

ков И. Донов Б. // Вет. мед. науки. - 1982. - №4. - С. 62-68. 5. Keitzmon M., Kreisner M. Zbe Veterinarmedizin A. - 1983. - №3. - P. 129-139. 6. Антипов В.А. Фармакология и применение препаратов микробиологического синтеза. Дис. докт.вет.н. - Ленинград, 1987. - 357 с. 7. Касьяненко Е.Ф. Фармакология и токсикология тилозиновых препаратов, применяемых в птицеводстве: Автореф. дисс. канд.вет.н. - Ленинград, 1990. - 17 с. 8. Толкач Н.Г., Антипов В.А., Сосновская Т.А. Влияние аэрозолей фармазина на естественную резистентность цыплят// Новые фармсредства в ветеринарии: Тез. межвуз. науч. конф. - Санкт-Петербург. 1991. - С. 29. 9. Толкач Н.Г. Уровень показателей

клеточного и гуморального иммунитета цыплят яйценоских пород под действием фармазина 50// Труды ВГАВМ. - Витебск, 1995. 10. Толкач Н.Г. Влияние тилозиновых антибиотиков на иммунологическую резистентность организма цыплят// Актуальные проблемы патологии с.-х. животных. - Минск, 2000. - С.216. 11. Толкач Н.Г. Тилозиновые препараты в практике ветеринарной медицины// Ветеринарная медицина Беларуси. - 2002. - №4. - С. 37. 12. Ятусевич А.И., Савченко В.Ф., Толкач Н.Г. и др. Эффективность фразидина-50 при лечении свиней, больных балантидиозно-криптоспориозной инвазией// Ветеринарная медицина Беларуси. - 2004. - №4. - С. 15.

Поступила 7.02.2005 г.

УДК 619:615.9

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК РАСЧЕТА ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРОДУКТОВ ЩЕЛОЧНОГО РАСТВОРЕНИЯ СЕРЫ

Кузьмич Р.Г., доктор ветеринарных наук, профессор
Веремей И.С., врач ветеринарной медицины
Бобрик Д.И., аспирант

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Для обеспечения высокого качества и надежности при испытании новых оригинальных потенциальных лекарственных препаратов по острой токсичности нами проведена сравнительная характеристика основных методик, используемых при расчете пробит-анализом.

Анализ литературных данных показал, что при испытании ветеринарных препаратов наиболее часто используются методики расчета по Литчфилду-Уилкоксона, Миллера-Тейнтера с модификациями, используемыми в регламентирующей документации [0]. Сравнение точности, а тем более параметры различия указанных методик не приводятся.

Изучение острой токсичности проводили на беспородных белых мышах обоих полов. В качестве стабилизированных продуктов щелочного растворения серы использовался созданный нами новый препарат «Полисульфол».

Животных разделили на 6 групп по 7 голов и содержали на обычном рационе. Препарат вводили внутрь в испытуемых дозах однократно. В контроле назначали воду. Наблюдение за животными вели в течение 14 дней после введения препарата. При этом учитывали картину интоксикации, количество павших животных и результаты патологоанатомического вскрытия павших животных. Поили и кормили животных не ранее чем через 3-4 часа после дачи препарата. В ходе опыта в течение двух недель учитывали внешний вид, поведение животных, состояние шерстного покрова, подвижность, отношение к корму, время возникновения и характер интоксикации, ее тяжесть, сроки гибели или выздоровления.

Расчет и анализ параметров острой токсичности проводились в строгом соответствии с математическим алгоритмом, указанным в нормативных документах [1, 4] и монографии [1], с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel 2000» на персональном компьютере.

В ходе опыта установлено, что при введении малых доз препарата картина интоксикации характеризовалась кратковременным угнетением в течение 5 минут и снижением аппетита в течение суток. После назначения средних и больших доз у животных спустя 5-7 минут наблюдали резко выраженное возбуждение, проявлявшееся безудержным движением вперед, отмечались повышенная возбудимость и реакция на внешние раздражители, западание глаз, саливация. В дальнейшем возбуждение сменялось угнетением, наблюдалась шаткая походка; животные падали. Приобретали боковое положение и погибали в течение 2 - 3 часов при явлениях судорог. У контрольных животных отклонений от нормы не зарегистрировано.

Картина патологоанатомического вскрытия павших животных характеризовалась застоем и отеком внутренних органов, незначительным гастроэнтеритом, анемичностью слизистых оболочек. При убое оставшихся животных после окончания опыта видимых изменений в паренхиматозных органах не зарегистрировано. Влияние препарата «Полисульфол» на подопытных мышей представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние препарата «Полисульфол» на подопытных мышей

Доза, мг/кг	Количество живых мышей	Количество погибших мышей	Гибель мышей, %
128,5	7	0	0,00
270,5	5	2	28,57
489,5	4	3	42,86
771,0	2	5	71,43
1082,1	1	6	85,71
1285,0	0	7	100,00

Новый подход к количественной оценке фармакологической активности основан на том, что на теоретической кривой нормального распределения индивидуальных минимальных эффективных доз, равно как и на теоретической характеристической кривой, величина любой дозы представлена как алгебраическая сумма средней эффективной и определенной дозы, выраженной в единицах стандартного отклонения:

$$x = ED_{50} + n \cdot \sigma \quad (1)$$

где x – любая доза, а σ – стандарт теоретического распределения. Как уже указывалось выше, любой величине n соответствует совершенно определенная частота учитываемого эффекта, которую можно выразить в процентах.

Так, при $n = 0$, как это вытекает из уравнения (1), $x = ED_{50}$, т.е. частота учитываемого эффекта составляет 50%. Для доз, больших ED_{50} , величина n должна иметь положительное значение; для доз, меньших ED_{50} , она должна быть отрицательной. Таким образом, при $n = -1$ частота учитываемого эффекта = 16%, а при $n = +1$ она составляет 84%.

Вообще величине n всегда эквивалентен совершенно определенный процент возникновения учитываемой фармакологической реакции. Этот факт дал основание Гэддаму использовать зависимость между испытываемыми дозами и соответствующими им значениями n для количественной оценки фармакологической активности.

$$n = \frac{x - ED_{50}}{\sigma} \quad (2)$$

Так как уравнение (2) является уравнением первой степени, то в графической форме зависимость между дозами и соответствующими нормальными эквивалентными отклонениями должна представлять собой прямую линию. Такая форма зависимости, как наиболее простая, легче всего поддается математическому анализу.

Идеи Гэддама получили дальнейшее развитие в работах Блисса [0].

Как уже отмечалось выше, дозам, меньшим ED_{50} , соответствуют отрицательные значения нормальных эквивалентных отклонений. Для того, чтобы исключить необходимость оперирования с отрицательными величинами,

Блисс предложил вместо нормального эквивалентного отклонения n пользоваться величиной

$$Y = n + 5 \quad (3)$$

Величина Y получила название «пробит» (словообразование из двух английских слов – «probability unit», т.е. «вероятностная единица»). Очевидно, что величина пробита может принять отрицательное значение, если n меньше 5. Такому значению нормального эквивалентного отклонения соответствует частота эффекта, меньшая, 0,0001% которая, конечно, не встречается в исследовательской практике фармаколога.

Блисс составил таблицы, с помощью которых можно найти значение пробита Y , соответствующее любой частоте эффекта, выраженной в процентах.

Количественный анализ экспериментальных данных, основанный на изучении зависимости между логарифмами испытанных в эксперименте доз и пробитами, соответствующими наблюдавшимся эффектам, носит название пробит-анализа.

Расчет по Литчфилду-Уилкоксону осуществляли по математическому алгоритму, описанному в монографии [0]. Автор доступно представил основные расчетные формулы. Часть из них была адаптирована в графических номограммах для облегчения техники расчета того времени. Нами была соблюдена точность и последовательность расчетов благодаря статистическим возможностям «Microsoft Excel 2000». Ручное построение графика на миллиметровой бумаге заменена регрессионным анализом с выводом основных параметров уравнения линейной регрессии и величины достоверной аппроксимации. Основные показатели, необходимые для расчета параметров острой токсичности по Литчфилду-Уилкоксону, представлены в таблице 2. График зависимости пробитов от логарифма вводимой дозы показан на рис.1.

Наиболее распространенной методикой расчета параметров острой токсичности лекарственных препаратов, используемых в ветеринарии, является математический алгоритм, описанный [4]. Методика расчета представляет собой комбинированный вариант расчета LD_{50} по Першину Г.Н., сопряженный с нахождением размаха варьирования LD_{50} по Миллеру-Тейнтеру и графическим интерфейсом пробит-анализа. Основные показатели, не-

обходимые для расчета параметров острой токсичности по данной схеме, представлены в таблице 3. График зависимости пробитов от логарифма вводимой дозы показан на рис. 2.

Для испытания зарегистрированных лекарственных препаратов пользуются методи-

кой расчета параметров альтернативных фармакологических реакций, описанной в Государственной фармакопее СССР XI (ГФ XI). Математический алгоритм имеет разветвленную структуру и лишен графического интерфейса.

Таблица 2

Показатели, необходимые для расчета параметров острой токсичности по Литчфилду-Уилкоксону

Доза (D) мг/кг	Наблюдаемая гибель		Ожидаемая гибель		lg D
	пробит	%	пробит	%	
128,5	2,93	1,9	3,42	5,7	2,11
270,5	4,43	28,6	4,31	24,4	2,43
489,5	4,82	42,9	5,03	51,0	2,69
771,0	5,57	71,4	5,57	71,6	2,89
1082,1	6,07	85,7	5,98	83,6	3,03
1285,0	6,79	96,3	6,19	88,2	3,11

Показатели, необходимые для расчета параметров острой токсичности согласно ГФ XI, приведены в таблицах 4 и 5.

В таблице 6 представлены параметры острой токсичности, рассчитанные графическим методом пробит-анализа. LD₅₀ (доза, вызвавшая гибель 50% животных), LD₁₆ (доза, вызвавшая гибель 16% животных), LD₈₄ (доза, вызвавшая гибель 84% животных), N' (количество животных, получавших дозу больше LD₁₆ и меньше LD₈₄), S – стандартная ошибка, f_{LD50} – коэффициент размаха варьирования LD₅₀, S_{LD50} – размах варьирования LD₅₀.

Проводя сравнительный анализ, установлено, что максимальное значение LD₅₀ принимает при расчете согласно [4]. Разрабатывая комбинированный математический алгоритм расчета параметров острой токсичности, авторы методических указаний, возможно,

стремились завязать значение LD₅₀. Это необходимо для более тщательного подхода при назначении терапевтической дозы для новых лекарственных препаратов. Расчет диапазона варьирования LD₅₀ проводили по одному из вариантов пробит-анализа – методу Миллера-Тейнтера. Эта разновидность пробит-анализа отличается простотой исполнения и быстротой обработки результатов эксперимента. Однако метод Миллера-Тейнтера по информативности далеко не исчерпывает все возможности пробит-анализа и в отдельных случаях не полностью объективен. Так, вычисление значений «рабочих» пробитов для доз, которые в опыте оказались неэффективными или вызвали эффект у всей группы животных, осуществляется только в зависимости от числа животных в группе, без учета расположения других точек на графике.

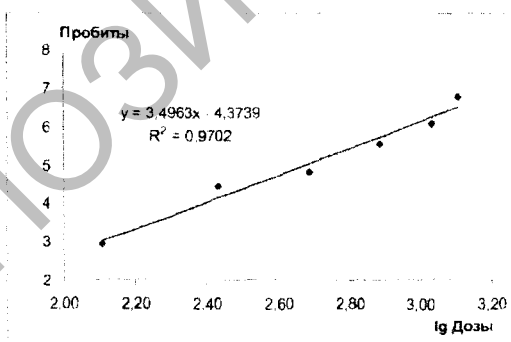


Рис. 1 График зависимости пробитов от логарифма вводимой дозы при однократном оральном введении по Литчфилду-Уилкоксону

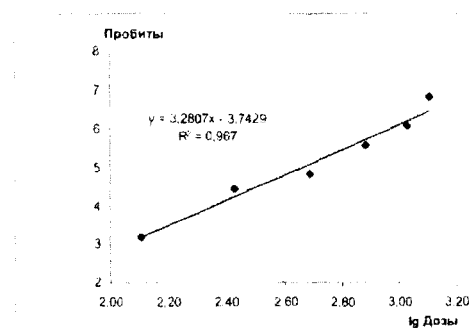


Рис. 2 График зависимости пробитов от логарифма вводимой дозы при однократном оральном введении согласно [4]

Таблица 3

Показатели, необходимые для расчета параметров острой токсичности согласно методических указаний по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных

Доза (D) мг/кг	Наблюдаемая гибель		lg D	A+B	M-H	(A+B)*(M-H)
	пробит	%				
128,5	3,2	0,0	2,11	399,03	28,57	11400,75
270,5	4,43	28,6	2,43	760,05	14,29	10857,86
489,5	4,82	42,9	2,69	1260,52	28,57	36014,97
771,0	5,57	71,4	2,89	1853,11	14,29	26472,93
1082,1	6,07	85,7	3,03	2367,11	14,29	33815,79
1285,0	6,8	100,0	3,11	Сумма		118562,30

Таблица 4

Первичные показатели, необходимые для расчета параметров острой токсичности по ГФ XI

Дозы	lgD	y	w	nw	nwx	nwy	nwx ²	nwxу
270,5	2,432	4,44	0,5660	3,962	9,636	17,58	92,86	169,41
489,5	2,690	4,82	0,6287	4,401	11,838	21,20	140,13	250,96
771,0	2,887	5,56	0,5660	3,962	11,439	22,04	130,84	252,11
1082,1	3,034	6,07	0,4153	2,907	8,820	17,64	77,80	155,61
Суммы			2,1760	15,2320	41,73	78,46	441,63	828,081

Таблица 5

Вторичные показатели необходимые для расчета параметров острой токсичности по ГФ XI

V	x	y	SQ	SP	B	B	g
0,06566	2,7398	5,1511	327,292	613,110	0,00306	1,8733	0,00335

Таблица 6

Параметры острой токсичности, рассчитанные тремя методиками

Согласно [0]								
Интервал LD ₅₀	N'	LD ₅₀	LD ₁₆	LD ₈₄	S	f _{LD50}	S _{LD50}	
498,8	686,8	28	592,8	229,2	932,8	2,08	1,19	94,03
Согласно Литчфилду-Уилкоксоу								
Интервал LD ₅₀	N'	LD ₅₀	LD ₁₆	LD ₈₄	S	f _{LD50}	S _{LD50}	
339,9	677,4	28	479,9	248,4	927,1	1,93	1,41	231,5
Согласно ГФ XI								
Интервал LD ₅₀	N'	LD ₅₀	LD ₁₆	LD ₈₄	S	f _{LD50}	S _{LD50}	
245,7	846,2	28	456,2			1,86		210,5

Кроме того, оценка параллельности прямых, в результате которой выясняется возможность сопоставления фармакологической активности изучаемых веществ, производится без использования какого-либо объективного критерия. Метод Миллера-Тейнтера не дает возможности вычислить доверительные границы относительных активностей, что затрудняет сравнительную количественную оценку изучаемых веществ.

Математический алгоритм, описанный в ГФ XI, можно отнести к пробит-анализу лишь по использованию ключевой таблицы пробитов, соответствующих процентам положитель-

ных ответов. Как было уже указано выше, метод лишен графического интерфейса, а для коррекции получаемых первичных показателей введены весовые коэффициенты. Разработчики данной методики руководствовались тем, что в государственную фармакопею включаются лекарственные средства, которые давно уже применяются в медицине и ветеринарии, и испытание их на острую токсичность несет лишь дополнительную информацию о качестве лекарственного препарата. Этим также можно объяснить допустимость использования данной методикой двух испытываемых доз (обычно пробит-анализ требует для испытания не ме-

нее трех доз). Кроме того, этой методикой невозможно определить LD_{16} и LD_{84} . LD_{50} , рассчитанное по этому алгоритму, имеет самое низкое значение, а интервал LD_{50} сопоставим с методом Литчфилда-Уилкоксона.

Наиболее полную и объективную информацию о величине фармакологической активности изучаемых соединений дает применение метода, предложенного Литчфилдом и Уилкоксоном. Метод лишен всех вышеперечисленных недостатков и имеет мощный математический алгоритм, позволяющий разрешение достаточно сложных проблем в фармакологии. Однако использование его в прошлом ограничивалось из-за сложности расчетных операций и отсутствия доступной вычислительной техники и соответствующего программного обеспечения. В настоящее время статистические возможности таких программ, как «Microsoft Excel 2000», позволяют автоматизировать алгоритм метода Литчфилда-Уилкоксона и более точно определять параметры острой токсичности для лекарственных препаратов.

Проведенными исследованиями установлено, что параметры острой токсичности «Полисульфола», рассчитанной методом Литчфилда-Уилкоксона, при внутреннем введении

Поступила 14.02.2005 г.

УДК 619:616.995.122.21-08

ПРОБЛЕМА ФАСЦИОЛЕЗА И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМ

Ятусевич А.И., доктор ветеринарных наук, профессор,
Братушкина Е.Л., Олехнович Н.И., доценты, кандидаты ветеринарных наук,
Протасовицкая Р.Н., Пивовар В.П., ветеринарные врачи

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Гельминтозы сельскохозяйственных животных широко распространены и причиняют значительный экономический ущерб хозяйствам, среди которых трематодозы и, в особенности фасциолез, представляет огромную проблему не только в нашей республике, но и в странах ближнего и дальнего зарубежья. Особенно актуальной проблема фасциолеза является для Беларуси в силу её природно-климатических условий.

Фасциолез – трематодозное заболевание многих видов сельскохозяйственных и диких животных, а также человека, сопровождающееся поражением печени, иногда легких, сердца и других органов. Чаще всего болеют крупный и мелкий рогатый скот. Из диких животных фасциолез отмечается у оленей, лосей, зубров, косулей, кабанов, выдр, белок, бобров и др. Всего болеют фасциолезом свыше 40 видов животных (А. И. Ятусевич, 2003).

дении составили: LD_{16} – 248,4 мг/кг, а LD_{84} – 927,1 мг/кг, а LD_{50} составила – 479,9 мг/кг.

Выводы.

1. При расчете параметров острой токсичности тремя методиками статистически достоверных отличий обнаружено не было, следовательно, все три методики могут быть с успехом использованы для вычисления этих показателей.

2. Полученные данные позволяют судить, что при разработке новых лекарственных препаратов для вычисления параметров острой токсичности наиболее оптимальным является метод Литчфилда-Уилкоксона.

3. Таким образом, по таблице классификации химических веществ [0] при однократном оральном введении, «Полисульфол» относится к малотоксичным препаратам.

Литература. 1. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л., Госметиздат, 1963. – 151 с. 2. Государственная фармакопея СССР, XI издание. – М., 1987. – С. 221-252. 3. Каган Ю.С. Количественный анализ опасности и гигиеническая классификация пестицидов // Профилактическая токсикология. М., 1984. – С. 123-124. 4. Методические указания по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных // Воронеж, 1987. 22 с.

По данным ВОЗ (1995) фасциолез человека был выявлен в 61 стране мира, при этом 2,4 млн. людей инвазировано возбудителями этой болезни (И.А. Молчанов с соавт., 2004). Нередко регистрируются случаи – заболевание фасциолезом человека и в Республике Беларусь. Поэтому фасциолез следует отнести к типичному зоонозу.

Первые известия о фасциолезе были представлены более 600 лет назад. Именно к тому времени принадлежат данные о том, что в 1379 году Жан де Бри (управляющий овцефермой в период правления Карла V) писал, что болезнь, которую называют плоским глистом, появляется у овец, которые употребляют траву, произрастающую на болотистых местах.

На территории нашей страны фасциолез распространен повсеместно. В Беларуси болезнь известна с 19 века под такими названиями