду маса тіла тварин, відібраних для експерименту становила 18–22 г, а вік – 8–9 тижнів. Лабораторні тварини утримувались в умовах віварію ветеринарного факультету Сумського національного аграрного університету згідно діючим “Санітарним правилам з побудови, обладнання та утримування експериментально-біологічних клінік (віваріїв)” при стабільному температурному режимі 18–20 °С. Годівлю їх здійснювали повнораціонним комбікормом, за стандартною схемою, в уніфікований час. Перед початком експерименту тварин протягом 7-ми діб витримали в адаптаційному періоді, під час якого проводили щоденне ретельне спостереження їх клінічного стану. Безпосередньо перед початком експерименту тварин протягом 3-х годин утримували на голодній дієті.

Перед початком основного етапу досліду, з метою встановлення доз для його проведення, виконали попередню наближену спробу. Препарат вводили в наступних дозах: 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг. На цьому етапі інтервал між дозами становив 50 мг/кг і визначену дозу вводили трьом тваринам, підшкірно, натще.

Для проведення розгорнутого етапу досліджень було сформовано чотири дослідні групи тварин (n=8). Тваринам усіх дослідних груп експериментальний препарат вводили за тих же умов, що і на попередньому етапі досліду з розрахунку: 10, 20, 30 та 40 мг/кг маси тіла.

За тваринами експерименту ретельні спостереження проводили впродовж 14 діб, відмічаючи в динаміці зміни їх клінічного стану.

Внаслідок експерименту було встановлено летальну (DL₁₀₀) та напівлетальну (DL₅₀) дозу досліджуваного препарату.

Для обрахунку середньо смертельних доз використали два методи: за Г. Кербером та Г. Першиним [11].

Результати досліджень. В процесі проведення наближеного етапу досліджень було встановлено, що загибель дослідних тварин відбувалася при отриманні ними досліджуваного препарату в дозах понад 50 мг/кг маси тіла. При цьому повне знерухомлення тварин наставало через 40 с, на фоні зростання частоти серцевих скорочень та тремороподібні конвульсії всього тіла. А загибель всіх експериментальних тварин відбувалась впродовж 3 хвилин після введення “ЛітарзинуTM” у вищезазначеній дозі.

Отримані показники загибелі тварин були враховані при проведенні основного (розгорнутого) етапу гострого досліду. При проведенні якого були взяті наступні дози препарату: 10, 20, 30 та 40 мг/кг маси тіла.

При надходженні препарату в дозі 10 мг/кг після введення “ЛітарзинуTM”, міорелаксуючий ефект наставав через 3–5 хвилин після надходження в організм лабораторних тварин досліджуваного засобу. Протягом перших декількох хвилин після ін’єкції препарату відмічали активне переміщення тварин кліткою. Коли розпочиналася дія введеного засобу рухи ставали стрибкоподібними. Відновлення

рухової активності у експериментальних тварин наставало протягом 17–24 год після ін'єкції “Літарзину[™]”. Із 8 тварин цієї групи залишились живими 7, але одна з дослідних тварин через 32 години – загинула.

У тварин, які отримали препарат в дозі 20 мг/кг, після введення препарату близько 1 хв. тварини активно переміщалися кліткою, поступово їх рухова активність знижувалася, відмічалися підвищення серцебиття та частоти дихальних рухів. Через 4–5 хв. після ін'єкції тварини реагували на зовнішні подразники, частота дихальних рухів та серцевих скорочень знижувалась і на 7–12 хв. наставало повне знерухомлення тварин.

На другу добу експерименту тварини починали реагувати на зовнішні подразники, проявляли незначну рухову активність намагаючись пересуватись кліткою, проте в подальшому у окремих з них їх стан погіршувався і відмічали їх загибель. Вона реєструвалася упродовж 37–56 год експерименту; при цьому із 8 тварин загинули 3.

Ін'єкція препарату “Літарзин[™]” у дозі 30 мг/кг викликала загибель 7 дослідних тварин впродовж 3–7 год експерименту. Впродовж 1–3 хв. після ін'єкції тварини намагалися переміщатися, хоча здійснювати самостійні рухи їм вдалося лише протягом 1–1,5 хв. після ін'єкції. Характерною ознакою були систематичні рухи хвоста, даний симптом не проявлявся за введення менших доз препарату. Повне знерухомлення тварин наставало через 6–9 хв.

Препарат у дозі 40 мг/кг спричинив загибель 100 % експериментальних тварин впродовж 9–18 хв. після надходження препарату. Вплив препарату розпочинався через 30 секунд після надходження досліджуваної речовини в організм. Впродовж першої хвилини після введення тварини переміщаються кліткою, проте хода хитка. Через 2–2,5 хв. стрибкоподібні переміщення відмічали у тварини лише після їх мануального подразнення, а через 5–6 хв. миші намагаються рухатися, реєструються тремороподібні скорочення кінцівок, рухи хвоста, проте до переміщення вони вже не здатні.

DL₅₀ препарату розраховували за формулою:

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum zd}{m},$$

де: DL₅₀ – доза, що визначаємо у препараті, який вивчаємо, та може викликати загибель у 50 % тварин,

DL₁₀₀ – доза препарату, яка вивчається, і викликає 100 % загибель дослідних тварин,

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами,

z – середньоарифметичне з числа тварин, які загинули,

m – число тварин у кожній групі.

Таблиця 1

Визначення DL₅₀ препарату “Літарзин[™]” на білих мишах за підшкірного введення при обчисленні за методом Г. Кербера

Дози препарату, мг/кг	10	20	30	40
вижило	7	5	1	0
загинуло	1	3	7	8
<i>z</i>	2,0 5,0 7,5			
<i>d</i>	10 10 10			
<i>zd</i>	20 50 75			

При визначенні середньосмертельної доз за методом Г. Кербера DL_{50} становила 21,87 мг/кг.

Середньо смертельну дозу (DL_{50}) препарату обраховували також за методом Г. Першина (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення DL_{50} препарату “ЛітарзинTM” на білих мишах за підшкірного введення при обчисленні за методом Г. Першина

Дози препарату, мг/кг	10	20	30	40
вижило	7	5	1	0
загинуло	1	3	7	8
відсоток тварин, які загинули	12,5	37,5	87,5	100,0
$a + b$	30 50 70			
$m - n$	25,0 50,0 12,5			
$(a + b)(m - n)$	750 2500 875			

При цьому використовуючи формулу:

$$DL_{50} = \frac{\sum (a + b)(m - n)}{200},$$

де: a і b – величини суміжних доз,

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

Згідно проведених нами розрахунків за використання обох методів величини середньо смертельних доз виявилися майже аналогічними 21,87 мг/кг (за Г. Кербером) та 20,63 мг/кг (за Г. Першином), що вказує на правильність проведення експерименту.

Висновки:

1. За підшкірного введення білим мишам-самцям і самкам препарат "ЛітарзинTM" згідно ГОСТ 12.1.007-76. відноситься до третього класу токсичності, тобто до речовин помірно токсичних.

2. DL_{50} експериментального препарату за підшкірного введення становить 21,87 мг/кг, при розрахунку за методом Г. Кербера (1931) та 20,63 мг/кг при розрахунку за Г. Першином.

3. Видової чутливості за статтю у тварин виявлено не було.

Перспективи подальших досліджень. Планується проведення подальших доклінічних досліджень експериментального засобу, зокрема визначення параметрів хронічної токсичності препарату “ЛітарзинTM” на лабораторних тваринах.

Список використаної літератури

1. *Зубарева И. М.* Основные гельминтозы домашних плотоядных в крупных городах (на примере г. Новосибирска) / И. М. Зубарева: Автореф. дис. ... к.вет.наук. – Новосибирск, 2001. – 22 с.

2. *Рыбалко В. А.* Регулирование численности безнадзорных и бездомных собак и кошек – мировой опыт / В. А. Рыбалко // Ветеринарная патология. – 2006. – №2 (17). – С. 12–19.

3. *Tacker L.* Stray animal control practice (Eurypa) / L. Tacker // RSPCA International, 2007. – 66 p.

4. www.firepaw.org/wpmodel.html.
5. http://ru.wikipedia.org/wiki/Бездомные_животные.
6. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.02.2006 р.
7. Акимов В. А. Научно-исследовательская работа по анализу и выбору методов регулирования численности безнадзорных животных / В. А. Акимов. – М.: Колос, 2000. – 54 с.
8. Логанов А. В. Регулирование численности домашних животных в городе путем их электрохирургической "стерилизации": Клинико-иммунологические показатели постоперационного процесса / А. В. Логанов // Автореф. дис. ... к.вет.наук. – М., 2002. – 18 с.
9. Препарат ін'єкційний ветеринарний "Літарзин[™]". Технічні умови 24.4-14332579-63:2011 – 17 с. / Березовський А.В., Михайлова Є.М.
10. Михайлова Є. М. Досвід застосування препарату "Літарзин[™]" для знедвиження безпритульних собак / Є. М. Михайлова, А. В. Березовський // Матер. Міжнар. конгресу спеціалістів ветеринарної медицини 4–5 жовтня 2012 р. – Київ, 2012. – С. 49–50.
11. 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.

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА "ЛИТАРСИН[™]" / Л. В. Нагорная, Е. Н. Михайлова

На основании полученных результатов, экспериментальный препарат "Литарзин[™]", согласно ГОСТ 12.1.007-76, относится к третьему классу токсичности. DL_{50} исследуемого препарата при условии подкожного введения лабораторным животным составила 21,87 мг/кг (расчет за методом Кербера). При расчете этих же показателей за методом Г. Першина, полужетельная доза составила 20,63 мг/кг.

Ключевые слова: бездомные животные, "Литарзин[™]", острая токсичность, обездвиживание животных.

DETERMINATION OF EXPERIMENTAL PREPARATION "LITARSIN" ACUTE TOXICITY PARAMETERS / L. V. Nagorna, E. M. Michailova

Based on the results of researches of acute toxicity indexes of preparation "Litarsin". It is set its lethal (DL_{100}) and semilethal doses (DL_{50}). According to them experimental preparation "Litarsin" belongs to the third class of toxicity. DL_{50} of the investigated preparation at hypodermic introduction is 21,87 mg/kg.

Key words: vagrant animals, "Litarsin", acute toxicity.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук, доцент **Г. А. Фотіна**