МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ

ВЕТЕРИНАРІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

Науково-практичний журнал
№1

Харків – 2018

10. Гордієнко А. Д. Експериментальне обгрунтування створення нових гепатопротекторів на основі есенціальних фосфоліпідів та полі фенолів : автореф. дис. … докт. фарм. наук / А. Д. Гордієнко. – Харків, 2011. – 36 с.
11. А. с. № 1622980 СССР, МКИ 5 С 07 F 9/10 ДСП. Способ получения соевого лецитина / А. В. Улесов, И. Ф. Макаревич, М. В. Мокроуз, Ю. М. Краснопольский, Я. И. Хаджай, В. П. Георгиевский, А. Д. Гордиенко, В. В. Левченко, А. Ф. Бацура, А. И. Гризодуб, В. П. Милько (СССР). – № 4637499. - заявл. 12.01.89; опубл. 22.09.90, Бюл. № 12.
12. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J.Rosenbrough, A. L. Farr [et al.] // J.Biol.Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. - P. 265–275.
13. Ашмарин И. П. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов / И. П. Ашмарин, Н. Н. Васильев, В. А. Амбросов. – Ленинград : Изд-во Ленингр. ун-та, 1975. – 77 с.
14. Duthie G. Antioxidant capacity of flavonoids in hepatic microsomes is not reflected by antioxidant effects in vivo / G. Duthie, P. Morrice // Oxid. Med. Cell Longev. – 2012. – P. 1–6.
15. Эффекты синергизма при совместном антиоксидантном действии фосфатидилхолина с природными и синтетическими хинонами / Н. М. Сторожок, А. Я. Друлле, Я. Я. Логин [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1994. – Т. 40, № 1. – С. 10–14.
16. Репарация фосфолипидами мембран печени крыс при отравлении тетрахлорметаном / О. В. Добрынина, В. Л. Мигушина, С. З. Шатинина [и др.] // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – Т. 104, № 9. – С. 301–303.
17. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – Киев : Здоровья, 1989. – 166 с.

UDC 636.5:615.917

TOXICODYNAMICS OF DEROSAL IN CHICKENS' ORGANISM

I. O. Zhukova[1], O. S. Kochevenko[1], N. I. Longhus[1]
[1]Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The article highlights the information concerning the toxidynamics of systemic fungicide and seed treatments Derosal (carbendazim) in organism of chickens, which is a derivative substance of carbamic acid and benzimidazole. It quickly gets inside the plant and can not be washed off by rain. This preparation is used to work up fruit and vegetable gardens as well as melons and gourds including the main ones – seed treatments of wheat, barley and oat. Such seeds are the ones which let the preparation into the forage of agricultural fowls. Moreover, carbendazim is used in medicine as anthelmintic (medamin) to treat nematodes of intestines.

It is set that feeding up chickens with Derozal within 30 days in doze of 90 and 900 mg/kg of body weight (the II and the III groups) has not provoked any clinical symptoms of intoxication, however, fowls from the III group are characterized with weight lagging and toxic degeneration of liver.

In the process of analysis it is figured out that in 10 days after the beginning of preparation feeding up in distinguished dozes, chickens' livers of the II and the III tested groups have undergone changes in activity of oxidational enzymes as well as phosphorylation which can be noticed from the increase of activity of aldolase and adenosinetriphosphatase, besides that there has been possible decrease of activity of succinate dehydrogenase and cytochrome C oxidase in comparison with the controlled group. There have not been noticed any changes of enzymes' activity of lactate dehydrogenase as well as alkaline phosphatase.

In the 20th and 30th day of daily feeding up with Derosal it is distinguished that the doze of 90 mg/kg of body weight (the II group) has caused the decrease in livers of LDH, CTCO and AP, and adding of 900 mg/kg (the III group) has helped to possible increase of activity of SDG and ATPase as well as decrease of activity of LDH, CTCO and AP. There is a need to underline that a higher doze of Derosal in every tested period (the 10th, 20th and 30th day) has caused a stable decreasing of activity of CTCO in chickens' liver that shows a drop of intensity of transmission of electrons into oxygen, the violation of the processes of anaerobic oxidation and phosphorylation as well as strengthen of anaerobic glycolysis.

Key words: *hens, Derosal, succinate dehydrogenase (SDG), adenosinetriphosphatase (ATPase), cytochrome C oxidase (CTCO), fructose 1,6- biphosphonatealdolase (FBA), lactate dehydrogenase (LDG), alkaline phosphatase (AP).*

ТОКСИКОДИНАМІКА ДЕРОЗАЛУ В ОРГАНІЗМІ КУРЕЙ

І. О. Жукова[1], О. С. Кочевенко[1], Н. І. Лонгус[1]
[1]Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

У статті наведені дані щодо токсикодинаміки системного фунгіциду Дерозалу (карбендазиму) в організмі курей. Встановлено, що згодовування його курям впродовж 30 діб у дозах 90 і 900 мг/кг маси тіла не викликало клінічних ознак отруєння, проте більш висока доза сприяла розвитку дистрофічних процесів у печінці і зміні активності її ферментів, що проявлялось підвищенням активності СДГ, ФДФ-А і АТФ-ази і зниженням – ЦТХО, ЛФ і ЛДГ, що свідчить про порушення процесів аеробного окиснення і фосфорилювання та посиленню анаеробного гліколізу.

Ключові слова: *кури, Дерозал, ензими, сукцинатдегідрогеназа (СДГ), аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза), цитохром-с-оксидаза (ЦТХО), фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза (ФДА), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), лужна фосфатаза (ЛФ).*

Вступ

Пестицидна активність похідних карбамінової кислоти відома близько 70 років. Карбамінова кислота – це моноамід вугільної кислоти. У вільному стані вона не зустрічається, оскільки легко розпадається з виділенням аміаку і вуглекислого газу. При заміні в молекулі карбамінової кислоти водню гідроксильної групи на різні ароматичні радикали отримують велику групу складних ефірів з різноманітними властивостями. Ці речовини використовують як снодійні, наркотичні і жарознижуючі [1].

Карбендазим – це системний фунгіцид широко спектру дії, похідний карбамінової кислоти і бензімідазолу. Він швидко проникає всередину рослин і не змивається дощем. Препарат використовують для обробки фруктових садів, овочевих та бахчевих культур, а саме головне, як протруйник насіння пшениці, ячменю, вівса. Саме через таке зерно залишки препарату потрапляють до кормів сільськогосподарської птиці. Крім того, в медицині карбендазим використовують як антигельмінтик (медамін) для лікування кишкових нематодозів.

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що карбендазим у формі 50 % суспензійного водного концентрату (препарат Дерозал) відноситься до групи малотоксичних пестицидів ($ЛД_{50}$ його для птиці складає 9089,0 ± 301,1 мг/кг маси тіла) [2, 3] і тому виникає

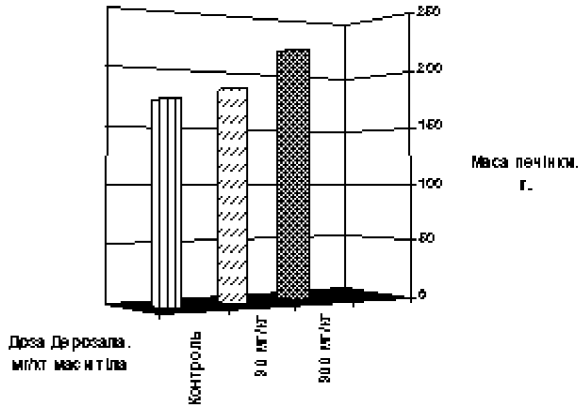

Рис. 1. Маса печінки курчат при щоденному згодовуванні Дерозалу на 30 добу досліджень.

потреба дослідження впливу його на енергетичні процеси та активність ряду ферментів органів і тканин тварин.

Метою роботи є дослідження біохімічних показників печінки курей за застосування карбендазиму у різних дозах.

Матеріали і методи дослідження

У досліді використали курей м'ясо-яєчної породи Род Айланд, лінії 38, 30-добового віку, масою 1000-1200 г, які були розділені на 2 дослідних (n=36) і 1 контрольну групу (n=18). Контрольних і піддослідних тварин годували за стандартним раціоном для птиці [4]. Курчата першої та другої піддослідних груп одержували щодня протягом 60 діб з комбікормом препарат Дерозал (BAYER, Німеччина) у формі готової 50 % водної суспензії, в дозах 90 і 900 мг на 1 кг маси тіла (0,01 і 0,1 $ЛД_{50}$) для птиці. Дослідження проводили на 10, 20 і 30 добу. Після зазначених термінів птицю, під інгаляційним наркозом, забивали (по 6 голів з кожної групи), відбирали печінку, гомогенізували її на холоді в вуглеводному середовищі. У гомогенаті печінки визначали активність ферментів: фруктозо-1,6-дифосфатальдолази (альдолаза) (ФДА, КФ 4.1.2.13) – методом В. І. Товарницького, О. Н. Волуйської (1969) в модифікації В. А Анан'єва, В. В. Обухової (2002) [5], лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) – способом Савелла і Товарека [5], лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.6.1.3) за допомогою наборів діагностикумів «Філісіт Діагностика» (Україна) [6] сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.5.1) – по знебарвленню метиленового синього [7], цитохром-с-оксидази (ЦТХО, КФ 1.9.3.1) – за модифікованим методом Кривченкової Р. С. (1977) [8], та (АТФ-ази КФ 3.6.1.3) – за методом Anderson B. та Rosenberg M. (1976) [9].

Результати досліджень оброблені статистично з використанням пакета програм Microsoft Excel (for Windows XP), вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Впродовж всього експерименту за птицею вели клінічне спостереження. Ріст та розвиток піддослідних і контрольних курей відповідали стандартним вимогам для породи. До 60-денного віку птиця I групи (контроль) мала масу тіла, в середньому, 1864±31 г, II – 1823±21 г та III–1620±22 г. Відмічено, що кури III групи були дещо пригніченими і відставали у привісах відносно контрольної птиці на 15,1 %. На розтині виявлено у курчат III групи токсичне переродження печінки, а також збільшення відносної її маси у групах, які одержували препарат у дозі 90 і 900 мг/кг маси тіла на 10 % та 27 % ($p<0,05$) відповідно у порівнянні з контролем (рис. 1).

Дослідом встановлено, що через 10 діб від початку згодовування препарату у дозі 90 і 900 мг/кг маси тіла виникали зміни активності ензимів окиснення і фосфорилювання, про що свідчить підвищення активності ФДФ-А на 7,1 % і 13,9 % і АТФ-ази на 48,0 % ($p<0,01$) – у II групі і у 2,5 рази ($p<0,001$) – у III дослідній групі та вірогідне зниження активності СДГ на 47,3 % і 53,7 % ($p<0,01$) та ЦТХО – на 27,5 % ($p<0,01$) і 47,2 % ($p<0,001$) відповідно у порівнянні з показниками контрольної групи. У цей період змін ензимної активності ЛДГ та ЛФ у печінці курчат II і III груп не відмічалося.

Таблиця 1

Динаміка активності ферментів печінки курей під впливом Дерозалу через 10 діб введення його з кормом

Показники	*Групи курчат*		
	I (n=6)	*II (n=6)*	*III (n=6)*
	доза препарату, мг/кг маси тіла		
	контроль	*90*	*900*
ФДФ-А, мкмоль/год.кг	515,71±14,22	552,53±4,57	587,33±20,56*
ЛДГ, мкмоль/год.кг	344,06±42,82	371,25±13,31	382,44±20,24
СДГ, мкмоль/год.кг	1100,9±32,45	747,0±31,24*	716,37±19,21*
ЦТХО, мкмоль/год.кг	374,0±17,33	293,22±20,00**	254,0±25,12***
АТФ-аза, ммоль/год.кг	0,50±0,03	0,74±0,03*	1,23±0,02*
ЛФ, мкмоль/год.кг	1500,0±94,3	1441,3±95,3	1477,7±88,4

Примітки: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$

Таблиця 2

Активність ферментів печінки курей під впливом Дерозалу на 20 добу досліджень (M±m; n=6)

Показники	*Групи курчат*		
	I (n=18)	*II (n=18)*	*III (n=18)*
	доза препарату, мг/кг маси тіла		
	контроль	*90*	*900*
ФДФ-А, мкмоль/год.кг	522,11±11,2	551,33±15,3	523,41±22,8
ЛДГ мкмоль/год.кг	256,4±8,1	228,33±12,3*	214,2±15,3
СДГ мкмоль/год.кг	2136,0±100,4	2441,6±84,8	2670,0±78,53*
ЦТХО мкмоль/год.кг	340,0±5,1	256,3±14,6**	191,33±7,2**
АТФ-аза, ммоль/год.кг	0,87±0,02	1,04±0,03	1,18±0,03**
ЛФ, мкмоль/год.кг	1845,0±84	1625,3±80,3*	1297,5±81,9**

Примітки: * – $p<0,05$ ** – $p<0,01$

На 20 добу щоденного згодовування Дерозалу (табл. 2) відмічено, що доза 90 мг/кг маси тіла (II група) викликала зниження в печінці активності ЛДГ на 12,3 % ($p<0,05$), ЦТХО – на 32,7 % ($p<0,01$) і ЛФ – на 13,5 % ($p<0,05$), а додавання 900 мг/кг (III група) викликало підвищення активності СДГ на 14,3 % ($p<0,05$) та АТФ-ази – на 19,5 % ($p<0,01$), а також зниження активності ЦТХО – на 77,7 % ($p<0,01$), ЛФ – на 42,2 % ($p<0,01$) та ЛДГ – на 19,7 % ($p<0,05$).

На 30 добу досліду у печінці курей II групи виявлено зниження активності ЛДГ на 13,6 %, ЦТХО – на 12,2 % та ЛФ – на 15,6 % ($p<0,05$). Відмічено, що активність таких ензимів, як ФДФ-А, АТФ-аза і СДГ достовірно не змінювалася. У птиці III групи, яка одержувала препарат у дозі 900 мг/кг, підвищувалася інтенсивність реакцій окиснення субстратів під впливом ЛДГ на 30,1 % ($p<0,01$) і АТФ-ази – на 73,5 % ($p<0,001$), а також пригнічувалась активність ЦТХО і ЛФ на 83,3 % ($p<0,001$) та 34,6 % ($p<0,001$) відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

Активність печінкових ензимів птиці під впливом Дерозалу на 60 добу досліджень (M±m; n=6)

Показники	*Групи курчат*		
	I (n=6)	*II (n=6)*	*III (n=6)*
	доза препарату, мг/кг маси тіла		
	контроль	*90*	*900*
ФДФ-А, мкмоль / год. кг	319,3±11,5	305,0±38,56	321,67±54,3
ЛДГ, мкмоль / год. кг	227,3±12,94	200,0±30,93*	295,8±13,07
СДГ, мкмоль / год. кг	2342,4±32,3	2274,0±71,6	2365±56,17
ЦТХО, мкмоль / год. кг	300,3±27,44	267,6±21,78*	215,0±16,73
АТФ-аза, ммоль / год. кг	1,02±0,03	1,05±0,02*	1,77±0,01
ЛФ, мкмоль / год. кг	1323,2±94	1144,3±99*	983,3±162,1

Примітки: * – $p<0,05$ ** – $p<0,01$ *** –$p<0,001$

Слід зазначити, що більш висока доза Дерозалу у всі досліджувані періоди (10, 20 і 30 добу) сприяла стійкому зниженню активності ЦТХО печінки курей, що свідчить про зменшення інтенсивності перенесення електронів на кисень та підтверджується посиленням активності АТФ-ази.

Висновок

Згодовування курям впродовж 30 діб Дерозалу (карбендазиму) у дозах 90 і 900 мг/кг маси тіла не викликало клінічних ознак отруєння, проте більш висока доза сприяла розвитку дистрофічних процесів у печінці і зміні активності її ферментів, що проявлялось підвищенням активності сукцинатдегідрогенази, альдолази і АТФ-ази і зниженням – цитохромоксидази, лужної фосфатази і лактатдегідрогенази, що свідчить про порушення процесів аеробного окиснення і фосфорилювання та інтенсифікації анаеробного гліколізу.

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 діагностика : 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. Чечеткин, 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. Kovalenko[1], V. M. Harkavenko[2], G. V. Ponomarenko[3], O. V. Ponomarenko[3], T. M. Ihnatieva[3], S. A. Ponomarova[4]

[1]State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains Microorganisms, Kyiv, Ukraine
E-mail: kovalenkodoktor@gmail.com
[2]State Scientific and Control Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kiev, Ukraine
E-mail: gvm77@i.ua
[3]Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine
E-mail: gpkh1966@gmail.com ; povkh1967@gmail.com ; tatianaihnatieva@gmail.com
[4]State 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 LD_{50} - 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