

УДК 619:615.5

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ПРЕПАРАТУ ФЛОРИКОЛ В УМОВАХ ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

Музика В.П.

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

Резистентність збудників інфекційних захворювань до антибіотиків стає все більшою проблемою у ветеринарній клінічній медицині. Ефективність багатьох антибактеріальних препаратів, що традиційно застосовуються для лікування інфекційних захворювань, знижується через зростаюче поширення стійких штамів бактерій. Фактором, що сприяє виникненню резистентності є, в першу чергу, неправильна та нераціональна антибіотикотерапія. Це недотримання термінів лікування, неправильне дозування препарату, часом не виправдана заміна одного антибіотику на інший, одночасне застосування препаратів-антагоністів тощо. Тому, впровадження у практику ветеринарної медицини комбінованих антимікробних ветеринарних препаратів є одним із ефективних шляхів боротьби із антибіотикорезистентністю мікроорганізмів [1–5].

Для профілактики та лікування бактерійних інфекцій великої рогатої худоби і свиней розроблено новий препарат Флорикол, до складу якого входять флорфенікол і флуніксин меглумін.

Важливим етапом доклінічних досліджень ветеринарних лікарських засобів є токсикологічні дослідження, які починають з гострого досліду. Це перший етап, метою якого є одержання інформації щодо небезпеки досліджуваної речовини в умовах короткотривалих досліджень та перспективи проведення подальших випробувань.

Метою дослідження було визначення гострої токсичності препарату Флорикол (розчин для ін'єкцій) при одноразовому введенні на лабораторних тваринах.

Матеріали та методи досліджень. Встановлення параметрів гострої токсичності проводили згідно з методичними вказівками «Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин» і монографією «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» [1, 2]. У цілому в дослідженнях використали 108 щурів і 60 мишей самців.

Організація дослідження спрямована на вирішення поставленої мети та базується на загальних принципах організації досліджень щодо вивчення токсичних властивостей речовин у гострому досліді на лабораторних тваринах (табл. 1).

Таблиця 1 – Схема дослідів з визначення гострої токсичності препарату Флорикол

Групи	Вид, стать, маса тіла тварин	К-ть тварин у групі	Дози, к-ть	Об'єм розчину для введення, см ³ /тварина	Режим введення
1	щури-самці масою 180–200 г	6	5	0,3–2,0	внутрішньошлунково, однократно
2	миші-самці масою 18–20 г	10	6	0,1–1,0	внутрішньошлунково, однократно
3	щури-самці масою 180–200 г	6	7	0,2–1,5	підшкірно, однократно
4	щури-самці масою 180–200 г	6	6	0,2–1,5	внутрішньом'язово, однократно

Флорикол вводили одноразово у дозах: внутрішньошлунково щурам – 500; 1000; 3000; 4000 і 5000 мг/кг маси тіла; мишам – 1000; 5000; 7000; 10000; 12000 і 14000 мг/кг маси тіла. Щурам препарат вводили без розведення, за винятком найнижчої дози, тобто 500 мг/кг. У цьому випадку Флорикол розводили сумішшю (1:1) води для ін'єкцій і ПЕГ-400. При введенні препарату мишам у дозах 1000–7000 мг/кг, його розводили вказаною сумішшю, при призначенні в дозах 10000–14000 мг/кг Флорикол вводили без розведення.

Підшкірне введення випробовуваного препарату щурам проводили в дозах: 500; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000 і 7000 мг/кг маси тіла; внутрішньом'язове – у дозах 1000; 2000; 3000; 4000; 5000 і 7000 мг/кг маси тіла. Препарат вводили підшкірно в ділянки спини; внутрішньом'язові ін'єкції проводили із внутрішньої сторони стегна. У всіх випадках Флорикол вводили в одну точку.

Під час досліду впродовж 14 діб проводили спостереження за загальним станом і поведінкою тварин і можливою загибеллю, а також проявом симптомів інтоксикації; відмічали особливості поведінки, прийому корму та води; враховували стани шерстного покриву, слизових оболонок.

Значення LD₅₀ та інших параметрів розраховували з використанням методу Кербера [3].

Результати досліджень. Результати перорального введення Флориколу щурам і мишам у дозах, використаних у гострому досліді, узагальнені в таблицях 2 і 3.

Встановлено, що за умов визначення гострої токсичності, щури загинули після введення Флориколу у дозі 5000 мг/кг. Ведення препарату у дозах 500 і 1000 мг/кг не привело до загибелі щурів; при подальшому збільшенні доз, що вводилися, пропорційно зростала кількість загиблих тварин.

При введенні токсичних доз препарату симптоми інтоксикації у щурів з'являлися досить швидко, приблизно через 0,5–1 годину.

Клінічна картина гострого отруєння Флориколом виражалася в пригніченні, діареї, почервонінні навколо носа; тварини мали неохайний вигляд; з часом спостерігали виснаження.

Динаміка загибелі мала досить незвичний характер (табл. 2). Абсолютно очевидно, що падіж щурів носив уповільнений характер. У перші сім діб після введення препарату загибель тварин була відсутня. Вона виявлялася з 8-ої по 14-ту добу досліду.

Таблиця 2 – Динаміка загибелі щурів після перорального введення препарату

Доза, мг/кг	Динаміка загибелі щурів після введення препарату (доба)														Загибель щурів у загальному к-ть загинувши/ загальна к-ть	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1/6
4000	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2/6
5000	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	1	0	6/6

При введенні Флориколу в дозі 4000 мг/кг відмічали виділення рідких темних фекалій; у тих щурів, які залишилися живими, фекалії набули нормального кольору тільки через 7 діб; за дози 5000 мг/кг — на хвості та навколо анусу була яскраво-червона кров. При розтині щурів, які загинули, у шлунку, тонкому та товстому кишечнику відмічали значне здуття, слизова оболонка органів була гіперемійована; у окремих щурів мали місце одиничні точкові крововиливи, проте порушень цілісності слизової оболонки і множинних грубих порушень (численні крововиливи, ерозії, перфорації) не спостерігали. Вказані ознаки, на наш погляд, є результатом введення високих доз Флориколу, що містить флуноксину меглумін, нестероїдного протизапального препарату (НПВП). Як відомо, для препаратів цієї групи характерна пошкоджуюча дія на слизових оболонках органів шлунково-кишкового тракту.

У таблиці 3 приведені результати перорального введення Флориколу мишам. Дози 1000 і 5000 мг/кг не викликали загибелі мишей; дози 7000–14000 мг/кг були явно токсичними і призводили до загибелі тварин; доза 14000 мг/кг виявилася абсолютно смертельною.

Таблиця 3 – Динаміка загибелі мишей після перорального введення препарату

Доза, мг/кг	Динаміка загибелі мишей після введення препарату (доба)														Загибель мишей у загальному (к-ть загинувших/загальна к-сть)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
7000	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3/10
10000	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	4/10
12000	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	8/10
14000	0	0	0	6	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	10/10

Характерна динаміка загибелі мишей, яка, мала швидший початок у порівнянні з щурами, але все-таки носила уповільнений характер. Загибель починали реєструвати на 4 добу після введення препарату, але вона тривала до 12-ої доби.

Картина інтоксикації у мишей була схожою із симптоматикою у щурів, проте виражалася у меншій мірі; серед ознак токсичної дії препарату можна було виділити: пригнічення та наявність темних фекалій. При розтині мишей, які загинули, особливу увагу приділяли обстеженню стану слизової оболонки шлунково-кишкового тракту; у даному випадку відмічали гіперемію слизових оболонок, проте точкові крововиливи були відсутні (на відміну від щурів).

У досліджах оцінювали гостру токсичність Флориколу не лише при внутрішньошлунковому введенні, але й при підшкірному та внутрішньом'язовому, тобто шляхах, рекомендованих для застосування на практиці.

Результати підшкірного введення Флориколу щурам наведені в таблиці 4.

Таблиця 4 – Динаміка загибелі щурів після підшкірного введення препарату

Доза, мг/кг	Динаміка загибелі щурів після введення препарату (доба)														Загибель щурів у загальному (к-ть загинувших/загальна к-сть)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1/6
4000	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2/6
5000	0	2	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	4/6
7000	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6/6

Як видно з даних, наведених у таблиці 4, дози Флориколу 500, 1000 і 2000 мг/кг не викликали загибелі щурів. Введення препарату в діапазоні доз 3000–7000 мг/кг маси тіла викликало загибель тварин.

Загибель тварин від введення токсичних доз препарату при підшкірному введенні мала місце впродовж 11 діб. Проте, загибель щурів від високих доз Флориколу починалася досить швидко, тобто вже в першу-другу добу після введення.

Характер спостережуваних ознак інтоксикації мало відрізнявся від таких при внутрішньошлунковому введенні препарату щурам. Необхідно відмітити, що в картині отруєння також були присутніми симптоми порушення функції органів шлунково-кишкового тракту, причому, з мірою вираженості, що практично не відрізнялася від такої при пероральному введенні Флориколу. Отже, незважаючи на парентеральне введення випробовуваного препарату, цей побічний ефект також проявлявся. На розтині відмічали метеоризм і гіперемію слизових оболонок шлунку, тонкого та товстого кишечнику, особливо у високих дозах; у цілому ефект можна було оцінити 0,5 балами [8].

Введення Флориколу внутрішньом'язово в дозах 1000, 2000 і 3000 мг/кг не викликало загибелі щурів; дози 4000–7000 мг/кг були виражено токсичними і призводили до загибелі тварин; доза 7000 мг/кг виявилася абсолютно смертельною.

Результати внутрішньом'язового введення випробовуваного препарату щурам узагальнені в таблиці 5.

Загибель щурів відмічали впродовж 8 діб після введення препарату. Цікаво відмітити, що при порівнянні динаміки загибелі щурів від Флориколу при пероральному, внутрішньошлунковому та внутрішньом'язовому шляхах введення, в останньому випадку загибель щурів відмічали в коротші терміни.

**Розділ 8. Ветеринарна фармакологія та токсикологія. Якість і безпечність продуктів тваринництва.
Ветеринарно-санітарна експертиза. Екологічна та хімічна безпека**

Таблиця 5 – Динаміка загибелі щурів після внутрішньом'язового введення препарату

Доза, мг/кг	Динаміка загибелі щурів після введення препарату (доба)														Загибель щурів у загальному (к-ть загиблих/загальна к-сть)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
4000	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4/6
5000	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/6
7000	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6/6

Картина отруєння виражалася в пригніченні та симптомах, що висвітлюють негативний вплив препарату на слизові оболонки шлунково-кишкового тракту; останній ефект можна було оцінити 0,5 балами [8]. Крім того, при внутрішньом'язовому введенні Флориколу відмічали ущільнення в місці введення препарату (препарат вводили в одну точку).

Представлений вище фактичний матеріал став основою для розрахунку параметрів гострої токсичної дії Флориколу. Параметри розраховували двома загальноприйнятими статистичними методами: Кербера і Міллера, Тейнтера.

У таблиці 6 приведені значення LD₅₀ Флориколу, розраховані методом Кербера.

Таблиця 6 – Значення LD₅₀ Флориколу, розраховані за методом Кербера

Вид і стать тварин	Шляхи введення	Значення LD ₅₀ , мг/кг
Щури-самці	перорально	3916±379
Миші-самці	перорально	9150±534
Щури-самці	підшкірно	4333±412
Щури-самці	внутрішньом'язово	4083±375

Висновки. 1. Картина отруєння Флориколом в умовах гострого експерименту на лабораторних тваринах у цілому виражалася в пригніченні та симптомах, що висвітлюють негативний вплив препарату на функції органів ШКТ (метеоризм, значне здуття тонкого та товстого кишечника, темні фекалії, гіперемія слизових оболонок), причому, з мірою вираженості, що практично не відрізнялася як за перорального, так й за внутрішньошлункового та внутрішньом'язового шляхів введення препарату. Інтоксикація в мишей за характером була схожою із симптоматикою у щурів, проте виражалася у меншій мірі.

2. При пероральному введенні щурам і мишам самцям значення LD₅₀ Флориколу складають, відповідно, 3916±379 і 9150±534 мг/кг маси тіла. У відповідності із загальноприйнятою гігієнічною класифікацією згідно вимог ГОСТ 12.1.007-76 Флорикол відноситься до 3 класу небезпеки. Препарат проявляє більш високу токсичність для щурів, у порівнянні з мишами.

3. При підшкірному введенні щурам-самцям значення середньосмертельної дози Флориколу дорівнює 4333±412 мг/кг; при внутрішньом'язовому введенні щурам-самцям LD₅₀ складає 4083±375 мг/кг.

4. Препарат дещо менш токсичний при парентеральному введенні, у порівнянні з внутрішньошлунковим введенням, що, можливо, пов'язано з його депонуванням і поступовим вивільненням з місця ін'єкції в першому випадку.

Перспективи подальших досліджень. Одним із ефективних шляхів боротьби із антибіотикорезистентністю мікроорганізмів є впровадження у практику ветеринарної медицини комбінованих антимікробних ветеринарних препаратів. Отримані результати будуть використані при розробці нового комбінованого антибактеріального препарату Флорикол розчину для ін'єкцій.

Список літератури

1. Проблеми антибіотикорезистентності у ветеринарній медицині [Текст] / М.В. Косенко [та ін.] // Вет. медицина України. – 2005. – № 1. – С. 23–27.
2. Музика, В.П. Ефективність антимікробних препаратів при лікуванні свиней, хворих на респіраторні захворювання бактеріальної етіології [Текст] / В.П. Музика, Т.І. Стецько, М.В. Пашковська // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2008. – Вип. 9, № 4. – С. 266–271.
3. Антибіотикорезистентність та шляхи її подолання [Текст] : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. і пленуму Асоціації інфекціоністів Сумщини, 30-31 травня 2012 року, м. Суми / ред. М.Д. Чемич, В.М. Козько [та ін.]. – Суми : Сумський держ. ун-т, 2012. – 104 с.
4. Вітчизняні препарати для профілактики і лікування гострих респіраторних захворювань тварин і птиці [Текст] / В.П. Литвин [та ін.] // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2005. – Вип. 6, № 3, 4. – С. 163–169.
5. Антибіотики, сульфаниламиди і нітрофурану в ветеринарії [Текст] / В.Ф. Ковалів [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1988. – 223 с.
6. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин [Текст] : метод. рекомендації / М.В. Косенко [та ін.]. – К., 1997. – 34 с.
7. Коцюмбас, І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Текст] / І.Я. Коцюмбас. – Львів : Тріада плюс, 2005. – 356 с.
8. Беленький, М.Л. Елементи количественной оценки фармакологического эффекта [Текст] / М.Л. Беленький. – Л., 1963. – 152 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [Текст] / под ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М., 2005. – С. 515–531.

TOXICOLOGICAL ESTIMATION OF FLORICOL ON LABORATORY ANIMALS

Muzyka V.P.

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

Acute toxicity of Floricol (solution for injections) had been studied on experimental animals. LD₅₀ of Floricol at intragastric administration to rats and mice is equal to 3916±379 and 9150±534 mg/kg, respectively, of body weight. Rats have specific sensitivity to medicinal product. According to hygienic classification of State Standard 12.1.007-76 Floricol belongs to the 3rd class of risk (according to acute toxicity for rats that are the most sensitive to medicinal product). The meanings of LD₅₀ of Floricol at subcutaneous and intramuscular administration to rats coincide practically and equal to 4333±412 and 4083±375 mg/kg of body weight, respectively.