

ВСТАНОВЛЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ І ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРИСИПКИ НА ОСНОВІ ЙОДОФОРМУ

І. Я. Коцюмбас, д-р вет. наук, професор, академік НААН,

І. П. Патерега, канд. вет. наук, с. н. с.,

В. І. Кушнір, канд. вет. наук,

М. І. Жила, д-р вет. наук, доцент,

С. Я. Мартиник, науковий співробітник,

М. М. Чудяк, молодший науковий співробітник

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
ipater2@gmail.com

У статті наведені результати встановлення параметрів гострої і підгострої токсичності присипки на основі йодоформу.

Параметри гострої токсичності препарату «Йодомін» визначали на 30 білих мишах 2-3-місячного віку, масою 20-23 г та 30 білих щурах, віком 2-3 місяці, масою 170-190 г. Препарат вводили внутрішньошлунково одноразово, попередньо розчинивши у воді. В результаті проведених досліджень з визначення гострої токсичності за перорального введення встановлено, що після введення препарату в дозах 1000, 3000 і 5000 мг/кг всі тварини залишалися живими. Змін в клінічному стані тварин дослідних груп не спостерігали. ЛД₅₀ присипки «Йодомін» є більшою за 5000 мг/кг. У проведених дослідженнях загибелі тварин не виявлено, відповідно, препарат відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини).

Дослідження з визначення гострої наскірної токсичності Йодоміну проводили відповідно до вимог ОЕСД № 402 (Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure, 2017). В проведених дослідженнях встановлено, що наскірне нанесення присипки «Йодомін» у дозі 2000 мг/кг маси тіла не викликало загибелі, появи токсичних явищ. Згідно з УГС (GHS), препарат відноситься до 5 категорії.

При вивченні підгострої токсичності препарат вводили внутрішньошлунково щоденно, попередньо розчинивши у воді. На 4-ту добу досліду, у двох дослідних групах виявлено достовірне зменшення маси серця, що може бути пов'язаним з функціональним навантаженням, а у 2 групі (5-кратна терапевтична доза), поряд з тим, достовірне збільшення маси печінки, знижується концентрація гемоглобіну в еритроциті, креатиніну в крові, підвищується активність АЛАТ.

Для визначення шкідливої дії присипки «Йодомін», на слизову оболонку ока було використано 3 кролі, яким препарат вносили в дозі 2 краплі у кон'юнктивальний мішок лівого ока. Оцінку шкідливої дії речовини на слизову оболонку очей проводили за появою вираженої гіперемії, набряку, виділень, згідно з бальною системою. При нанесенні суспензії на слизову оболонку ока встановлено, що через 24–48 годин препарат не викликає подразнюючої дії. Гіперемії, набряку та змін у судинах досліджуваний засіб також не викликає. Встановлено, що присипка «Йодомін» не викликає шкідливої дії на слизові оболонки ока.

Ключові слова: ЛАБОРАТОРНІ ТВАРИНИ, БІЛІ МИШІ, ЩУРИ, КРОЛІ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ І БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ, ПРИСИПКА.

SETTING OF PARAMETERS OF ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF THE POWDER BASED ON IODOFORM

I. Ya. Kotsyumbas, I. P. Patereha, V. I. Kushnir, S. Ya. Martynyk, M. M. Chudyak

State Scientific-Research Control Institute of Veterenary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine
ipater2@gmail.com

The article presents the results of establishing the parameters of acute and subacute toxicity of the powder based on iodoform.

Determination of acute toxicity parameters of the drug "Iodomine" were performed on 30 white mice 2-3 months of age, weighing 20-23 g and 30 white rats, aged 2-3 months, weighing 170-190 g. The drug was administered intragastrically, once, pre-dissolved in water. As a result of studies to determine acute toxicity by oral administration, it was found that, after administration of the drug in doses of 1000, 3000 and 5000 mg/kg, all animals remained alive. No changes in the clinical condition of the animals of the experimental groups were observed. The DL_{50} of "Iodomine" powder is more than 5000 mg/kg. In conducted studies did not reveal the death of animals, respectively, the tested drug belongs to the IV class of toxicity (low toxicity).

Studies on the determination of acute dermal toxicity of Iodomine were performed in accordance with the requirements of OECD № 402 (Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure, 2017). Studies have shown that skin application of powder "Iodomine" at a dose of 2000 mg/kg body weight did not cause death, appearance of toxic effects. According to GHS the drug belongs to the 5th category.

In the study of subacute toxicity, the drug was administered intragastrically, daily, pre-dissolved in water. On the 4th day of the experiment, in two experimental groups was a significant decrease in heart weight, which may be associated with functional load, and in group 2 (5-fold from therapeutic dose), along with that was a significant increase in liver mass, decreased concentration hemoglobin in the erythrocyte, creatinine in the blood, increased ALT activity.

To determine the harmful effects of Iodomine powder on the mucous membrane of the eye were used 3 rabbits, to which the drug was administered in the amount of 2 drops in the conjunctival sac of the left eye. The harmful effect of the tested substance on the mucous membrane of the eyes was assessed by the appearance of hyperemia, edema and secretions according to the scoring system. When applying the suspension on the mucous membrane of the eye, it was found out, that after 24-48 hours the drug does not cause irritation. Also was found that the studied agent does not cause hyperemia, edema and changes in blood vessels. It's established that the powder "Iodomine" does not cause harmful effects on the mucous membranes of the eye.

Keywords: LABORATORY ANIMALS, WHITE MICE, RATS, RABBITS
HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS, POWDER.

Природними процесами для організму є механізми підтримки своєї цілісності. Будь-яке пошкодження, починаючи від маленької подряпини до глибокої рани, мобілізують організм на відновлення пошкодженої ділянки.

Існує безліч факторів, які можуть порушити природний процес загоєння. Найбільш небезпечним є інфікування рани, яке може статися через порушення захисної реакції організму. Дезінфекційні препарати для загоєння ран покликані допомогти в боротьбі з інфекційними агентами.

Для лікування дерматологічних захворювань (екземи, дерматити, рани гнійні та післяопераційні) у великої рогатої худоби, овець, коней, свиней, м'ясоїдних (собак, котів) пропонується препарат «Йодомін», виробництва ТОВ «Ланс-хім», який містить у своєму

складі йодоформ.

Йодоформ є сильнодіючим антисептиком широкого спектру дії. Під впливом світла, тканинного та атмосферного кисню, тканинних соків йодоформ повільно розпадається з виділенням чистого йоду. Йод має протимікробну, дезодоруючу, протизапальну, розсмоктувальну дію, сприяє грануляції і очищенню ран. На поверхні рани утворюються альбумінати йоду, в результаті чого проявляється в'язуча та анестезуюча дія, попереджається подразнення рецепторів.

Метою наших досліджень було встановлення параметрів токсичності присипки «Йодомін», які є одним з етапів створення нових лікарських форм препаратів.

Матеріали і методи. Вивчення гострої токсичності препарату за перорального введення. Дослідження проводили у відповідності з методичними рекомендаціями «Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин» і монографією «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (Kosenko et al., 1997; Kotsiumbas et al., 2006).

Параметри гострої токсичності препарату «Йодомін» визначали на 30 білих мишах 2-3-місячного віку, масою 20-23 г та 30 білих щурах, віком 2-3 місяці, масою 170-190 г. Препарат вводили внутрішньошлунково одноразово, попередньо розчинивши у воді.

Для встановлення токсичності препарату «Йодомін», для білих мишей і щурів було взято дози: 1000, 3000 та 5000 мг/кг на тварину. На кожну дозу було використано по 6 лабораторних тварин.

Дозу 5000 мг/кг маси тіла тварини було введено повторно на подвійній кількості тварин.

Після введення препарату, спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Вивчення гострої токсичності препарату за нашкірного нанесення. Дослідження з визначення гострої нашкірної токсичності Йодоміну проводили відповідно до вимог (OECD, 2017; Kotsiumbas et al., 2018). Для дослідів використовували здорових, молодих білих щурів з непошкодженою шкірою, масою тіла 200-220 г.

За день до нанесення досліджуваного засобу проводили видалення шерсті з дорзальної поверхні (щонайменше 10 % від загальної площі поверхні тіла). Досліджуваний засіб наносили як можна рівніше, наскільки це можливо, на підготовлену поверхню шкіри (щонайменше 10 % від загальної площі поверхні тіла). Досліджуваний засіб тримали в контакті зі шкірою за допомогою пористої марлевої пов'язки та неподразливої стрічки впродовж 24 годин. Згідно з методикою (OECD, 2017), у зв'язку з відсутністю інформації по досліджуваній речовині, Йодомін наносили у початковій дозі 200 мг/кг маси тіла. Усі подальші дослідження проводили згідно з блок-схемою. Після нанесення препарату «Йодомін», спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, місця нанесення, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Вивчення токсичності препарату «Йодомін» у підгострому досліді. При вивченні підгострої токсичності препарат вводили внутрішньошлунково щоденно, попередньо розчинивши у воді. Упродовж дослідів проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин.

Підгостру токсичність вивчали на 18 білих щурах, масою 180-200 г. Було сформовано 3 однакові за кількістю та масою групи, по 6 щурів кожна. І група тварин була контрольною. Їм вводили воду в дозі 0,5 мл. Тваринам інших двох груп вводили «Йодомін», у дозах: II група – 50,0 мг/кг, III група — 250,0 мг/кг. У підгострому досліді «Йодомін», вводили щурам впродовж 3 діб.

На наступну добу після закінчення введення препарату лабораторних тварин декапітували (за легкого ефірного наркозу), відбирали проби крові, проводили гематологічні і біохімічні дослідження за загальноновизнаними методиками та розтинали і визначали коефіцієнти маси органів, порівняно з контрольною групою.

Для гематологічних досліджень використовували кров, стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. В стабілізованій крові визначали: вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокрит, кількість лейкоцитів – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18. У сироватці крові визначали: загальний білок за допомогою рефрактометра РФ-22, активність ферментів (АлАТ, АсАТ, ЛДГ), вміст загального білірубину, креатиніну, сечовини за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 з використанням стандартних наборів фірми Human.

Вивчення шкідливої дії на слизовій оболонці. Для визначення шкідливої дії присипки «Йодомін», на слизову оболонку ока було використано 3 кролі, яким препарат вносили в дозі 2 краплі у кон'юнктивальний мішок лівого ока. При внесенні препарату відтягували внутрішній кут кон'юнктивального мішка, потім протягом 1 хвилини притискали слезно-носовий канал. Праве око слугувало контролем. Після обробки через 1, 24, 48, 72 години та до 14 діб проводили ретельний огляд очей. Оцінку шкідливої дії речовини на слизову оболонку очей проводили за появою вираженої гіперемії, набряку, виділень згідно з бальною системою, яка представлена у таблиці 1.

Таблиця 1

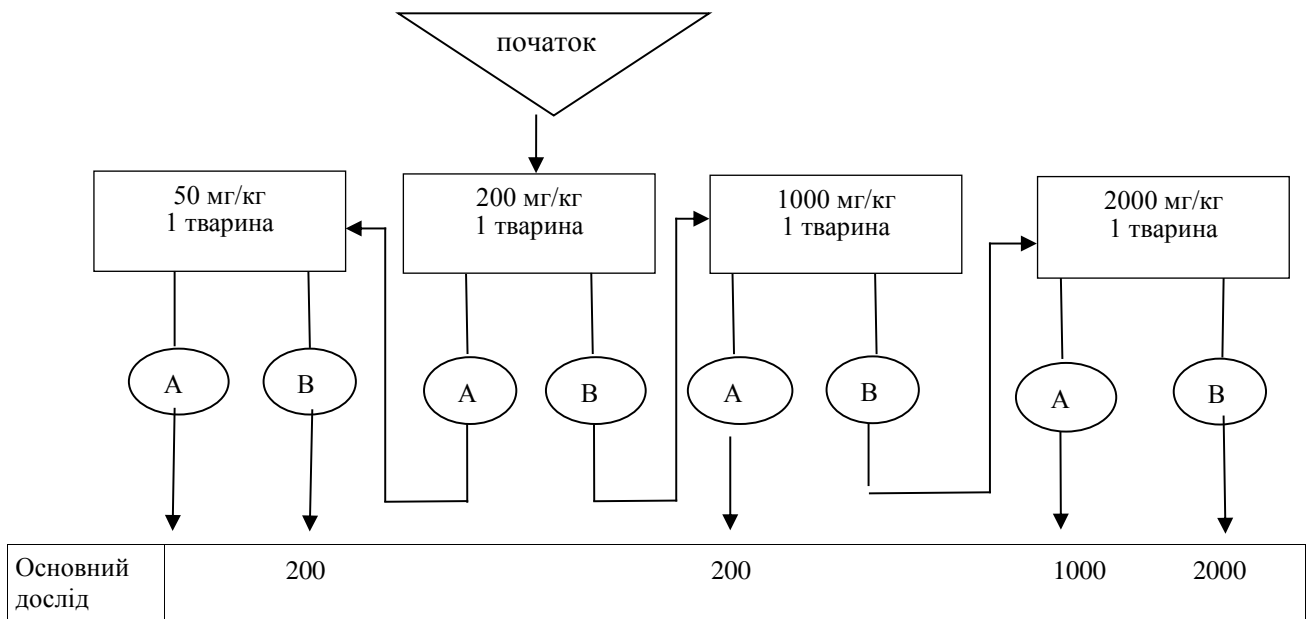
Оцінка шкідливої дії нових речовин на слизові оболонки очей

Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	Оцінка
1. Судини ін'єксовані	1 бал
2. Окремі судини погано видно	2 бали
3. Дифузне глибоке почервоніння	3 бали
Набряк повік	
1. Слабкий набряк	1 бал
2. Виразений набряк з частковим виверненням повік	2 бали
3. У результаті набряку око закрите наполовину	3 бали
4. У результаті набряку око закрите більше, ніж наполовину	4 бали
Виділення	
1. Мінімальна кількість в кутику ока	1 бал
2. Кількість виділень зволожує повіки	2 бали
3. Кількість виділень зволожує повіки та шкіру навколо	3 бали

Результати й обговорення. Результати вивчення гострої токсичності за перорального введення. В результаті досліджень встановлено, що після введення препарату в дозах 1000, 3000 і 5000 мг/кг всі тварини залишалися живими. Змін в клінічному стані тварин дослідних груп не спостерігали.

LD₅₀ присипки «Йодомін» є більшою за 5000 мг/кг. У проведених дослідженнях загибелі тварин не виявлено, відповідно, препарат відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) (SOU, 2011).

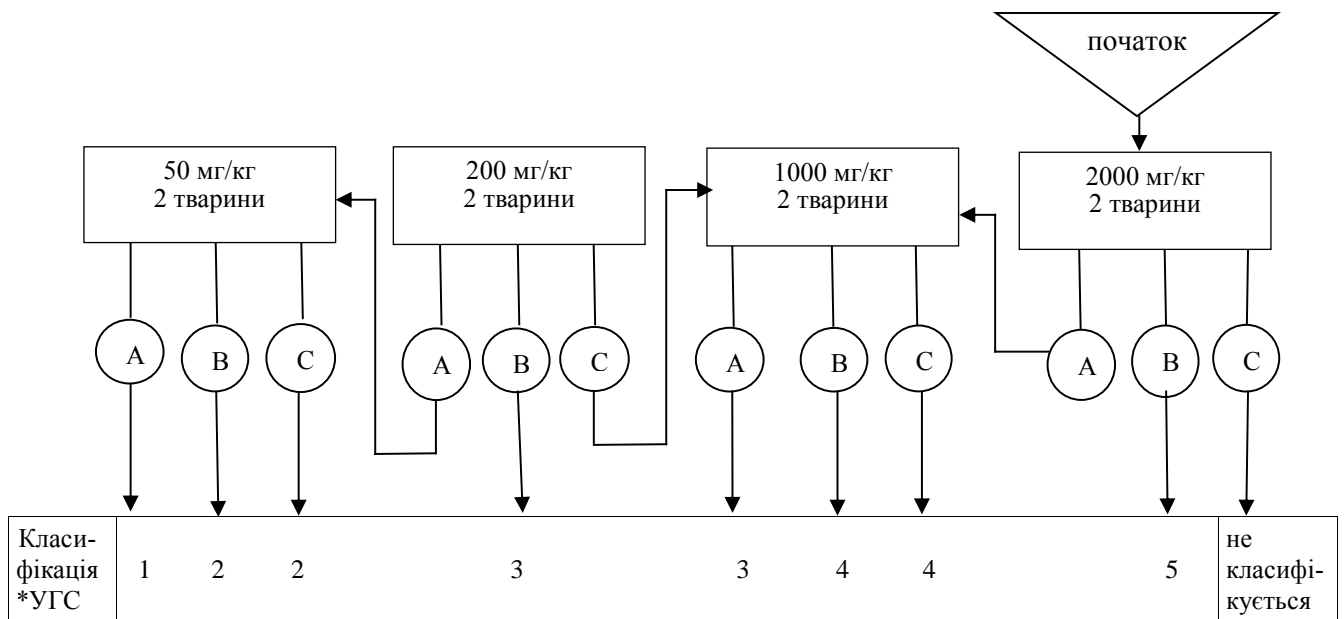
Результати вивчення гострої токсичності за нашкірного нанесення. При визначенні гострої нашкірної токсичності, дослідження проводили у два етапи. На першому етапі проводили дослідження з визначення діапазону дозу. На першому етапі (дослідження діапазону дозу) Йодомін застосовували у початковій дозі 200 мг/кг маси тіла, використовуючи при цьому 1 тварину. Усі подальші дослідження проводили згідно з блок-схемою (рис. 1).



Примітка: (A) - загибель, (B) - токсичність або відсутність загибелі

Рис. 1. Дослідження діапазону дози.

На підставі результатів дослідження з визначення діапазону дози, основний дослід проводили на двох тваринах для підтвердження результатів класифікації, дотримуючись процедури, наведеної в блок-схемі на рисунку 2 для основного дослідження (рис. 2).



*УГС – Узгоджена на глобальному рівні система класифікації небезпеки та маркування хімічної продукції

Примітка: (A) - загибель, (B) - токсичність або відсутність загибелі
(C) - немає явищ інтоксикації, немає загибелі тварин

Рис. 2. Основний дослід

Як видно з рисунків 1 та 2, нашкірне нанесення присипки «Йодомін» у дозі 2000 мг/кг маси тіла не викликало загибелі, появи токсичних явищ. При цьому після зняття повязки відзначали незначне почервоніння на місці нанесення препарату, яке у подальшому зникало. Тому, згідно з УГС (GHS), він відноситься до 5 категорії.

Результати вивчення токсичності препарату «Йодомін» в підгострому досліді. При проведенні досліді з вивчення підгострої токсичності загибелі лабораторних щурів не встановлено.

Таблиця 2

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 4-ту добу за вивчення підгострої токсичності препарату (M±m, n=6)

Внутрішні органи	Контрольна група	1 група	2 група
Печінка	31,9±0,75	30,5±0,8	34,2±0,8*
Нирка права	3,3±0,09	3,3±0,3	3,3±0,10
Нирка ліва	3,4±0,10	3,3±0,4	3,2±0,9
Селезінка	4,5±0,6	3,9±0,6	4,0±0,6
Серце	3,8±0,06	3,5±0,04***	3,5±0,08**
Легені	10,1±0,9	9,7±1,8	10,1±0,8
Маса щурів, г	188,8±6,8	187,3±4,8	186,7±6,6

Примітка: * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

На 4-ту добу досліді, у двох дослідних групах виявлено достовірне зменшення маси серця, що може бути пов'язаним з функціональним навантаженням, а у 2 групі (5-кратна терапевтична доза), достовірне збільшення маси печінки (табл. 2), знижується концентрація гемоглобіну в еритроциті, креатиніну в крові, підвищується активність АлАТ (табл. 3).

Таблиця 3

Морфологічні та біохімічні показники крові білих щурів на 4-ту добу досліді за вивчення підгострої токсичності препарату (M±m, n=6)

Показники	Контрольна група	1 група	2 група
Гемоглобін, г/л	143,2±6,8	140,8±2,9	138,0±3,1
Еритроцити, Т/л	6,6±0,3	6,7±0,2	6,5±0,06
Лейкоцити, г/л	13,8±1,6	10,8±1,0	12,2±1,3
Гематокрит, %	37,7±1,6	37,6±0,7	37,8±0,6
МСН, пг	21,7±0,2	21,0±0,2	21,3±0,3
МСНС, г/дл	38,0±0,2	37,4±0,3	36,5±0,2**
МСV, мкм	57,3±0,4	56,2±1,0	58,2±0,5
АлАТ, Од/л	69,5±3,7	63,0±4,0	82,2±3,0*
АсАТ, Од/л	184,2±12,8	169,7±8,2	171,6±5,3
Загальний білок, г/л	79,7±3,0	74,7±1,0	74,6±1,4
Креатинін, мкмоль/л	62,9±2,8	60,7±1,2	54,7±1,2*
Загальний білірубін	5,4±1,7	4,1±0,5	7,5±0,9

Примітка: * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

Результати вивчення шкідливої дії на слизовій оболонці. При нанесенні розчину суспензії на слизову оболонку ока встановлено, що через 24–48 годин препарат не викликає подразнюючої дії. Гіперемії, набряку та змін у судинах досліджуваній засіб також не викликає.

ВИСНОВКИ

1. За внутрішньошлункового введення препарат «Йодомін» належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин.

2. Нашкірне нанесення Йодоміну у дозі 2000 мг/кг маси тіла не викликає загибелі, появи токсичних явищ. Згідно з УГС (GHS), він відноситься до 5 категорії.

3. При введенні препарату в дозі 250 мг/кг впродовж 3 діб, відбуваються функціональні зміни в печінці і серці дослідних тварин. Функціональне навантаження на серце тварин відбувається навіть за умов застосування терапевтичної дози.

4. Препарат «Йодомін» не викликає шкідливої дії на слизові оболонки ока.

Перспективи досліджень. Планується дослідження ефективності препарату при лікуванні дерматологічних захворювань тварин.

References

Kosenko, M.V., Malyk, O.H., Kotsiumbas, I.Ya., Patereha, I.P., Chura, D.O. (1997). Toksykologichnyi kontrol novykh zasobiv zakhystu tvaryn: Metodychni rekomendatsii. K. [in Ukrainian].

Kotsiumbas, I.Ya., Malyk, O.H., Patereha, I.P. (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv. Lviv: Triada plus. [in Ukrainian].

OECD. 2017. OECD Guideline For The Testing Of Chemicals 402: Acute Dermal Toxicity-Fixed Dose Procedure. Paris.

Kotsyumbas I.Ya, Patereha I.P., Kushnir V.I., Malyk O.H., Kushnir I.M. et al. (2018). Hostra nashkirna toksychnist': protsedura fiksovanoyi dozy: Metodychni rekomendatsii. L [in Ukrainian]

SOU 85.2-37-736:2011. (2011). Preparaty veterynarni. Vyznachannia hostroi toksychnosti. K: Minahropolityky. [in Ukrainian].