

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ**

**ВЕТЕРИНАРІЯ,
ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА
ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ**

**Науково-практичний журнал
№1**

Харків – 2018

References

1. Карбаматные пестициды. Общие сведения : перев. с англ. – Офиц. изд. – Программа ООН по окружающей среде. Серия гигиенические критерии состояния окружающей среды. – Женева : ВОЗ ; Москва : Медицина, 1991. – 45 с.
2. Cummings A. M. Effects of methyl benzimidazolecarbamate during early pregnancy in the rat / A. M. Cummings, S. T. Harris, G. L. Rehnberg // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1990. – № 15. – P. 528-535.
3. Кочевенко О. С. Гостра токсичність карбендазиму для курей / О. С. Кочевенко, І. О. Жукова // *Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького*. – 2014. - Т. 18., № 3 (70), ч. 2. – С. 160-165.
4. Кормление птицы : справочник / В. Н. Агеев, И. А. Егоров, Т. М. Околелова, П. Н. Паньков. – Москва : Агропромиздат, 1987. - 192 с.
5. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика : справочник : в 2 томах / В. С. Камышников. – Минск : Интерпрессервис, 2003. – 495 с.
6. Метод визначення активності лужної фосфатази у сироватці крові та тканинах : проспект фірми "Філісіт Діагностика" (Україна). – 2 с.
7. Практикум по биохимии сельскохозяйственных животных : учебное пособие для студ. зооинженерных и ветеринарных факультетов с.-х. вузов / [А. В. Четкин, В. И. Воронянский, Г. Г. Покусай и др.]. – Москва : Высшая школа, 1980. – 303 с.
8. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // *Современные методы биохимии* / под ред. В. Н. Ореховича. – Москва : Медицина, 1977. – С. 47-49.
9. Ferguson S. J. ATP synthase: what dictates the size of a ring? / S. J. Ferguson // *Curr. Biol.* – 2000. – Vol. 10 (21). – P. R804-R808.

UDC 636.9:614.3.7:636.4

STUDY OF ACUTE TOXICITY OF BACTERICIDAL REMEDY ON THE BASIS OF ESSENTIAL OILS

V. L. Kovalenko¹, V. M. Harkavenko², G. V. Ponomarenko³, O. V. Ponomarenko³,
T. M. Ichnatieva³, S. A. Ponomarova⁴

¹State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains Microorganisms, Kyiv, Ukraine
E-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

²State Scientific and Control Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kiev, Ukraine
E-mail: gvm77@i.ua

³Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine
E-mail: gpkh1966@gmail.com ; povkh1967@gmail.com ; tatianaihnatieva@gmail.com

⁴State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Preparations and Feed Additives, L'viv, Ukraine
E-mail: vitlan18@gmail.com

The search for new therapeutic substances that have a prophylactic effect, such as essential oils, is increasingly in demand. The value of the therapeutic effect of essential oils is that they simultaneously have pronounced antimicrobial activity and they are excellent immune modulators. Essential oils quickly penetrate the skin, upper respiratory tract, lungs, gastrointestinal tract, both by diffusion and by active passing through membrane channels, which contributes to their diverse application.

Taking into account the urgency of the problem, the purpose of the study was to determine acute toxicity and the harmful effect of the drug «Barez» on the basis of essential oils of thyme, foam, and eucalyptus, nanoparticles of metals and benzalkonium chloride on the organism of laboratory animals.

To determine the acute toxicity of the drug «Barez», there were formed six experimental and one control groups of white mice weighing 20-25 g, 3-4 weeks old, 10 heads in each group. The irritating and sensitizing effect of the drug "Barez" was studied on three experimental and one control groups of Guinea pigs with a body weight of 340-380g, 5 heads in each group. The skin resorptive effect of the test substance was studied on white mice weighing 20-25 g, the skin of which had no available signs of pathology. Hematological parameters of peripheral blood of mice were studied according to commonly accepted methods.

When studying the parameters of nonspecific resistance under the influence of the developed bactericidal remedy «Barez» there was determined the maximum tolerant, toxic and lethal doses of the preparation. The results of the studies showed that, in 15 days after the start of oral administration of various concentrations of Barez, its acute toxicity was LD₅₀ - 5000 mg/kg of live weight.

When studying the properties of the drug «Barez» concerning its cumulative effect, according to the results of experimental and control animals observation during the entire duration of the experiment, there were not revealed any deviations in behavior, physiological functions remained normal. There was no death of animals. When studying the irritating effect of the drug «Barez» on the skin of experimental animals in 1% and 3% concentrations of solution, no visible changes in the epidermis were detected. In addition, the solutions of the drug «Barez» did not affect the behavior of animals in the experimental group.

According to the results of the study of sensitizing action of the disinfectant «Barez» it was found that the drug in tenfold concentration does not cause irritating and sensitizing effects. When studying the skin-resorptive

properties of the drug «Barez», when applying 1% and 3% concentration of solutions, no signs of toxicity of the disinfectant were found, as evidenced by the results of the research - all the mice remained alive with the preservation of appetite and the adequacy of behavior.

Treatment of animals with 0.5% solution of the drug «Barez» does not affect general hemopoiesis and causes slight temporary eosinophilia and lymphocytosis, which were optimized to normal within 7 days after application of the drug. According to the determined features, the working solutions of disinfectant «Barez» are classified as class 4 (low toxicity) with regard to hazardousness.

Key words: essential oils, nanoparticles of metals, bactericidal remedy, toxicity, laboratory animals.

ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ БАКТЕРИЦИДНОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ЕФІРНИХ ОЛІЙ

В. Л. Коваленко¹, В. М. Гаркавенко², Г. В. Пономаренко³, О. В. Пономаренко³, Т. М. Ігнатська³, С. А. Пономарьова⁴

¹Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, Київ, Україна
E-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

²Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна
E-mail: gvm77@i.ua

³Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

E-mail: gpkh1966@gmail.com ; povkh1967@gmail.com ; tatianaihnatieva@gmail.com

⁴Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, Львів, Україна
E-mail: vitlan18@gmail.com

За результатами досліджень встановлено, що гостра токсичність засобу «Барез», на основі ефірних олій рослин чебрецю, піхти, евкаліпту, наночастинок металів та бензалконія хлориду, становить LD₅₀ – 5000 мг/кг живої маси тварин. Бактерицидний засіб не має кумулятивних властивостей. Десятикратні концентрації препарату не викликають подразнення, не мають сенсibiliзуючих властивостей та нетоксичні при пероральному введенні в живий організм. Гематологічні показники периферичної крові мишей за обробки 0,5 % розчином препарату «Барез» достовірно не змінювались. За встановленими ознаками робочі розчини дезінфікуючого засобу «Барез» віднесено до 4 класу (малотоксичні) щодо небезпечності.

Ключові слова: ефірні олії, наночастинки металів, бактерицидний засіб, токсичність, лабораторні тварини.

Вступ

Профілактичний напрям в сучасній ветеринарній медицині займає одне з провідних місць. У зв'язку з цим пошук нових лікувальних речовин, що мають профілактичну дію, таких як ефірні олії, не тільки не втратив актуальності, але став ще більш затребуваний.

Цінність терапевтичної дії ефірних олій полягає в тому, що, виявляючи виражену протимікробну активність, вони одночасно є чудовими імуномодуляторами. Ефірні олії швидко проникають через шкіру, верхні дихальні шляхи, легені, шлунково-кишковий тракт, як за допомогою дифузії, так і активним проходженням через мембранні канали, що сприяє їх різноманітному застосуванню [1, 2].

На сучасному етапі проводиться удосконалення розробки та впровадження бактерицидного засобу «Барез», що створений з комплексу ефірних олій, наночастинок металів та бензалконія хлориду, який за санітарно-гігієнічними показниками є ефективним фунгіцидом і антисептиком щодо грампозитивної та грамнегативної мікрофлори [3, 4, 5, 6].

Завдання дослідження. Враховуючи актуальність проблеми метою досліджень було визначення гострої токсичності та встановлення шкідливої дії препарату «Барез» на організм лабораторних тварин.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проводили згідно чинних методик [7, 8]. У досліді застосовували

бактерицидний засіб «Барез» на основі ефірних олій рослин чебрецю, піхти, евкаліпту, наночастинок металів та бензалконія хлориду.

Для визначення гострої токсичності препарату «Барез» підібрали 6 дослідних та одну контрольну групи білих мишей, масою 20-25 г, 3-4-тижневого віку по 10 голів в кожній групі. Обрахунок результатів проводили за методом Кербера. Дослід з визначення гострої токсичності тривав 15 діб. Протягом досліді спостерігали за поведінкою тварин, фіксували кількість загиблих в кожній групі. Проводили патологоанатомічний розтин загиблих мишей.

Подразнюючу та сенсibiliзуючу дію препарату «Барез» вивчали на трьох дослідних і одній контрольній групах мурчаків масою тіла 340-380 г по 5 голів у кожній групі. Шкірно-резорбтивну дію досліджуваного засобу вивчали на білих мишах масою 20-25 г, шкіра яких не мала наявних ознак патології. Гематологічні показники периферичної крові мишей досліджували за загальноприйнятими методами [7, 8].

Клінічні дослідження проводились згідно з етичними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [9].

Результати та їх обговорення

При вивченні показників неспецифічної резистентності за впливу розробленого бактерицидного засобу «Барез» було встановлено максимально толерантні, токсичні та смертельні дози засобу.

Протягом терміну дослідження в першій групі всі тварини залишилися живими. В другій групі загинула 1 миша, в третій – 2, в четвертій – 4, в п'ятій – 8, в шостій загинули всі тварини. В контрольній групі всі миші залишилися живими. За введення бактерицидного засобу в травний тракт білих мишей у відповідних концентраціях, було відмічено, що загибель тварин спостерігалася на 13-у добу від початку досліду. Загибель мишей у дослідних групах залежала від дози.

Результати досліджень показали, що через 15 діб від початку перорального введення різних концентрацій засобу «Барез», гостра токсичність його складала LD₅₀ – 5000 мг/кг живої маси.

При вивченні властивостей засобу «Барез» щодо кумулятивної дії, то за результатами спостережень за дослідними і контрольними тваринами упродовж усього терміну експерименту не було виявлено жодних відхилень в поведінці, фізіологічні функції залишалися в нормі. Загибелі тварин не було.

При патологоанатомічних дослідженнях, проведених при розтині забитих мишей, видимих макроскопічних змін у внутрішніх органах не виявлено. Отже, дезінфікуючий засіб «Барез» не має вираженою кумулятивної дії.

При вивченні подразнюючої дії препарату «Барез» на шкіру дослідних тварин в 1% і 3% концентраціях розчинів засобу не виявлено будь-яких видимих змін на епідермісі. Крім того, розчини препарату «Барез» не впливали на зміну поведінки тварин дослідної групи.

При вивченні сенсibiliзуючої дії дезінфікуючого засобу «Барез» з'ясовано, що в перші хвилини після аплікації препарату тварини робили спробу його злизати, далі їх поведінка не

відрізнялась від звичайної. На поверхні шкіри протягом 2-х годин спостерігалася незначна еритема. При дослідженні ділянок шкіри із аплікацією розчинами засобу «Барез» різної концентрації, будь-яких патологічних ознак не виявлено. За результатами досліджень було встановлено, що препарат «Барез» в десятикратній концентрації не викликає подразнюючої та сенсibiliзуючої дії.

При вивченні шкірно-резорбтивних властивостей засобу «Барез» при застосуванні 1% та 3% концентрацій розчинів ознак токсичності дезінфікуючого засобу не виявлено, що засвідчували результати досліджень – всі миші залишалися живими зі збереженням апетиту та адекватності поведінки.

Нами проведено вивчення морфологічних показників периферичної крові білих мишей після обробки 0,5% розчином дезінфікуючого засобу «Барез», результати якого представлені в таблиці 1.

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, бактерицидний засіб не впливав на стан еритропоезу. Так після обробки тварини 0,5% розчином засобу «Барез» у білих мишей дослідної групи вміст гемоглобіну невірогідно збільшився на 6% проти початкових даних при тому, що загальна кількість еритроцитів периферичної крові мишей була в межах фізіологічної норми до та після завершення експерименту.

Обробка лабораторних тварин 0,5% розчином бактерицидного засобу «Барез», як показали дослідження, не зумовлювала будь-якого впливу на лейкопоез, про що свідчать показники загальної кількості лейкоцитів в периферичній крові дослідних тварин на початку та впродовж усього експерименту.

Таблиця 1

Гематологічні показники периферичної крові мишей за обробки 0,5% розчином препарату «Барез», %, M±m, n=10

Показники	Контрольні тварини	Дослідні тварини			
		початкові дані	за обробки препаратом через:		
			3 год.	7 діб	14 діб
Еритроцити, Т/л	9,7±0,1	8,78±0,40	8,64±0,61	9,2±0,5	9,2±0,6
Лейкоцити, Г/л	9,5±0,1	9,4±0,2	10,5±0,32	9,8±0,3	9,5±0,1
Гемоглобін, г/л	95,0±1,2	97,0±3,0	103,0±2,4	105,2±1,3	102,0±1,1
Лейкограма:					
базофіли	1,0±0,1	–	2,0±0,4	1,0±0,1	–
еозинофіли	4,0±0,3	3,0±0,1	5,5±0,1**	4,0±0,3	3,1±0,5
нейтрофіли:					
мієлоцити	–	–	–	–	–
юні	–	–	–	–	–
паличкоядерні	4,0±0,1	4,5±0,5	2,2±0,4	2,0±0,4	3,7±0,3
сегментоядерні	20,0±1,3	19,5±0,2	20,5±0,1	21,5±1,3	21±1,0
лімфоцити	71,0±0,5	69,0±0,7	81,0±0,3*	65,0±0,1	68,0±0,8
моноцити	3,0±0,1	3,0±0,2	4,0±0,4	4,0±0,3	3,5±0,2

Примітка: * - p<0,05, ** - p<0,01 – проти початкових даних

Проведена диференціація лейкоцитів периферичної крові дослідних тварин, виражена у лейкограмі, показала, що тимчасові зміни морфологічного складу були відмічені через 3 години після обробки препаратом. Зокрема, в цей період спостерігалася еозинофілія, яка характеризувалася вірогідним зростанням кількості еозинофілів ($p < 0,01$) щодо початкових даних. Проте, вже через 7 діб після обробки, кількість еозинофілів в периферичній крові дослідної групи мишей була оптимізована до норми та залишалася такою до кінця терміну досліджень.

Крім того, через 3 години після обробки білих мишей 0,5 % розчином засобу «Барез» був також встановлений і лімфоцитоз так, як відносний вміст лімфоцитів вірогідно ($p < 0,05$) зростав на 17 % проти власних початкових даних. При цьому лімфоцитоз був відносним з огляду на те, що

загальна кількість лейкоцитів знаходилася в межах фізіологічної норми, та через 7 діб після обробки відносний вміст лімфоцитів був оптимізований і залишався в межах норми до кінця терміну експерименту. Усі інші морфологічні показники периферичної крові у дослідних мишей знаходилися в межах фізіологічної норми упродовж усього терміну експерименту.

Таким чином, обробка тварин 0,5 % розчином засобу «Барез» не впливає на загальний гемопоез та викликає незначну тимчасову еозинофілію та лімфоцитоз, які оптимізувалися до норми за 7 діб після застосування препарату. Проведені нами науково-виробничі дослідження за вивчення хронофармакологічних особливостей засобу «Барез» показали, що цей засіб не впливає на інтенсивність росту та розвитку мишей (рис. 1).

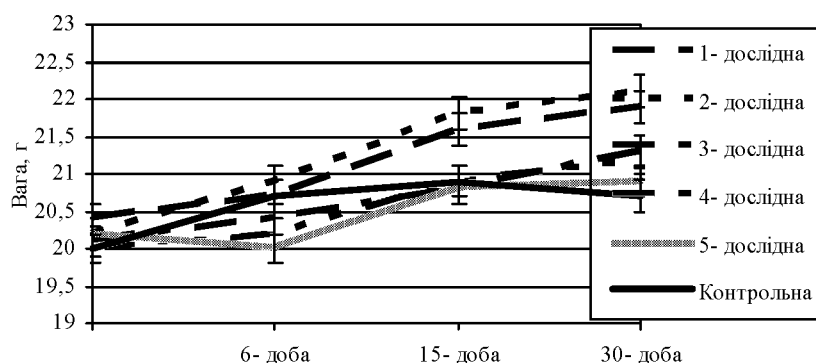


Рис. 1. Показники живої маси білих мишей за обробки 0,5 % розчином засобу «Барез».

Примітка: $P < 0,05$ щодо контролю

Як видно із отриманих результатів у всіх дослідних групах білих мишей жива маса тіла тварин достовірно не відрізнялась від таких показників у тварин контрольної групи. Крім того, це засвідчували клінічні показники – температура і загальний стан тварин знаходилися в межах норми.

Таким чином, 0,5 % розчин дезінфікуючого засобу «Барез» є безпечним та нетоксичним так, як не порушує нормальних процесів росту та розвитку дослідних тварин.

Висновки

За результатами досліджень встановлено,

що гостра токсичність засобу «Барез» відповідає LD_{50} – 5000 мг/кг живої маси тварин. Дезінфікуючий засіб не має кумулятивних властивостей. Десятикратні концентрації препарату не викликають подразнення, не мають сенсibiliзуючих властивостей та нетоксичні при пероральному попаданні в живий організм. При дослідженні крові морфологічні показники достовірно не змінювались. За встановленими ознаками робочі розчини дезінфікуючого засобу «Барез» віднесено до 4 класу (малотоксичні) щодо небезпечності.

References

1. Acute toxicity studies, antioxidant and in vitro antibacterial activities of extract from the barks of *Ricnodendron heudoletti* (Euphorbiaceae) / V. A. Oyono, C. Fokunang, J. P. Assam-Assam [et al.] // *J. Pharmacog. Phytother.* – 2014. – № 6(4). – P. 47-53.
2. Hammer K. A. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts / K. A. Hammer, C. F. Carson, T. V. Riley // *J. Appl. Microbiol.* – 1999. – Vol. 86(6). – P. 985-990.
3. Загальні методи профілактики шляхом застосування комплексних дезінфікуючих засобів : науковий посібник / В. Л. Коваленко, В. П. Лясота, В. А. Синицин [та ін.]. – Ніжин : ПП Лисенко М.М., 2017. – 408 с.
4. Effects of microbicide based on lactic acid and metal nanoparticles on laboratory animals / G. V. Ponomarenko, V. L. Kovalenko, O. V. Ponomarenko, Yu. O. Balackiy // *Ukrainian Journal of Ecology.* – 2017. – Vol. 7, № 4. – P. 482-485. - doi: 10.15421/2017_148.
5. Research of the influence of disinfectants on the rate of absorption of oxygen by cells of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria / G. V. Ponomarenko, V. L. Kovalenko, O. V. Ponomarenko, Yu. O. Balackiy // *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety.* – 2017. – Vol. 3, N 4, December 2017. – P. 13-15.
6. Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez®, Biochlor® and Geocide® / V. L. Kovalenko, P. L. Kovalenko, G. V. Ponomarenko, M. D. Kukhtyn, S. V. Mityk, Yu. V. Horiuk, V. M. Garkavenko // *Ukrainian Journal of Ecology.* – 2018. – Vol. 8, N 1. – P. 547-550. - doi: 10.15421/2018_248.

7. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега [та ін.]. – Львів : Тріада плюс, 2006. – 360 с.
8. Методичні підходи контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини : монографія / за ред. В. Л. Коваленка, В. В. Недосекова. – Київ, 2011. – 219 с.
9. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, учинена 18 березня 1986 року в м. Страсбург, із змінами, внесеними Протоколом до зазначеної Конвенції від 22 червня 1998 р. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_137.

UDC 619:614.48

DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF «FIPREN» PREPARATION

L. V. Nagorna¹, I. V. Proskurina¹

¹Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

E-mail: lvn_10@ukr.net

Biological protection of farms is impossible without an effective and timely implementation of a set of veterinary and sanitary measures, in particular pest control. Systematic rotation of ectocides is a predisposing factor for successful processing. Therefore, the development of domestic insectoacaricid preparation is topical. Scientists of the "Brovafarma" NPF developed an insecticacicid preparation "Fipren", which contains in its composition a composition of synergistically active components fipronil and (S)-methoprene. Active substances of the preparation are effective provided insects and arthropods have resistance to pyrethroids, carbamates. The development of a new preparation requires a thorough pharmaco-toxicological assessment, in particular the determination of acute toxicity of the preparation in laboratory animals.

Materials and methods. Determination of acute toxicity parameters of the study preparation "Fipren" was carried out on 40 healthy mongrel white mice. The body weight of the animals before the start of the experiment was 18-20 g. The test agent was administered to white mice intragastrically by means of a probe in the following doses: 200, 500, 800, 1100, 1400, 1700, 2000, 2300, 2600, 2900 mg/kg in the first stage experience. For the basic experiment, five groups of analog mice were formed (n=30). The test agent was administered to white mice in the following doses: 500, 1000, 1500, 2000 and 2500 mg/kg. The animals of the experiment were monitored continuously during the first 24 hours after the administration of the preparation, and during the following 13 days, the dynamics of changes in their clinical state were noted.

The results of research. As a result of the approximate stage of the study, the absence of death of the experimental animals was determined in the preparation of the "Fipren" preparation in doses of 200, 500, 800, 1100, 1400 mg/kg during the whole observation period. Administration of the preparation at a dose of 1700, 2000, 2300, 2600, 2900 mg/kg caused the death of experimental mice at different time intervals after administration and with different signs. The obtained rates of animal death were taken into account during the main stage of acute experience. When it was administered, the preparation was administered in the following doses: 500, 1000, 1500, 2000 and 2500 mg/kg. Administration of the drug at a dose of 500 mg/kg did not lead to the death of experimental animals. The introduction of the preparation "Fipren" in a dose of 2500 mg / kg resulted in the death of 100% of white mice.

Conclusions. At intragastric administration, when calculating by G. Kerber's method for white mice, DL_{50} of the preparation was 1250 mg/kg. The preparation «Fipren» in accordance with GOST 12.1.007-76 refers to the fourth class of toxicity - low-toxic substances.

Key words: insectoacaricid preparation «Fipren», pharmacological and toxicological properties, acute toxicity, white mice.

ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ «ФІПРЕН»

Л. В. Нагорна¹, І. В. Проскуріна¹

¹Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

E-mail: lvn_10@ukr.net

У статті наведено дані щодо визначення гострої токсичності вітчизняного експериментального препарату «Фіпрен». DL_{50} препарату для білих мишей за внутрішньошлункового введення при обчисленні за методом Г. Кербера становила 1250 мг/кг. Згідно отриманих даних середньосмертельних доз, досліджуваний препарат відповідно ГОСТ 12.1.007-76. відноситься до четвертого класу токсичності – малотоксичні речовини.

Ключові слова: інсектоакарицидний препарат «Фіпрен», фармако-токсикологічна оцінка, гостра токсичність, білі миші.

Вступ

Враховуючи тенденції розвитку сучасного тваринництва, поступову зміну кліматичних чинників, які також неухильно впливають на розвиток галузі, все більшої актуальності

набувають комахи та членистоногі, які паразитують на тваринах та виступають у ролі переносників чи резервантів низки збудників заразних захворювань. Не зважати на постапу проблему – неприпустимо [1, 2].