УДК 619:615.9:639.3.091

Визначення параметрів гострої токсичності препарату «Бровермектин-гранулят» на однорічках коропа

Ю.В. Лобойко, М.М. Данко, О.В. Крушельницька, С.І. Кравець
llobojko@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

У статті представлено результати досліджень щодо визначення параметрів гострої токсичності протипаразитарного препарату з групи макроциклічних лактонів. Матеріалом для дослідження гострої токсичності були однорічки любінського лускатого коропа. У досліді використовували препарат «Бровермектин-гранулят» (розробка НВФ «Бровафарма» серійного виробництва; 1 г препарату містить: активно діючу речовину (АДР) івермектин – 3,5 мг; токоферол ацетат – 20 мг). Введення препарату «Бровермектин-гранулят» здійснювали перорально за допомогою зонду в передній відділ кишечника риб. Препарат вводили риbam у формі гомогенної суспензії, виготовленої на 1% розчині крохмалу індивідуально, у дозах 1000, 4000, 8000, 12000, 16000 та 20000 мг/кг м.т. Для встановлення параметрів гострої токсичності визначали загальний стан і загибель риб; за дозою препарату «Бровермектин-гранулят» вираховували DL_{50} за методами Г. Кербера, Г. Першина, найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності за В.Б. Прозоровським, способом трьох точок за Б.М. Штабським. На даному етапі досліджень було виявлено смертельну (DL_{100}) та максимально переносиму (DL_0) дози препарату «Бровермектин-гранулят» для однорічок коропа. У результаті проведених досліджень встановлено, що 100% загибель риб настає за дози препарату 20000 мг/кг (DL_{100}), а за введення препарату в дозі 4000 мг/кг (DL_0) встановлено виживання 100% риб. Встановлено, що величини середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят» для риб, незалежно від методів підрахунків, в основному співпадали і становили 10932,8–11200 мг/кг маси тіла для однорічок коропа. Отже, препарат «Бровермектин-гранулят» за перорального введення риbam відноситься до 4-го класу токсичності – малотоксичні речовини.

Ключові слова: короп, макроциклічні лактони, бровермектин-гранулят, гостра токсичність.

Определение параметров острой токсичности препарата «Бровермектин-гранулят» на одногодках карпа

Ю.В. Лобойко, Н.Н. Данко, Е.В. Крушельницкая, С.И. Кравець
llobojko@ukr.net

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

В статье представлены результаты исследований по определению параметров острой токсичности противопаразитарного препарата из группы макроциклических лактонов. Материалом для исследования острой токсичности были одногодки любинского чешуйчатого карпа. В опыте использовали препарат «Бровермектин-гранулят» (разработка НПФ «Бровафарма» серійного производства; 1 г препарата содержит активно действующее вещество (АДВ) ивермектин – 3,5 мг; токоферол ацетат – 20 мг). Введение препарата «Бровермектин-гранулят» осуществляли перорально с помощью зонда в передний отдел кишечника рыб. Препарат вводили риbam в форме гомогенной суспензии, изготовленной на 1 % растворе крахмала индивідуально, в дозах 1000, 4000, 8000, 12000, 16000 и 20000 мг/кг. Для установления острой токсичности определяли общее состояние и гибель рыб; по дозе препарата «Бровермектин-гранулят» вычисляли DL_{50} по методам Г. Кербера, Г. Першина, наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности по В.Б. Прозоровскому, способом трех

Citation:

Loboiko, Yu.V., Danko, M.M., Krushelnyska, O.V., Kravets, S.I. (2017). Determination of the parameters of acute toxicity of «Bivermectin-granulate» on earlings carp. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhyskyj*, 19(74), 20–23.

точек по Б.М. Штабскому.

На данном этапе исследований определены смертельная (DL_{100}) и максимально переносимая (DL_0) дозы препарата «Бровермектин-гранулят» для одногодок карпа. В результате проведенных исследований установлено, что 100% гибель рыб наступает от дозы 20000 мг/кг (DL_{100}), а при введении препарата в дозе 4000 мг/кг (DL_0) установлено выживаемость 100% рыб.

Установлено, что величины среднесмертельной дозы препарата «Бровермектин-гранулят», независимо от методов расчетов, в основном совпадали и составляли 10932,8–11200 мг/кг массы тела для одногодок карпа. Следовательно, препарат «Бровермектин-гранулят» при пероральном введении рыбам относится к 4-му классу токсичности – малотоксичные вещества.

Ключевые слова: карп, макроциклические лактоны, бровермектин-гранулят, острая токсичность.

Determination of the parameters of acute toxicity of «Brovermectin-granulate» on earlings carp

Yu.V. Loboiko, M.M. Danko, O.V. Krushelnytska, S.I. Kravets
llobojko@ukr.net

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine

The paper presents the results of research to determine the parameters of acute toxicity of «Brovermectin-granulate». The material for the study of acute toxicity were of carp earlings. In experiment used drug «Brovermectin-granulate» (1 g of the drug contains: active atitoin substance ivermectin – 3.5 mg, tocopherol acetate – 20 mg). The introduction of the drug was carried out orally using a probe in anterior intestine of fish. The drug was administered to fish in the form of a homogeneous suspension produced 1 % starch solution individually, in doses of 1000, 4000, 8000, 12000, 16000 and 20000 mg/kg of body weight. For settings acute toxicity determined the general condition and death of fish; for a dose of the drug (DL_{50}) calculated by methods G. Kerber, H. Pershyn, least squares analysis of probit mortality curves for V.B. Prozorovskyj, means three points for B.M. Shtabskyj. At this stage of research it was found lethal (DL_{100}) and maximum tolerated (DL_0) dose of «Brovermectin-granulate» for earlings carp. As a result of studies found that 100% death of fish following the dose of 20000 mg/kg (DL_{100}), and for the drug at a dose of 4000 mg/kg (DL_0) set to survival of 100% fish. Established that the value of average lethal dose of «Brovermectin-granulate» for fish regardless of the method of calculation mainly coincided and were 10932,8–11200 mg/kg for earlings carp. Thus, the drug «Brovermectin-granulate» for oral administration to fish belongs to grade 4 toxicity – low toxic substances.

Keywords: carp, macrocyclic lactones, brovermectin-granulate, acute toxicity

Вступ

Більшість препаратів, які застосовуються у ветеринарній медицині для корекції різних патологічних станів, не завжди відповідають сучасним вимогам, оскільки є токсичними, мутагенними, чи володіють іншими побічними ефектами. У зв'язку з цим, актуальним є пошук і створення нових та вивчення існуючих нетоксичних препаратів біологічного походження для використання у рибористві.

На даний час для боротьби проти ектопаразитів риби застосовують велику кількість протипаразитарних засобів, однак більшість з них є малоефективними або високо токсичними (Davydov et al., 2009).

Відносно недавно, поряд із синтетичними піретроїдами і похідними бензimidазолу, для практики ветеринарної іхтіопатології були запропоновані макроциклічні лактони. З останніх найбільш вивчений івермектин у різних лікарських формах. Івермектин – це не однорідна сполука, а суміш двох подібних за структурою речовин H2B1a (> 80%) та H2B1b (< 20%). Він відзначається меншою токсичністю, кращою розчинністю та більшою стабільністю і володіє широким спектром та високою інтенсивністю протипаразитарної дії (нематододічна, інсектицидна, акарицидна активності). Однак, застосування івермектинів в іхтіопатології проводиться вкрай рідко, оскільки, за даними деяких авторів, івермектин, що надходить у зовнішнє середовище, довго зберігає активність, він

може бути токсичним для комах та водних безхребетних тварин. У випадку локального використання івермектину токсичність залежить від кількості тварин, дози препарату, періоду і повторюваності обробки (Samuelson, 2010; Veldhoen, 2012; Horsberg, 2012).

Головним завданням доклінічної оцінки безпеки ліків перед початком клінічних випробувань є вивчення в дослідних *in vivo* потенційної токсичності (Kocymbas et al., 2006; Yus'kiv and Berezhov's'kyj, 2008). На основі івермектину був створений протипаразитарний препарат «Бровермектин-гранулят», який широко застосовують у тваринництві, однак його вплив на організм риби досі не з'ясований.

Метою експерименту було дослідження класу токсичності лікарського засобу «Бровермектин-гранулят» за його введення однорічкам коропа.

Матеріал і методи досліджень

Досліди з гострої токсичності виконували на однорічках коропа в акваріумах ємністю 40 дм³, заповнених водою зі ставу, за дворазової повторюваності. Дослідження виконували на 60 рибах з середньою іхтіомасою 42,0 ± 3,0 г, за температури води 21,0 ± 2,0 °C, pH – 7,6 і вмісту O₂ – 6,0 ± 6,5 мг/л, де на кожну дозу було використано по 10 риби, яких адаптували впродовж 14 діб, протягом 24 годин до застосування препарату їх не годували. Оскільки препарат «Бровермектин-гранулят» у воді є слаботорозчинний, то

його вводили риbam у формі гомогенної суспензії, виготовленої на 1% розчині крохмалу індивідуально, у дозах 1000, 4000, 8000, 12000, 16000 та 20000 мг/кг маси тіла. Після введення препарату за рибами проводили спостереження упродовж 96 годин, враховуючи їх загальний стан, рухливість і реакцію.

Для визначення гострої токсичності визначали загальний стан і загибель риб; за дозою препарату «Бровермектин-гранулят», вираховували DL_{50} за методами Г. Кербера, Г. Першина, найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності за В.Б. Прозоровським, способом трьох точок за Б.М. Штабським (Prozorovski, 1962; Shtabskiy et al., 1980; Prozorovski, 1998).

Результати та їх обговорення

При застосуванні препарату «Бровермектин-гранулят» у дозі від 1000 до 4000 мг/кг маси тіла не виявлено загибелі однорічок коропа протягом 96 годин. Після введення препарату риbam не відзначали суттєвих змін у їх поведінці. Риби активно плавали, виділення івермектину (АДР препарату) з фекаліями відбувалося упродовж 24 годин (фекалії білого кольору, щільної консистенції, сформовані).

За вищих доз препарату (8000–16000 мг/кг), відмічали зниження активності та загибель окремих риб за 24–48 год. За збільшення дози до 20000 мг/кг встановлено, що риби гинули, починаючи з перших годин після його введення. Клінічні симптоми загибелі від препарату в однорічок коропа виявлялися (за великих доз) у прискоренні дихання, порушенні координації руху, опусканні на дно акваріуму з наступною загибеллю. За зменшення дози відмічали значне тривале пригнічення риб з наступним летальним кінцем. Слід зазначити, що за повторного проведення досліджень були отримані аналогічні результати.

Отже, на даному етапі досліджень було виявлено смертельну (DL_{100}) та максимально переносиму (DL_0) дози препарату «Бровермектин-гранулят» в однорічок коропа. За результатами проведених досліджень встановлено, що 100% загибель риб настає від дози препарату 20000 мг/кг (DL_{100}), а за введення препарату в дозі 4000 мг/кг (DL_0) встановлено виживання 100% риб (табл. 1).

Таблиця 1

Показники смертельної (DL_{100}) та максимально переносимої (DL_0) доз препарату «Бровермектин-гранулят» для однорічок коропа, мг/кг (n = 60)

Об'єкт досліджень	Бровермектин-гранулят		У перерахунку на діючу речовину	
	DL_{100}	DL_0	DL_{100}	DL_0
Однорічки коропа	20000	4000	70	14

Підрахунки середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят» проводили за різними методами. DL_{50} препарату на однорічках коропа за обчислення методами Г. Кербера та Г. Першина становила 11200 мг/кг, а у перерахунку на діючу речовину – івермектин – 39,2 мг/кг.

Параметри середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят» на однорічках коропа за обчислення методом В. Б. Прозоровського становили:

$DL_{50} = 11158,582$ ($8612,485 \div 13704,679$) мг/кг,

у перерахунку на діючу речовину – івермектин:

$DL_{50} = 39,055037$ ($30,143697 \div 47,966376$) мг/кг.

Параметри середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят» на однорічках коропа за внутрішньошлункового введення за обчислення методом Б. М. Штабського становили:

$DL_{50} = 10932,80$ ($8036,20 \div 13829,4$) мг/кг,

у перерахунку на діючу речовину – івермектин:

$DL_{50} = 38,2648$ ($28,1267 \div 48,4029$) мг/кг.

Визначені та вираховані середньосмертельні дози препарату «Бровермектин-гранулят» для однорічок коропа у перерахунку на готову лікарську форму та діючу речовину – івермектин подані у таблиці 2.

Таблиця 2

Величини середньосмертельних доз препарату «Бровермектин-гранулят» для однорічок коропа

Методи підрахунків за:	Середньосмертельна доза (DL_{50}) в мг/кг	
	Однорічки коропа (n = 50)	
Г. Кербером	11200	39,2
Г. Першиним	11200	39,2
В. Б. Прозоровським	11158,582 ($8612,485 \div 13704,679$)	39,055037 ($30,143697 \div 47,966376$)
Б. М. Штабським	10932,80 ($8036,20 \div 13829,4$)	38,2648 ($28,1267 \div 48,4029$)

Зазначимо, якщо за дослідження на токсичність новостворених ветеринарних препаратів середньосмертельні дози, що вираховувались різними методами, збігаються, тоді дослід проведено правильно, а препарат належить до відповідного класу токсичності. У нашому випадку величини середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят», незалежно від методів підрахунків, в основному співпадали і становили 10932,80–11200 мг/кг маси тіла для однорічок коропа.

Висновки

За результатами проведених досліджень встановлено, що 100% загибель однорічок коропа настає за дози препарату 20000 мг/кг (DL_{100}), а за введення препарату в дозі 4000 мг/кг (DL_0) встановлено виживання 100% риб.

Величини середньосмертельної дози препарату «Бровермектин-гранулят», незалежно від методів підрахунків, в основному співпадали і становили 10932,8–11200,0 мг/кг маси тіла для однорічок коропа. Препарат «Бровермектин-гранулят» за перорального введення риbam відноситься до 4-го класу токсичності – малотоксичні речовини.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку з одержаними результатами, виникає потреба дослідити хронічну токсичність препарату «Бровермектин-гранулят» на однорічках коропа.

Бібліографічні посилання

- Davydov, O.N., Abramov, A.V., Kurovskaya, L.Ya. (2009). By'ology'cheski'e preparaty i' xi'mi'cheski'e veshhestva v akvakul'ture. K. : Logos (in Russian).
- Samuelson, O.B. (2010). A single-dose pharmacokinetic study of emamectin benzoate in cod, *Gadus morhua* L., held in sea water at 9° C. J. Fish Dis. 33(2), 137–142.
- Veldhoen, N. (2012). Biological effects of the anti-parasitic chemotherapeutant emamectin benzoate on a non-target crustacean, the spot prawn (*Pandalus platyceros* Brandt, 1851) under laboratory conditions. Aq. Tox. 108, 94–105.
- Horsberg, T.E. (2012). Avermectin use in aquaculture. Curr. Pharm. Biotechnol. 13(6), 1095–1102.
- Kocymbas, I.Ya., Maly'k, O.G., Paterega, I.P. (2006). Doklinichni doslidzhennya vetery'narny'x likars'ky'x zasobiv. L'viv: Triada plyus (in Ukrainian).
- Yus'kiv, I.D., Berezovs'ky', A.V. (2008). Ekspery'mental'ne vy'znachennya gostroyi toksy'chnosti anty'gel'mintnogo preparatu «Ry'bolik». Vetery'narna medy'cy'na. 90, 455–460 (in Ukrainian).
- Shtabski', B.M., Gzhegoczki', M.Y', Gzhegoczki', M.R. (1980). K metodi'ke opredeleni'ya srednesmertel'nyx doz i' koncentraciy xi'mi'cheski'x veshhestv. Gi'gi'ena i' sani'tari'ya. 10, 49–51 (in Russian).
- Prozorovski', V.B. (1962). I' spol'zovani'e metoda nai'men'shy'x kvadratov dlya probi't-anali'za kri'veh letal'nosti'. Farmakologiy'a i' toksi'kologiy'a. 1, 115–119 (in Russian).
- Prozorovski', V.B. (1998). Tabli'chnyy ekspress-metod opredeleni'ya sredni'x effekti'vnyh mer vozdejstvi'ya na bi'ologiy'cheski'e ob'ekty. Toksi'kol. vestn. 1, 28–32 (in Russian).

Стаття надійшла до редакції 28.02.2017