



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10315
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.01:617:618

Preclinical evaluation of the veterinary drug “Amoxidex 15” for its use in surgical and obstetric practice

L.-M. Kostyshyn¹, R. Sachuk², Ye. Kostyshyn¹, O. Katsaraba¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

²Rivne State University for the Humanities, Rivne, Ukraine

Article info

Received 19.07.2021

Received in revised form

19.08.2021

Accepted 20.08.2021

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medi-
cine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-063-042-47-15
E-mail: katsaraba@gmail.com

Rivne State University for the
Humanities, Plastova Str., 29-a,
Rivne, 33028, Ukraine.
Tel.: +38-097-671-90-63
E-mail: sachuk.08@ukr.net

Kostyshyn, L.-M., Sachuk, R., Kostyshyn, Ye., & Katsaraba, O. (2021). Preclinical evaluation of the veterinary drug “Amoxidex 15” for its use in surgical and obstetric practice. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 23(103), 109–115. doi: 10.32718/nvlvet10315

Suspension for injection “Amoxidex 15” is prescribed to fur-bearing animals (mink, fox), dogs and cats for the treatment of respiratory diseases (tonsillitis, tracheitis, pneumonia, bronchitis, rhinitis, sinusitis, bronchopneumonia), digestive (gastritis, enteritis, enteritis), genitourinary systems (nephritis, urethritis, urocystitis, mastitis, metritis, agalactia), musculoskeletal system (arthritis, osteoarthritis, joint injuries, tendonitis, hoof lesions), skin and soft tissues (eczema, dermatitis) caused by sensitive drug by microorganisms, including colibacillosis, streptococcus, bronchopneumonia, etc. Toxicological evaluation of the veterinary drug “Amoxidex 15” under the conditions of acute and subacute toxicological experiments on a model of white rats. According to the results of an acute toxicological experiment with intragastric administration of the drug “Amoxidex 15” white rats DL_{50} could not be calculated because the death of laboratory animals was not detected within 14 days after administration. The maximum administered dose (in absolute weight of the drug) was 20000.0 mg/kg body weight, which allows to refer the drug to class VI toxicity of relatively harmless substances ($DL_{50} > 15000$ mg/kg body weight), and the degree of safety to class IV – low-hazard substances ($DL_{50} > 5000$ mg/kg). According to the results of an acute toxicological experiment with subcutaneous administration of the drug “Amoxidex 15” white rats DL_{50} could not be calculated because the death of laboratory animals was not detected within 14 days after administration, the maximum dose was 5000.0 mg/kg body weight, therefore, the drug “Amoxidex 15” when administered subcutaneously by toxicity can be classified as class VI substances relatively harmless (DL_{50} Subcut > 4500.0 mg/kg). When administered subcutaneously to white rats, the drug “Amoxidex 15” under conditions of subacute toxicological experiment in doses of 0.1–1.0 ml/kg does not cause hemo-, hepato- and nephrotoxic effects on the body of laboratory animals, although 3-day administration of the drug in a dose 1.0 ml/kg body weight caused an increase in the activity of hepatospecific enzymes ALT and AST by 12.5 and 11.1 % ($P < 0.05$), respectively, relative to the control, which was restored to the control level 7 days after cessation.

Key words: Amoxidex 15, rats, acute toxicity, subacute toxicity, lethality.

Доклінічна оцінка ветеринарного препарату “Амоксидев 15” щодо застосування його у хірургічній та акушерській практиці

Л.-М. Є. Костишин¹, Р. М. Сачук², Є. Є. Костишин¹, О. А. Кацараба¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Рівненський державний гуманітарний університет, м. Рівне, Україна

Сспензію для ін'єкцій “Амоксидев 15” призначають хутровим звірам (норка, песець), собакам та кішкам для лікування захворювань респіраторної (тонзиліти, трахеїти, пневмонії, бронхіти, риніти, синусити, бронхопневмонії), травної (гастрити, енте-

ритити, перитоніти), сечостатевої систем (нефрити, уретрити, уроцистити, мастити, метрити, агалактія), опорно-рухового апарату (артрити, артрози, травми суглобів, тенденіти, ураження копит), шкіри та м'яких тканин (екземи, дерматити), викликаних чутливими до дії препарату мікроорганізмами, в тому числі при колібактеріозі, стрептококозі, бронхопневмоніях тощо. Проведено токсикологічну оцінку ветеринарного препарату "Амоксидев 15" за умов гострого та підгострого токсикологічних експериментів на моделі білих щурів. За результатами гострого токсикологічного експерименту при внутрішньошлунковому введенні препарату "Амоксидев 15" білим щурам DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 20000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє зарахувати препарат до VI класу токсичності – речовини порівняно нешкідливі ($DL_{50} > 15000$ мг/кг маси тіла), а за ступенем безпеки до IV класу – малонебезпечних речовин ($DL_{50} > 5000$ мг/кг). За результатами гострого токсикологічного експерименту при підшкірному введенні препарату "Амоксидев 15" білим щурам DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення, максимальна введена доза при цьому становила 5000,0 мг/кг маси тіла, тому препарат "Амоксидев 15" при підшкірному введенні за токсичністю можна зарахувати до VI класу – речовини порівняно нешкідливі ($DL_{50\text{Subcut}} > 4500,0$ мг/кг). При підшкірному введенні білим щурам препарат "Амоксидев 15" за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,1–1,0 мл/кг не спричиняє гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, хоча 3-добове введення препарату в дозі 1,0 мл/кг маси тіла викликало підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ на 12,5 та 11,1 % ($P < 0,05$) відповідно щодо контролю, що відновлювалися до рівня контрольних через 7 діб після припинення.

Ключові слова: Амоксидев 15, щури, гостра токсичність, підгостра токсичність, летальність.

Вступ

Значне поширення захворювань сечостатевої системи (нефрити, пієліти, пієлонефрити, уретрити, уроцистити, мастити, метрити, агалактія), опорно-рухового апарату (артрити, артрози, травми суглобів, тенденіти, ураження копит), шкіри та м'яких тканин (екземи, дерматити) серед хутрових звірів (норка, песець), собак, кішок вимагає застосування високоефективних антибактеріальних препаратів як у хірургічній, так і в акушерсько-гінекологічній практиці. Тому на сьогодні не втрачає актуальності розробка протимікробних засобів, які володіють значною чутливістю та ефективністю.

З кожним роком необхідність в протимікробних препаратах тільки зростає. З'являються все нові штами мікроорганізмів, стійкі до деяких старих типів антибіотиків. Але все ж залишаються ще "zasлужені" препарати, цілком ефективні і щодо нових збудників хвороб. Ось, наприклад, Амоксицилін. Так називається досить "старенький" антибіотик з групи пеніцилінів. На даний момент вважається одним з найбільш простих і порівняно безпечних засобів. Належить до препаратів широкого спектра дії, тобто досить ефективний проти грам-позитивних (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Clostridium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium* spp.) та деяких грамнегативних мікроорганізмів (*Salmonella* spp., *Pasteurella* spp., *Haemophilus* spp., *Actinobacillus* spp., *Bordetella bronchiseptica*, *E. coli*, *Fusobacterium* spp., *Moraxella* spp., *Proteus mirabilis*). Амоксицилін не ефективний щодо штамів, що продукують бета-лактамазу. Механізм дії амоксициліну полягає у пригніченні синтезу білків клітинної стінки мікробної клітини.

Сучасною фармацевтичною промисловістю Амоксицилін для тварин випускається відразу в декількох формах: розчин для ін'єкцій, суспензія для ін'єкцій і для внутрішнього застосування (увага, це абсолютно різні лікарські форми), таблетки та порошок. Останній потрібно розводити у воді і задавати тваринам всередину. У ветеринарній практиці найчастіше використовується 15 % розчин, оскільки його

набагато простіше дозувати. Після прийому препарат досить швидко всмоктується в кров.

Особливість Амоксициліну: тривалий час зберігається його лікувальна концентрація в крові, яка може триматися до двох діб з моменту останнього прийому ліків. Зазначимо, що максимально можливий вміст препарату в організмі спостерігається в печінці, нирках, сечовому міхурі, а також м'язовій тканині. З тіла виводиться з сечею (більше ніж 90 %), в дуже невеликих дозах – з жовчю. З огляду на спосіб виведення, не доводиться дивуватися високій ефективності ліків при циститі. Зрозуміло, це справедливо тільки в разі наявності чутливих до нього мікроорганізмів.

Аналоги цього антибіотика досить численні. Всього їх налічується близько 20 найменувань, але з кожним роком з'являються нові марки. Найпоширеніший Амоксиклав, а також Амоксисілар, Амоксисар і Данемокс.

Сьогодні фармацевти все частіше намагаються додавати до даного антибіотика різні "присадки", які підвищують його стійкість в організмі та подовжують дію (класичний приклад – Амоксиклав).

Так, ТОВ "ДЕВІЕ" розроблено препарат – "Амоксидев 15". Один мілілітр препарату містить діючу речовину: амоксициліну три гідрат – 150 мг. Допоміжна речовина: масло вазелінове.

Обов'язковою умовою застосування нових лікарських препаратів є попередні доклінічні та клінічні випробування, насамперед токсикологічні дослідження на лабораторних тваринах (Gutyj et al., 2016; 2017; 2018; Todoriuk et al., 2018; Hunchak et al., 2020; Vasylyev et al., 2021).

Метою досліджень було проведення токсикологічної оцінки ветеринарного препарату "Амоксидев 15" виробництва ТОВ "ДЕВІЕ" (Україна) за умов гострого та підгострого токсикологічних експериментів на моделі білих щурів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження параметрів гострої токсичності препарату були проведені на нелінійних білих щурах-самках ($n = 36$) 4-місячного віку, масою 200–220 г відповідно до рекомендацій (Kotsiumbas, 2005), що утримувались за оптимальних умов віварію ТОВ

“ДЕВІЕ” (м. Рівне) (Zapadniuk, 1983; Kotsiumbas, 2005; Karkyshchenko & Hrachev, 2010): температура у приміщенні складала (18 ± 2) °С, відносна вологість повітря (60–70) %, цикл освітлення день-ніч, упродовж експерименту, складав (10–14) год, а також було забезпечено 10-разову зміну об'єму повітря в кімнати віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози препарату, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура. За принципом аналогів було сформовано 5 дослідних груп: щурам вводили препарат в дозах 1000,0; 5000,0; 10000,0; 15000,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово (دوزи 1000,0–10000,0 мг/кг маси тіла) і дворазово (دوزи 15000,0–20000,0 мг/кг маси тіла) перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Щурам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили дистильовану воду в об'ємі 2,0 см³. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 щурів (n = 6). Загальний термін дослідження склав 14 діб.

Виявляли можливу появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження щурів звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шерстного покриву, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору фекалій тощо.

Варто зазначити, що маніпуляції над щурами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів (European convention, 1986; Council Directive 86/609/EEC, 1986; Zakonu Ukrainy № 5456-VI, 2012), що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1986).

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патологоанатомічних змін використовували макроскопічний метод досліджень. Патологоанатомічний розтин виконували за такою схемою:

- на першому етапі проводили зовнішній огляд, враховуючи стан шерстного покриву і слизових оболонок;

- на другому – виконували розтин та огляд порожнин тіла і внутрішніх

органів, таких як глотка, трахея, гортань, серце, легені, печінка, селезінка,

нирки, шлунок, кишечник, відмічаючи зміни кольору, консистенції, малюнку та форми органів.

Визначення параметрів гострої токсичності препарату “Амоксидев 15” за одноразового підшкірного введення білим щурам було проведено на 36 самцях нелінійних білих щурів 3–4-місячного віку і масою 190–200 г, що утримувались за оптимальних умов віварію ТОВ “ДЕВІЕ” (м. Рівне) (Zapadniuk, 1983; Kotsiumbas, 2005; Karkyshchenko & Hrachev, 2010).

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно за один раз, не перевищував 10,0 см³. За принципом аналогів було сформовано 5 дослідних груп: щурам вводили препарат у дозах 1000,0; 2000,0; 3000,0; 4000,0 і 5000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату. Тваринам контрольної групи підшкірно вводили вазелінове масло об'ємом 1,0 см³. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 щурів (n = 6). Загальний термін дослідження склав 14 діб, порядок проведення якого був аналогічний описаному вище.

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патологоанатомічних змін використовували макроскопічний метод досліджень. Патологоанатомічний розтин виконували за схемою, поданою вище.

Визначення токсичності препарату “Амоксидев 15” при повторних уведеннях на білих щурах (підготовка токсичність при підшкірному введенні) проводили на 96 лабораторних статевозрілих білих щурах-самцях, масою 180,0–200,0 г.

Препарат “Амоксидев 15” вводили підшкірно протягом 3-х діб потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 24 щури у кожній (n = 24): контрольна група – тварини, яким вводили вазелінове масло. І дослідна група – тварини, яким вводили препарат “Амоксидев 15” у дозі 0,1 мл/кг маси тіла (терапевтична, згідно з листівкою-вкладкою), II дослідна група – 0,5 мл/кг (п'ятикратна) та III група – 1,0 мл/кг (десятикратна) маси тіла відповідно.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин порівняно з контрольними впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) і гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ), рівень загальних протеїнів, альбумінів, а також вміст кінцевих продуктів протеїнового розкладу – сечовини та креатиніну відповідно. Дослідження проведені на базі лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ “ДЕВІЕ” з використанням обладнання ImmunoChem-2100 – багатфункціонального мікропланшетного фотометра; Immunochem-2200-2 – термошейкера на 2 планшети та набору реактивів фірм “Філісіт-Діагностика”.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням пакету програм Microsoft Excel 2003

(for Windows XP), вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

У результаті одноразового внутрішньошлункового введення шурам-самкам препарату в дозах (за абсолютною масою) 1000,0; 5000,0; 10000,0 15000,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла були отримані такі результати.

Клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення препарату шурам I–III дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Шури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду.

За кратного введення препарату шурам IV–V дослідних груп (доза 15000,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла) у тварин спостерігали незначне збудження протягом 3-х годин після останнього введення, також був дещо знижений прийом корму. Клінічний стан шурів даних дослідних груп відновлювався на першу-другу добу після введення.

Загибелі шурів у всіх дослідних групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження.

На 15-у добу досліду проводили евтаназію шурів за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікання з ротової (носової) порожнини та ануса не виявляли.

На розтині (щодо контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не виявляли; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка (лише у тварин IV–V дослідних груп) нерівномірно забарвлена, дряблуватої консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричневого кольору, не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень препарату “Амоксидев 15 П.Д.” DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення.

При цьому максимальна доза (за абсолютною масою препарату) становила 20000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє зарахувати препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($DL_{50} > 15000$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($DL_{50} > 5000$ мг/кг) (HOST 12.1.007-76, 1982; Kotsiumbas, 2005).

У результаті одноразового підшкірного введення шурам-самцям препарату в дозах (за абсолютною масою) 1000,0; 2000,0; 3000,0 4000,0 і 5000,0 мг/кг маси тіла були отримані такі результати.

Клінічні спостереження показали, що одноразове підшкірне введення препарату шурам I–III дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Шури

були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду.

За кратного введення препарату шурам IV–V дослідних груп (доза 4000,0 і 5000,0 мг/кг маси тіла) у тварин спостерігали незначне збудження протягом 3-х годин після останнього введення, також був дещо знижений прийом корму. Клінічний стан шурів даних дослідних груп відновлювався на першу-другу добу після введення.

Загибелі шурів у всіх дослідних групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження.

На 15-у добу досліду проводили евтаназію шурів за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікання з ротової (носової) порожнини та ануса не виявляли.

На розтині (щодо контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не виявляли; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка (лише у тварин IV–V дослідних груп) нерівномірно забарвлена, дряблуватої консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричневого кольору, не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено.

Варто зазначити, що в місцях введення препарату у шурів I–IV дослідних груп не виявляли наявності інфільтрату, тимчасом як у V дослідній групі (доза 5000,0 мг/кг) в місці введення був незначний інфільтрат.

За результатами токсикологічних досліджень препарату “Амоксидев 15” DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення, максимально введена доза при цьому становила 5000,0 мг/кг маси тіла, тому препарат “Амоксидев 15” при підшкірному введенні за токсичністю можна зарахувати до VI класу – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50Subcut} > 4500,0$ мг/кг) (Kotsiumbas, 2005).

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у шурів вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму, а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану шурів дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем.

Протягом всього терміну спостереження (10 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не виявляли.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові шурів у динаміці введення препарату

“Амоксидев 15” наведено в табл.1. З результатів, наведених у табл. 1, виявлено, що під час визначення гематологічних показників крові дослідних щурів патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату “Амоксидев 15”, у тварин не зареєстровано. Вміст загального гемоглобіну, рівень гематокриту та кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові

щурів до та після введення препарату під шкіру за значенням статистично не змінювались.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові щурів у динаміці введення препарату “Амоксидев 15” наведено в табл. 2.

Таблиця 1

Рівень гематологічних показників периферичної крові щурів за під гострого підшкірного введення препарату “Амоксидев 15” (M ± m; n = 6)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	1-а доба	4-а доба	7 доба після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/л				
Контроль	96,40 ± 2,90	97,35 ± 2,60	98,85 ± 3,70	97,40 ± 2,40
0,10 мл/кг	97,10 ± 3,20	99,25 ± 3,30	97,40 ± 2,60	99,75 ± 2,80
0,50 мл/кг	97,30 ± 2,10	99,40 ± 3,70	98,70 ± 3,50	98,35 ± 3,30
1,0 мл/кг	96,20 ± 3,05	98,65 ± 2,45	96,60 ± 2,90	100,05 ± 4,25
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	41,40 ± 2,40	42,27 ± 1,25	43,24 ± 2,73	44,27 ± 2,72
0,10 мл/кг	42,50 ± 2,35	43,43 ± 2,84	45,33 ± 1,86	44,43 ± 2,37
0,50 мл/кг	41,27 ± 1,78	43,71 ± 2,63	44,78 ± 1,67	45,37 ± 2,73
1,0 мл/кг	40,77 ± 2,21	41,84 ± 1,17	43,29 ± 3,14	44,72 ± 3,42
Еритроцити (RBC), Т/л				
Контроль	7,54 ± 0,75	7,93 ± 0,77	7,46 ± 0,82	7,33 ± 0,76
0,10 мл/кг	8,05 ± 0,37	7,85 ± 0,32	7,68 ± 0,65	7,59 ± 0,61
0,50 мл/кг	7,92 ± 0,63	7,77 ± 0,64	7,83 ± 0,39	7,66 ± 0,78
1,0 мл/кг	7,75 ± 0,88	8,04 ± 0,89	7,64 ± 0,73	7,89 ± 0,53
Лейкоцити (WBC), Г/л				
Контроль	10,24 ± 0,62	10,15 ± 0,44	10,58 ± 0,76	10,22 ± 0,73
0,10 мл/кг	10,33 ± 0,21	10,24 ± 0,77	10,46 ± 0,68	10,30 ± 0,92
0,50 мл/кг	10,35 ± 0,70	10,60 ± 0,56	10,49 ± 0,81	10,33 ± 0,61
1,0 мл/кг	10,48 ± 0,54	10,48 ± 0,62	10,64 ± 0,52	10,34 ± 0,86

Таблиця 2

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату “Амоксидев 15” (M ± m; n = 6)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	1-а доба	4-а доба	7 доба після припинення введення
1	2	3	4	5
Активність АЛТ, мкмоль/год × см ³				
Контроль	2,58 ± 0,14	2,55 ± 0,14	2,57 ± 0,12	2,54 ± 0,08
0,10 мл/кг	2,56 ± 0,13	2,53 ± 0,12	2,53 ± 0,17	2,52 ± 0,07
0,50 мл/кг	2,50 ± 0,18	2,57 ± 0,10	2,53 ± 0,14	2,48 ± 0,10
1,0 мл/кг	2,54 ± 0,12	2,61 ± 0,13	2,89 ± 0,11*	2,59 ± 0,12
Активність АСТ, мкмоль/год × см ³				
Контроль	1,70 ± 0,11	1,74 ± 0,15	1,71 ± 0,08	1,74 ± 0,14
0,10 мл/кг	1,82 ± 0,16	1,80 ± 0,12	1,78 ± 0,16	1,80 ± 0,10
0,50 мл/кг	1,83 ± 0,12	1,85 ± 0,10	1,83 ± 0,07	1,85 ± 0,17
1,0 мл/кг	1,80 ± 0,10	1,82 ± 0,09	1,90 ± 0,08*	1,83 ± 0,16
Активність ГГТ, ммоль/год × л				
Контроль	0,39 ± 0,03	0,41 ± 0,04	0,39 ± 0,07	0,41 ± 0,04
0,10 мл/кг	0,37 ± 0,05	0,39 ± 0,08	0,42 ± 0,04	0,41 ± 0,03
0,50 мл/кг	0,41 ± 0,07	0,37 ± 0,06	0,43 ± 0,03	0,39 ± 0,05
1,0 мл/кг	0,37 ± 0,09	0,42 ± 0,05	0,41 ± 0,09	0,43 ± 0,07
Загальні протеїни, г/л				
Контроль	65,36 ± 3,42	64,68 ± 2,50	65,13 ± 3,73	66,45 ± 2,58
0,10 мл/кг	66,73 ± 2,30	66,13 ± 3,43	65,72 ± 3,28	63,74 ± 3,44
0,50 мл/кг	68,12 ± 3,28	64,77 ± 2,75	66,26 ± 3,16	66,32 ± 2,63
1,0 мл/кг	67,55 ± 2,54	65,55 ± 3,16	66,85 ± 2,75	67,42 ± 2,28

1	2	3	4	5
Альбумін, г/л				
Контроль	26,85 ± 2,46	27,85 ± 2,76	28,41 ± 3,04	28,47 ± 1,83
0,10 мл/кг	25,69 ± 2,52	27,73 ± 3,16	27,56 ± 2,28	28,53 ± 1,47
0,50 мл/кг	27,72 ± 3,23	28,12 ± 2,28	27,71 ± 3,43	28,81 ± 2,26
1,0 мл/кг	26,82 ± 2,71	27,46 ± 2,62	28,29 ± 1,86	28,22 ± 2,43
Креатинін, мкмоль/л				
Контроль	85,43 ± 3,17	86,68 ± 2,78	86,36 ± 3,47	87,12 ± 2,82
0,10 мл/кг	87,61 ± 2,44	82,85 ± 3,65	84,45 ± 2,29	85,31 ± 2,63
0,50 мл/кг	84,21 ± 2,29	83,11 ± 3,27	82,85 ± 3,82	83,58 ± 2,29
1,0 мл/кг	83,74 ± 3,42	88,66 ± 3,48	88,69 ± 3,47	87,17 ± 3,57
Сечовина, ммоль/л				
Контроль	7,32 ± 0,30	7,34 ± 0,26	7,32 ± 0,42	7,37 ± 0,31
0,10 мл/кг	7,43 ± 0,46	7,40 ± 0,47	7,38 ± 0,26	7,33 ± 0,46
0,50 мл/кг	7,38 ± 0,22	7,37 ± 0,32	7,40 ± 0,60	7,32 ± 0,50
1,0 мл/кг	7,36 ± 0,14	7,40 ± 0,45	7,39 ± 0,52	7,40 ± 0,42

Примітка: * – $P < 0,05$ – щодо контролю

З даних табл. 2 видно, що значення біохімічних показників крові щурів як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці введення та через 7 діб після припинення введення препарату “Амоксидев 15” у дозах 0,5 і 1,0 мл/кг перебували у межах норми та вірогідно не відрізнялися між собою.

Проте у сироватці крові щурів, яким вводили препарат в дозі 1,0 мл/кг маси тіла, на 4-у добу реєстрували підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ на 12,5 та 11,1 % ($P < 0,05$) відповідно щодо контрольного рівня показників. Але вже через 7 діб після припинення введення препарату значення цих показників не відрізнялись від таких у групі контролю.

Отже, можна зробити висновок, що підшкірне введення щурам препарату “Амоксидев 15” в дозах 0,10–1,0 мл/кг маси тіла не спричиняє гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту.

Висновки

1. За результатами гострого токсикологічного експерименту при внутрішньошлунковому введенні препарату “Амоксидев 15” білим щурам DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 20000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє зарахувати препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($DL_{50} > 15000$ мг/кг маси тіла), а за ступенем безпеки до IV класу – малонебезпечних речовин ($DL_{50} > 5000$ мг/кг).

2. За результатами гострого токсикологічного експерименту при підшкірному введенні препарату “Амоксидев 15” білим щурам DL_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення, максимальна введена доза при цьому становила 5000,0 мг/кг маси тіла, тому препарат “Амоксидев 15” при підшкірному введенні за токсичністю можна зарахувати до VI класу – речовини відносно нешкідливі ($DL_{50} \text{ Subcut} > 4500,0$ мг/кг).

3. При підшкірному введенні білим щурам препарат “Амоксидев 15” за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,1–1,0 мл/кг не спричиняє гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, хоча 3-добове введення препарату в дозі 1,0 мл/кг маси тіла викликало підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ на 12,5 та 11,1 % ($P < 0,05$) відповідно щодо контролю, що відновлювалися до рівня контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на завершення клінічних випробувань суспензії для ін'єкцій “Амоксидев 15” при її застосуванні за хірургічної та акушерської патології м'ясоїдних тварин.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal of the European Communities L 358.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Council of Europe. Strasbourg.
- Gutyj, B., Grymak, Y., Hunchak, V., Mysak, A., Nazaruk, N., Brezvyn, O., Hariv, I., Shcherbatyy, A., Semeniv, B., Bushueva, I., Parchenko, V., & Kaplaushenko, A. (2018). Preclinical searches of the preparation Threomagnile. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 688–695. doi: 10.15421/2018_267.
- Gutyj, B., Khariv, I., Binkevych, V., Binkevych, O., Levkivska, N., Levkivskyj, D., & Vavrysevich, Y. (2017). Research on acute and chronic toxicity of the experimental drug Amprolinsyl. *Regul. Mech. Biosyst.*, 8(1), 41–45. doi: 10.15421/021708.
- Gutyj, B., Martyshchuk, T., Bushueva, I., Semeniv, B., Parchenko, V., Kaplaushenko, A., Magrelo, N.,

- Hirkovyy, A., Musiy, L., & Murska, S. (2017). Morphological and biochemical indicators of blood of rats poisoned by carbon tetrachloride and subject to action of liposomal preparation. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(2), 304–309. doi: 10.15421/021748.
- Gutyj, B., Paska, M., Levkivska, N., Pelenyo, R., Nazaruk, N., & Guta, Z. (2016). Study of acute and chronic toxicity of 'injectable mevesel' investigational drug. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*, 6(2), 174–180. doi: 10.15421/201649.
- HOST 12.1.007-76. SSBT. (1982). *Vrednye veshchestva. Klassyfykatsiya y obshchye trebovaniya bezopasnosti*. [Harmful substances. Classification and general safety requirements]. M.: Yzd-vo standartov (in Russian).
- Hunchak, V. M., Martynyshyn, V. P., Gutyj, B. V., Hunchak, A. V., Stefanyshyn, O. M., & Parchenko, V. V. (2020). Impact of 1,2,4-thio-triazole derivative-based liniment on morphological and immunological blood parameters of dogs suffering from dermatomycoses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2), 294–298. doi:10.15421/022044.
- Karkyshchenko, N. N., & Hrachev, S. V. (2010). *Rukovodstvo po laboratornym zhyvotnym y alternatyvnym modeliam v byomedycynskykh yssledovaniakh*. [Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical research]. M.: Profyl (in Russian).
- Kotsiumbas, I. Ya. (2005). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. [Preclinical studies of veterinary drugs]. Lviv : Triada plus (in Ukrainian).
- Todoriuk, V. B., Hunchak, V. M., Gutyj, B. V., Gufriy, D. F., Hariv, I. I., Khomyk, R. I., & Vasiv, R. O. (2018). Preclinical research of the experimental preparation "Ferosel T". *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 1(1), 3–9. doi: 10.32718/ujvas1-1.01
- Vasylyev, D., Priimenko, B., Aleksandrova, K., Mykhalchenko, Y., Gutyj, B., Mazur, I., Magrelo, N., Sus, H., Dashkovskyy, O., Vus, U., Kamratska, O. (2021). Investigation of the acute toxicity of new xanthine xenobiotics with noticeable antioxidant activity. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 315–318. doi: 10.15421/2021_47.
- Zakonu Ukrainy № 5456-VI vid 16.10.2012 r. "Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia" (in Ukrainian).
- Zapadniuk, Y. V. (1983). *Laboratornye zhyvotnye. Razvedenye, sodержanye, yspolzovanye v eksperymente*. [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment]. K.: Vyscha shkola (in Russian).
- Zharov, A. V., Yvanov, Y. V., & Strelnykov, A. P. (2003). *Vskrytye y patomorfologicheskaya dyagnostyka boleznei zhyvotnykh* [Autopsy and pathomorphological diagnosis of animal diseases] M.: Kolos (in Russian).