

## ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРОРАЛЬНОЇ СЕРЕДНЬОСМЕРТЕЛЬНОЇ ДОЗИ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ: КЛАСИЧНОГО ТА АЛЬТЕРНАТИВНОГО (ВИЗНАЧЕННЯ КЛАСУ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ)

*О. С. Кисців, А. С. Кабанець, Т. М. Висоцька*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок

*Наведено результати порівняльного вивчення середньосмертельної дози ветеринарних препаратів за допомогою класичного та альтернативного (визначення класу гострої токсичності) тестів. Встановлено, що  $LD_{50}$  препарату Альфакокс за внутрішньошлункового введення складає 1399,7 ( $1111,6 \div 1687,8$ ) мг/кг за класичним методом і  $300 \text{ мг/кг} < LD_{50} \leq 2000 \text{ мг/кг}$  — за методом визначення класу токсичності. Доза препарату, яка не спричиняє загибелі за одноразового задавання білим щурам, становить 2000 мг/кг.*

На даний час наукові співтовариства і регуляторні агенції розвинених країн приділяють величезну увагу встановленню безпеки і спектру токсичної дії лікарських препаратів, хімікатів, різних продуктів біотехнології і наноматеріалів. За міжнародними вимогами випробування безпеки (токсичності) різних речовин на живих системах (людини, тварин, екосистем) здійснюються відповідно до гармонізованих методичних рекомендацій Організації економічного співробітництва і розвитку (OECD) та Міжнародної конференції з гармонізації (ICH).

Метою нашої роботи було порівняння класичного методу та методу визначення класу гострої токсичності (АТС) [1] на прикладі визначення класу токсичності препарату Альфакокс.

**Матеріали і методи.** Визначення середньо смертельної дози препарату Альфакокс за класичним методом проводили у два етапи: орієнтовний і розгорнутий. На орієнтовному етапі, з метою встановлення рівня смертельних доз препарату, було взято широкий інтервал між дозами — 1000, 1500 та 2000 мг/кг. На кожен дозу було використано по три лабораторних тварини. На розгорнутому етапі було взято менші інтервали між дозами, а саме: 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 та 2000 мг/кг. Кожну дозу препарату вводили 6 щурам. Дослід проведено у двох повторах. Загальна тривалість спостережень за тваринами складала 14 діб.

Під час досліду враховували такі показники: загальний стан, зовнішній вигляд, особливості поведінки тварин, інтенсивність та характер рухливої активності, наявність судом, координацію рухів, реакцію на зовнішні подразники (тактильні, звукові, світлові), стан волосяного покриву, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання залежно від дози препарату та вираховували  $LD_{50}$  даної лікарської форми за методом Б.М. Штабського (1980) [2].

За цим методом залежність відсотка летальності (Y) від дози (X) може бути описана рівнянням прямої з кутовим коефіцієнтом (a):

$$Y = aX + b \quad (1),$$

де: b – вільний член.

Значення  $a$  та  $b$  знаходили за формулами:

$$a = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1} \quad (2)$$

$$b = \frac{\Sigma Y - a \Sigma X}{n} \quad (3),$$

де:  $X_1$  та  $X_2$  – значення двох крайніх із трьох досліджених доз (які призводять до загибелі менше та більше 50 % тварин відповідно);

$Y_1$  та  $Y_2$  – відповідні проценти летальності;

$n$  – число вказаних (досліджених) доз, яке рівне 3.

Знаючи  $a$  та  $b$ , вирішували рівняння (1) стосовно  $X$ :

$$X = \frac{Y - b}{a} \quad (4)$$

Далі, послідовно підставляли у формулу (4) значення  $Y$ , які рівні 50, 84 і 16 %, знаходили  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{16}$  та, як зазвичай, розраховували  $\sigma$ ,  $m$ ,  $mt$  ( $t$  – критерій Стьюдента) та довірчі межі за формулою  $LD_{50} \pm mt$ .

Принцип методу визначення класу гострої токсичності полягає у використанні 3-х тварин однієї статі на кожному етапі та заснований на біометричному оцінюванні [3 – 6] з фіксованими дозами, які розподілені за часом прийому так, щоб було можливо оцінити речовину за ступенем небезпеки і систематизувати результати. Рівень початкової дози має бути таким, щоб з найбільшою вірогідністю викликати загибель деяких з тварин, яким задавали один із чотирьох фіксованих рівнів доз (5, 50, 300 та 2000 мг/кг маси тіла). Рисунок описує послідовність, якої необхідно дотримуватись для кожної з початкових доз. На підставі аналізу даних виробника препарату було визначено початкову дозу, яка становила 2000 мг/кг маси тіла.

**Результати й обговорення.** Отримані результати досліджень з встановлення параметрів гострої токсичності препарату Альфакокс за умов внутрішньошлункового введення білим щурам, подані у таблиці.

*Таблиця*

**Результати гострого дослідження за внутрішньошлункового введення препарату Альфакокс білим щурам**

Тварини	Доза, мг/кг					
	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Живі	5	4	3	2	1	0
Загинули	1	2	3	4	5	6

Розрахунок середньосмертельної дози препарату Альфакокс при обчисленні за методом Б. М. Штабського:

Y	X
16,66	1000 (мг/кг)
66,66	1600
83,33	1800
$\Sigma = 166,65$	$\Sigma = 4400$



## ВИСНОВКИ

1. LD<sub>50</sub> препарату Альфакокс за класичним методом становить 1399,7 мг/кг. Препарат належить до третього класу токсичності (помірнотоксичні речовин) [7].

2. Середньосмертельна доза препарату Альфакокс за умовами проведення альтернативного методу АТС становить  $300 \text{ мг/кг} < LD_{50} \leq 2000 \text{ мг/кг}$  та належить до четвертого класу токсичності, згідно з класифікацією УГС (GHS) [8].

3. При застосуванні класичного методу було використано 81 тварину.

4. При дослідженні гострої токсичності за допомогою методу АТС використано 9 тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** Із метою збереження тварин та дотримання біоетичних вимог заплановано проведення досліджень із визначення гострої токсичності ветеринарних лікарських засобів методом: “Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)” OECD Test № 425.

## COMPARISON OF METHODS FOR DETERMINATION OF MEDILETHAL DOSES OF VETERINARY PREPARATIONS: CLASSICAL AND ALTERNATIVE (ACUTE TOXIC CLASS METHOD)

*O. S. Kistsiv, A. S. Kabanets, T. M. Vysotska*

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

### S U M M A R Y

Results of comparative determination of medilethal doses of veterinary preparations by means of classical and alternative (Acute Toxic Class Method OECD TG 423) methods are resulted. It is established, that LD<sub>50</sub> for a preparation Alphacox at intragastric introduction makes 1399,7 (1111,6 ÷ 1687,8) mg/kg on a classical method and  $300 \text{ mg/kg} < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg}$  on an Acute Toxic Class method. The dose of a preparation which does not cause mortality at disposable intragastric introduction to white rats makes 2000 mg/kg b. w.

## СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ СРЕДНЕСМЕРТЕЛЬНОЙ ДОЗЫ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ: КЛАССИЧЕСКОГО И АЛЬТЕРНАТИВНОГО (ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛАССА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ)

*O. S. Kistsiv, A. S. Kabanets, T. M. Vysotska*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

### А Н Н О Т А Ц И Я

Приведены результаты сравнительного изучения среднесмертельной дозы ветеринарных препаратов с помощью классического и альтернативного (определение класса острой токсичности) методов. Установлено, что LD<sub>50</sub> для препарата Альфакокс при внутрижелудочном введении составляет 1399,7 (1111,6 ÷ 1687,8) мг/кг по классическому методу и  $300 \text{ мг/кг} < LD_{50} \leq 2000 \text{ мг/кг}$  по методу определения класса острой токсичности. Доза препарата, которая не вызывает гибели при однократном внутрижелудочном введении белым крысам составляет 2000 мг/кг.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. OECD Test № 423 “Acute Oral Toxicity — Acute Toxic Class Method”.
2. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Штабский Б. М., Гжегоцкий М. И., Гжегоцкий М. Р. и др. // Гигиена и санитария. — 1980. — № 10. — С. 49–51.
3. *Diener W., Sichha L., Mischke U.* (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* 68. — P. 559–610.
4. *Diener W., Mischke U., Kayser D.* (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* — 69. — P. 729–734.
5. *Diener W., Schlede E.* (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD/LC50 Tests. *ALTEX* 16. — P. 129–134.
6. *Schlede E., Mischke U., Roll R.* (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method – An Alternative to the LD50 Test. *Arch. Toxicol.* 66. — P. 455–470.
7. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. — Введ. 01.01.77. — Проверен 01.10.81; Изменен №1; Переиздан 01.12.81. — М.: Изд-во стандартов, 1982. — С. 6.
8. Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28<sup>th</sup> Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2. — P.11.