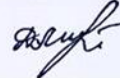


Міністерство освіти та науки України
Рівненський державний гуманітарний університет
Психолого-природничий факультет
Кафедра екології, географії та туризму

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри



(підпис)

Д.В. Лико

(ініціали, прізвище)

“ 19 ” червня 2023 року

Пояснювальна записка

до кваліфікаційної роботи бакалавра

зі спеціальності 101«Екологія» (ОПП «Екологія (Прикордонний екологічний контроль)»

(код і назва)

на тему: «Екологічний та токсикологічний контроль вітамінних лікарських засобів які переміщуються через митний кордон України»

Виконав (-ла): студент (-ка) IV курсу, групи Е-41

(шифр групи)

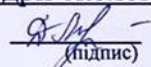
Руснак Іван Михайлович

(прізвище, ім'я, по батькові)

(підпис)

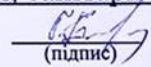
Керівник доктор сільськогосподарських наук, завідувач кафедри екології, географії та туризму РДГУ Лико Д.В.

(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)


(підпис)

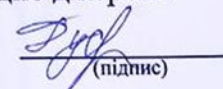
Рецензент доктор ветеринарних наук, завідувач кафедри гігієни, санітарії та ЗВП ЛНУВМ та БТ Гутий Богдан Володимирович

(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)


(підпис)

Засвідчую, що кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Студент


(підпис)

Оцінка за результатами захисту:

Національна шкала Відмінно

Кількість балів: 90

Оцінка: ЄКТС A

Рівне - 2023 року

З М І С Т

№ п/п		с.
	ВСТУП	5
Розділ I	ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
Розділ II	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	17
Розділ III	РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	28
3.1.	Дослідження параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам	28
3.2.	Дослідження параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового підшкірного введення білим щурам	30
3.3.	Дослідження параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового підшкірного введення білим мишам	32
3.4	Визначення токсичності та подразнювальної дії препарату БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролям	34
3.5	Дослідження подразнювальної дії ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС на кролях	35
3.6	Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні)	37
3.7	Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних уведеннях на собаках (підгостра токсичність при підшкірному введенні)	44
3.8	Визначення толерантності мурчаків щодо препарату	50
3.9	Визначення ембріотоксичності, мутагенності та тератогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих щурах	51
3.10	Визначення канцерогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих мишах	53
	ВИСНОВКИ	56
	ЛІТЕРАТУРА	59

РЕЗЮМЕ

Проведені лабораторні дослідження з визначення гострої та підгострої токсичності ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС на білих щурах, білих мишах, кролях, мурчаках та собаках.

Препарат БТФ ПЛЮС – комплексний вітамінно-мінеральний препарат, який застосовується для нормалізації та корекції обмінних процесів у птиці та тварин. Препарат застосовують різним видам тварин та птиці як стимулюючий, тонізуючий та загальнозміцнюючий засіб при: акушерських патологіях (складні пологи, післяпологові ускладнення, парези, еклампсії, порушення статевого циклу); порушеннях обміну речовин, що викликані нераціональною годівлею, недоїданням, астеничному синдромі тощо; анеміях при гельмінтозах; вторинних анеміях, як додатковий засіб при лікуванні дефіциту магнію та кальцію; для підвищення м'язової активності, при значних навантаженнях, перенапруженнях та виснаженні у тварин; для підвищення резистентності організму до дії різноманітних патогенів; для стимулювання росту, розвитку та приросту живої ваги у молодих тварин; як додатковий засіб при лікуванні захворювань, спричинених різними факторами (інфекційного та неінфекційного походження).

За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС у разі одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам-самкам LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг маси тіла).

За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС у разі одноразового підшкірного введення білим щурам-самкам і

мишам-самцям LD₅₀ розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 20000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла для обох видів тварин відповідно, що дозволяє віднести його до VI класу – відносно нешкідливих речовин (LD_{50Subcut} >4500 мг/кг маси тіла).

Ветеринарний препарат БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролів у дозах (за абсолютною масою препарату) від 750,0 до 3000,0 мг/кг маси тіла не проявляє подразнювальної дії, а за ступенем небезпечності його можна віднести до IV класу – малонебезпечних речовин (LD_{50Percut} >2500,0 мг/кг маси тіла).

Препарат БТФ ПЛЮС не викликає подразнювальної (шкідливої) дії на слизову оболонку ока кроликів, про що свідчить відсутність набряку повік протягом усього терміну спостереження, ін'єкція судин та помірні виділення з ока тварин лише протягом першої доби після нанесення.

При підшкірному введенні щурам препарат БТФ ПЛЮС за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0; 1000,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в їх організмі.

Підшкірне введення собакам препарату БТФ ПЛЮС у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0; 1000,0 і 2000 мг/кг маси тіла протягом 10-ти діб не спричинює гепато- та нефротоксичної дії на організм за умов підгострого токсикологічного експерименту, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в організмі цільових тварин.

Досліджено толерантність мурчаків щодо препарату БТФ ПЛЮС. Установлено, що препарат не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (за абсолютною масою препарату) (5000,0-15000,0) мг/кг маси тіла.

Препарат БТФ ПЛЮС за умов підшкірного введення вагітним щурам-самкам у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0 та 2000,0 мг/кг маси тіла не викликає загибелі та патологічних змін ембріонів, не чинить ембріотоксичної та тератогенної дії. Також не виявляли змін відносно маси плаценти, плодів та їх краніо-каудального розміру.

Препарат БТФ ПЛЮС за умов 5-добового підшкірного введення білим мишам у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила 0,117-0,133 %, що входить в межу норми до 0,2 %).

Звіт викладено українською мовою, на 45 с., містить 10 таблиць, 10 літературних посилань.

Ключові слова: БТФ ПЛЮС, МИШІ, МУРЧАКИ, ЩУРИ, КРОЛІ, СОБАКИ, ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ПІДГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ДОЗА, ЛЕТАЛЬНІСТЬ, ЕКОТОКСИЧНІСТЬ.

ВСТУП

На початку повномасштабної війни вітчизняні ветеринарні фармацевтичні заводи віддавали більшість виробничих потужностей під потреби внутрішнього ринку, забезпечуючи ветеринарними лікарськими засобами сільськогосподарські підприємства різної форми власності. Тим не менш, перспектива українських фармацевтичних заводів перед міжнародними партнерами залишається актуальною. Сьогодні Україна має шанс підвищити якість ветеринарних лікарських засобів через співпрацю з Європейським Союзом.

Ветеринарні лікарські засоби, що переміщуються через митний кордон України, крім митного контролю, мають обов'язково підлягати державному ветеринарно-санітарному контролю.

Враховуючи, те що ефективна боротьба з незаразними хворобами різноманітної етіології тварин в Україні та Європі можлива за наявності застосування високоефективних та доступних лікарських засобів-супроводу.

Тому, на сьогодні не втрачає актуальності дослідження якості вітчизняних тонізуючих, стимулюючих та загальнозміцнюючих засобів, які є невід'ємною складовою частиною системної терапії та володіють значною ефективністю та екологічною безпечністю. Так, ТОВ "ДЕВІЕ" запропоновано новий препарат – БТФ ПЛЮС. Один мілілітр препарату містить діючі речовини: бутафосфан – 100 мг, L-карнітин – 100 мг, вітамін В₁₂ – 0,05 мг.

Препарат БТФ ПЛЮС – комплексний вітамінно-мінеральний препарат, який застосовується для нормалізації та корекції обмінних процесів у тварин та птиці.

Бутафосфан – похідне фосфонової кислоти. Володіє тонізуючою дією, є адаптогеном та стимулятором обмінних процесів, підвищує резистентність організму до комплексу негативних факторів, сприяє росту та розвитку тварин.

L-карнітин – амінокислота, яка приймає участь у транспорті жирних кислот через мітохондріальну мембрану, є важливим фактором підтримання

певного рівня коензиму ацилювання (коензим А) у всіх типах клітин. L-карнітин володіє вираженою анаболічною дією: стимулює синтез білків м'язової тканини, мобілізує ліпіди з жирового депо (печінка, м'язи, жирова тканина), сприяє росту та розвитку. L-карнітин покращує апетит та секреторну функцію травного каналу, сприяє засвоєнню поживних речовин кормів. L-карнітин зменшує інтенсивність апоптозу всіх типів клітин, підвищує інтенсивність надходження органічних кислот (оцтової, пропіонової, молочної, тощо) та кетонів тіл до циклу Кребса, чим попереджає розвиток ацидозу та кетозу. Також L-карнітин підвищує тонус скелетних м'язів та міокарду, сприяє швидкому відновленню після фізичних навантажень.

Ціанкобаламін (вітамін В₁₂) – фактор метилювання, який є кофактором ферментів гемопоезу та метаболізму органічних кислот, володіє ліпотропною дією

Таким чином, комплексний вплив діючих речовин препарату призводить до підвищення інтенсивності росту і розвитку тварин, резистентності та продуктивності через стимуляцію протікання обмінних процесів.

Препарат БТФ ПЛЮС застосовують всім видам тварин та птиці як тонізуючий, стимулюючий та загальнозміцнюючий засіб при: акушерських патологіях (складні пологи, післяпологові ускладнення, парези, еклампсії, порушення статевого циклу); порушеннях обміну речовин, що викликані нерациональною годівлею, недоїданням, астенічному синдромі тощо; вторинних анеміях, анеміях при гельмінтозах; як додатковий засіб при лікуванні дефіциту кальцію та магнію; для підвищення м'язової активності, при значних навантаженнях, перенапруженнях та виснаженні у тварин; для підвищення резистентності організму до дії різноманітних патогенів; для стимулювання росту, розвитку та приросту живої ваги у молодих тварин; як додатковий засіб при лікуванні захворювань, спричинених різними факторами (інфекційного та неінфекційного походження).

Отже, метою досліджень було надати токсикологічну (доклінічну) оцінку ветеринарного лікарського засобу БТФ ПЛЮС шляхом визначення його гострої

та підгострої токсичності, подразнювальної, ембріотоксичної дії, толерантності і канцерогенності на лабораторних тваринах і собаках.

Завдання роботи: провести токсикологічні (доклінічні) дослідження ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС, виробництва ТОВ “ДЕВІЕ” (сmt. Літин, Україна), призначеного як тонізуючий, стимулюючий та загальнозміцнюючий засіб при: акушерських патологіях (складні пологи, післяпологові ускладнення, парези, еклампсії, порушення статевого циклу); порушеннях обміну речовин, що викликані нераціональною годівлею, недоїданням, астенічному синдромі тощо; вторинних анеміях, анеміях при гельмінтозах; як додатковий засіб при лікуванні дефіциту кальцію та магнію; для підвищення м'язової активності, при значних навантаженнях, перенапруженнях та виснаженні у тварин; для підвищення резистентності організму до дії різноманітних патогенів; для стимулювання росту, розвитку та приросту живої ваги у молодих тварин; як додатковий засіб при лікуванні захворювань, спричинених різними факторами (інфекційного та неінфекційного походження).

Розділ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Специфіка ветеринарних лікарських засобів полягає у реалізації питань продовольчої безпеки на загальнодержавному рівні. Задоволенні потреб населення продуктами харчування належної якості, спрямованих на охорону здоров'я людей, збереження генофонду української та європейської нації тощо [1, 8]. Відповідно Закону України Про ветеринарну медицину, ветеринарні лікарські засоби – це суміші речовини біотехнологічного, синтетичного, природного походження, які застосовуються для попередження вагітності, лікування та діагностики, профілактики захворювань тварин або зміни функцій і стану організму. Відповідно до цього закону, до ветеринарних лікарських засобів належать [2]:

- а) субстанції (діючі речовини);
- б) готові ветеринарні лікарські засоби (ліки, медикаменти, лікарські препарати);
- в) ветеринарні гомеопатичні засоби;
- г) ветеринарні лікарські засоби для зовнішнього застосування;
- д) кормові добавки, домішки для харчових кормових продуктів (пробіотики та ін.);
- е) діагностичні засоби, які використовуються для встановлення збудників хвороб тварин, а також боротьби із збудниками хвороб або паразитами.

Забезпечення захисту здоров'я тварин та здоров'я української нації, їх законних інтересів та прав у сфері правових відносин, що з'являються при переміщенні товарів (у тому числі ветеринарних лікарських засобів) через митний кордон України, є однією з функцій митної політики, як складової зовнішньої та внутрішньої та політики держави [3, 21]. Слід наголосити, що митна політика фактично є комплексною системою заходів, що використовуються державою в митному оподаткуванні, контролі і митному оформленні ветеринарних лікарських засобів.

Порядок ввезення зареєстрованих ветеринарних лікарських засобів нормативно закріплено законом України Про лікарські засоби [2], а порядок ввезення незареєстрованих ветеринарних ліків – Наказом Міністерства охорони здоров'я України та Держпродслужби Порядок ввезення на територію України незареєстрованих лікарських засобів у тому числі ветеринарних, діагностичних наборів, реагентів, стандартних зразків від 26.04.2011 № 237 [4].

Порядок переміщення ветеринарних лікарських засобів через митний кордон нашої держави безпосередньо пов'язаний із здійсненням митними органами схем і процедур митного контролю і оформлення (ст. 40, 45, 81, 86 МГ України) [5].

Варто наголосити, що відповідно до МГ України, митний контроль – це сукупність заходів, що здійснюються митними органами в межах своїх компетенції з метою контролю за дотриманням норм діючого вітчизняного законодавства (п. 15 ст. 1 МГ України) [5]. Митний контроль щодо ветеринарних лікарських засобів спрямований на дотримання державними органами, фізичними особами, підприємствами порядку переміщення ветеринарних лікарських засобів через митну територію нашої України [6, 104-105].

Виконання митним органом процедур, які безпосередньо пов'язані із отриманням результатів безпосереднього митного контролю транспортних засобів і товарів, які переміщують через митний кордон нашої країни і мають законні юридичні підстави для їх подальшого використання, визначається як митне оформленням [5].

Повний перелік документів, які необхідні для проведення митного контролю та митного оформлення транспортних засобів і товарів, що переміщуються через митний кордон нашої держави, регламентовано і затверджено у Постанові КМУ (Кабінету Міністрів України) від 01.02.2006 р. № 80 [7]. Серед повного переліку документів, які необхідні для проведення митного оформлення та контролю, повинні бути представлені наступні документи, що містять інформацію, необхідну для визначення відповідного

товару узгодженого з Українською класифікацією товарів ЗЕД (зовнішньоекономічної діяльності) [7; 8]. , що розподіл товару згідно ЗЕД дає змогу виявити загальні характеристики показників їхньої якості й встановити необхідну класифікацію та номенклатуру якісних показників кожної групи товарів, раціонально проводити економічні операції, і з обліком узагальнених групових властивостей і характеристик робити кодування товару [9].

Враховуючи, те, що окремі юридичні особи шляхом проведення декларування товарів не за невідповідним кодом та не за своїм найменуванням товару Згідно з УГТ ЗЕД ухиляються від сплати зборів і податків у повному обсязі, то з метою запобігання таким ситуаціям було створено спеціальний нормативний перелік товарів груп прикриття та ризику, що визначається Державною митною службою нашої держави (далі – Держмитслужба).

Товари групи певного ризику – це товари, які можна декларувати не за своїм найменуванням і які по відношенню до інших товарів, подібних за функціями та складом, мають значну різницю в ступені оподаткування та заходах нетарифного регулювання (Наказ Держмитслужби України Про затвердження Технологічної інструкції відділу класифікації товарів і номенклатури при взаємодії з оперативними підрозділами Львівської західної регіональної митниці від 31.12.2003 р. № 1517 [10].

Під товарами групи прикриття мали на увазі продукцію, що з достатнім ступенем імовірності може декларуватися замість товарів групи ризику (Наказ Держмитслужби нашої країни Про Затвердження і розроблення Концепції упровадження, створення та розвитку системи аналізу та керування ризиками та Положення про систему селекції й аналізу факторів ризику при встановленні окремих форм митного контролю від 27.05.2005 № 435 [11].

Слід наголосити, що класифікація УГТ ЗЕД стосовно ветеринарних лікарських засобів створена на суттєвій функціональній ролі ветеринарного лікарського засобу впливати на організм тварини з профілактичною і лікувальною метою і не ставить за основний критерій хімічну будову препарату [12, 10-11]. Ветеринарні лікарські засоби відносяться до розділу IV Продукція

хімічної та пов'язаних із нею галузей народної промисловості, групи 30 Фармацевтична продукція, позицій 3001-3006, які свою чергу поділяються на під позиції, категорії та під категорії [13].

Ветеринарні лікарські засоби, які ввозяться на митну територію України та класифікуються Згідно товарного коду 3004, відносяться митною службою до групи ризику або групи прикриття. До товарних під позицій 3004 відносяться: 3004 10 – ліки, групи пеніцилінів або зі вмістом стрептоміцинів; 3004 20 – ліки, що містять інші антибіотики; 3004 31 – ліки, що містять інсулін; 3004 32 – ліки, що містять гормони кори надниркової залози; 3004 3Р – інші; 3004 40 – ліки, що містять алкалоїди, але без вмісту гормонів, інших сполук товарної позиції 2Р37 або антибіотики; 3004 50 – інші лікарські засоби, що містять вітаміни або інші сполуки товарної позиції 2Р36; 3004 Р0 інші [13].

Підходи щодо віднесення ветеринарних лікарських засобів до товарів груп ризику та прикриття Держмитслужбою деталізовано наказами регіональних митниць.

До групи прикриття відносяться формуючі бюджетом лікарські засоби, на які встановлено ставку ввізного мита, оскільки їх декларування можливе і за кодами УГТ ЗЕД 15, 2105, 2208 (Наказ Держмитслужби України (Львівської митниці) Про Затвердження Переліку товарів групи ризику та групи прикриття від 8 квітня 2011 р. № 135). В таких випадках із метою перевірки відповідності даним, зазначеним у вантажній митній декларації (код митної процедури 231) характеристикам товару, визначальним для класифікації, проводять спеціальні заходи митного контролю з проведенням митного огляду [14].

До групи ризику віднесено ветеринарні лікарські засоби згідно коду за УГТЗЕД 3004 (різниця у ставках мита від 0% до 10%), відповідно до Наказу Держмитслужби (Львівська митниця) Про Порядок застосування спеціальних заходів при митному оформленні товарів групи ризику від 2.07.2004 № 2Р7 [15].

Офіційним листом Держмитслужби № 25/3-45/7024-ЕП від 02.06.2004 р. офіційно деталізовано, що до групи ризику віднесено ветеринарні лікарські

засоби, які класифікуються у товарній підкатегорії 3004 P0 1P 00 Згідно З УГТЗЕД [16]. До під категорії 3004 P0 1P входять такі ліки, що розфасовані для роздрібною торгівлі та не містять йоду або його сполук [13].

Слід наголосити, що окрім ветеринарних лікарських засобів за кодом 3004 P0 1P, також до вказаних товарів групи ризику щодо заниження їх митної вартості занесено товари з кодом УГТ ЗЕД 3304PP0000, відповідно до офіційного листа Держмитслужби Щодо моніторингу та аналізу митних оформлень предметів і товарів, які переміщуються через митний кордон нашої держави та віднесені до товарів груп ризику щодо заниження їх митної вартості від 12.03.2008 № 16/1-1484-ЕП. Даний код 3304PP0000 включає препарати для зовнішнього застосування [17].

При митному оформленні лікарських засобів або товарів групи ризику застосовується ряд спеціальних заходів, визначених Наказом Західної регіональної митниці, який передбачає Порядок застосування спец. заходів при митному оформленні вищевказаних товарів групи ризику від 30.06.2004 № 275 [18]. Вказані спец. заходи застосовуються з метою встановлення [15]:

- кількісних і якісних характеристик на товари, на які встановлено комбіновані та специфічні ставки ввізного мита;
- високоліквідні товари з дуже високим рівнем оподаткування;
- коду товару за класифікатором ЗЕД на подібні за функціями складом на товари із значною різницею у ступені оподаткування;
- країни звідки походять високоліквідні товари, щодо яких можлива фальсифікація країни походження.

Особливості митного оформлення та контролю ветеринарних лікарських засобів, які віднесені до груп ризику, полягають, зокрема, у необхідності надання уповноваженому митному органу наступних документів: реєстраційного посвідчення щодо державної реєстрації; копії фармакопейної статті (якщо наявні вітчизняна, за відсутності – іноземна); аналітичної нормативної документації, затвердженої МОЗ України; витягу з фармакопейної статті (вітчизняної або іноземної з перекладом); сертифікату про аналіз

показників якості (сертифікат якості та відповідності) підприємства-виробника; рекомендацій до застосування препарату (листівки-вкладки, короткої характеристики препарату); ДСТУ, ГОСТів, ТУ України або інших нормативних документів, що регламентують виробництво ветеринарних препаратів; ІЧ-, УФ-спектрів, хроматограм лікарських засобів і їх складових [15]. Потрібно звернути увагу на те, що повний пакет таких документів подається підприємствами-імпортерами в Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів і кормових добавок при державній реєстрації лікарського засобу.

Щодо особливостей митного оформлення ветеринарних лікарських препаратів, які проходять декларування у товарній під категорії 3004 P0 1P 00 Згідно З класифікатора ЗЕД, застосування митними органами окремих етапів і процедур митного оформлення та контролю, що полягають у виконанні досліджень певного виду товару у лабораторіях митниці [16].

Розпорядженням Державної митної служби України від 14 грудня 2010 р. (діє з 15.12.2010 р.) затверджено перелік товарів груп ризику, що підлягають обов'язковому лабораторному та експертному дослідженню. Відповідно до п.5 даного документу, обов'язковій перевірці підлягають ветеринарні лікарські препарати за кодом UGT ЗЕД 3004. Митні органи дивляться на якісні показники складу лікарських препаратів, в тому числі на вміст етилового спирту, основну діючу речовину та ексципієнти, і до даного вказаного товару застосовуються спеціальні заходи з обов'язковим залученням спеціального відділу класифікації товарів і контролю митної вартості. У п. 36 даного документу під кодом товару згідно З UGT ЗЕД 1302–P405 (крім товарної групи 2P та товарної позиції 3004) вказано лише ті препарати, які пройшли державну реєстрацію та допущені до застосування в Україні ветеринарні лікарські засоби, що звільняються від оподаткування; туди також залучають відділ класифікації товарів і контролю митної вартості [17].

Щодо особливостей проведення митного контролю та задокументування товарів груп ризику та прикриття застосовуються спеціальні заходи контролю

із обов'язковим залученням відділу класифікації товарів і контролю митної вартості. Відповідно, з метою посилення контролю за визначенням митної вартості товарів при проведенні їх митного оформлення відповідно до наказу Держмитслужби № 310 Закріплено перелік товарів групи ризику (препарати для зовнішнього використання). За відповідним кодом УГТЗЕД 3304, при проведенні митного оформлення яких в особливому режимі ІМ 40 обов'язково направляється супровідний лист-запит до відділу щодо контролю митної вартості [20]. А наказом Державної митної служби Про посилення контролю за дотриманням визначення правильності класифікації товарів при виконанні митного оформлення затверджено перелік товарів групи ризику та групи прикриття, які подаються до митне оформлення в режимі імпорту ІМ 40 та ІМ 40 ПМД, і митне оформлення яких проводиться при використанні спеціальних заходів контролю [21].

Отже, застосування наведених вище особливостей митного контролю ветеринарних лікарських засобів, які переміщуватимуться через митний кордон, забезпечує на практиці недопущення щодо неповної сплати зборів і податків та суб'єктами, які переміщують ветеринарні препарати через митницю і сприятиме зміцненню економіки та бюджету України.

Висновок з огляду літератури та формування основних напрямків експериментальних досліджень

Підсумовуючи вищенаведене, можна дійти висновку, що митний контроль та митне оформлення ветеринарних лікарських засобів, які мають певні особливості у перевезенні, які полягають у застосуванні спеціальних заходів контролю із обов'язковим залученням відділу контролю митної вартості та класифікації товарів, проведенні досліджень якості товару у митних лабораторіях, наданні до митного органу повного пакету документів, аналогічного тому, що подається при державній реєстрації ветеринарного лікарського засобу, проведенні митного огляду тощо.

Таким чином, проаналізувавши сучасні літературні джерела з питань якості та безпечності ветеринарного лікарського засобу, який буде переміщатися через митний кордон України можна зробити висновок, що ця проблема на сьогодні залишається дуже актуальною та потребує вирішення завдяки виконанню таких завдань:

- провести токсикологічні (доклінічні) дослідження ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС, призначеного як тонізуючий, стимулюючий та загальнозміцнюючий засіб при: акушерських патологіях (складні пологи, післяпологові ускладнення, парези, еклампсії, порушення статевого циклу); порушеннях обміну речовин, що викликані нераціональною годівлею, недоїданням, астеничному синдромі тощо; вторинних анеміях, анеміях при гельмінтозах; як додатковий засіб при лікуванні дефіциту кальцію та магнію; для підвищення м'язової активності, при значних навантаженнях, перенапруженнях та виснаженні у тварин; для підвищення резистентності організму до дії різноманітних патогенів; для стимулювання росту, розвитку та приросту живої ваги у молодих тварин; як додатковий засіб при лікуванні захворювань, спричинених різними факторами (інфекційного та неінфекційного походження).

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Інформація про досліджуваний препарат

Назва препарату:

БТФ ПЛЮС

Власник реєстраційного посвідчення виробник готового продукту:

сmt. Літин, вул. Богдана Хмельницького, 37. ПП “Біофарм”. 22300, Україна, Вінницька область, Літинський район, Тел./факс (04347) 2-21-44.

Виробник готового продукту:

сmt. Літин, вул. Богдана Хмельницького, 37. ТОВ “ДЕВІЕ” 22300, Україна, Вінницька область, Літинський район, Тел./факс (04347) 2-21-44.

Серія: 12345678

Дата виготовлення: 04.2022

Опис

Розчин рожево-червоного кольору

Склад

1 мл препарату містить діючі речовини: бутафосфан – 100 мг, L-карнітин – 100 мг, вітамін B₁₂ – 0,05 мг;

Допоміжні речовини: вода для ін’єкцій, бутиловий спирт – до 1 мл.

Фармакологічні властивості

АТС –vet класифікаційний код: QA16Q.

БТФ плюс – комплексний мінерально-вітамінний засіб, який застосовується для нормалізації та корекції та обмінних процесів у різного виду тварин та птиці.

Бутафосфан – похідне фосфонові кислоти. Володіє тонізуючою дією, є адаптогеном та стимулятором обмінних процесів, підвищує резистентність організму до комплексу негативних факторів, сприяє росту та розвитку тварин [<http://www.neovac.com.ua/btf-plus-injection>].

L-карнітин – амінокислота, яка приймає участь у транспорті жирних кислот через мітохондріальну мембрану, є важливим фактором підтримання

певного рівня коензиму ацилювання (коензим А) у всіх типах клітин. L-карнітин володіє вираженою анаболічною дією: стимулює синтез білків м'язової тканини, мобілізує ліпіди з жирового депо (печінка, м'язи, жирова тканина), сприяє росту та розвитку. L-карнітин покращує апетит та секреторну функцію травного каналу, сприяє засвоєнню поживних речовин кормів. L-карнітин зменшує інтенсивність апоптозу всіх типів клітин, підвищує інтенсивність надходження органічних кислот (оцтової, пропіонової, молочної, тощо) та кетонів тіл до циклу Кребса, чим попереджає розвиток ацидозу та кетозу. Також L-карнітин підвищує тонус скелетних м'язів та міокарду, сприяє швидкому відновленню після фізичних навантажень [<http://www.neovac.com.ua/btf-plus-injection>].

Ціанкобаламін (вітамін В₁₂) – фактор метилювання, який є кофактором ферментів гемопоезу та метаболізму органічних кислот, володіє ліпотропною дією [<http://www.neovac.com.ua/btf-plus-injection>].

Таким чином, комплексний вплив діючих речовин препарату призводить до підвищення інтенсивності росту і розвитку тварин, резистентності та продуктивності через стимуляцію протікання обмінних процесів.

Застосування

Препарат застосовують всім видам тварин та птиці як тонізуючий, стимулюючий та загальнозміцнюючий засіб при: акушерських патологіях (складні пологи, післяпологові ускладнення, парези, еклампсії, порушення статевого циклу); порушеннях обміну речовин, що викликані нераціональною годівлею, недоїданням, астеничному синдромі тощо; вторинних анеміях, анеміях при гельмінтозах; як додатковий засіб при лікуванні дефіциту кальцію та магнію; для підвищення м'язової активності, при значних навантаженнях, перенапруженнях та виснаженні у тварин; для підвищення резистентності організму до дії різноманітних патогенів; для стимулювання росту, розвитку та приросту живої ваги у молодих тварин; як додатковий засіб при лікуванні захворювань, спричинених різними факторами (інфекційного та неінфекційного походження).

Дозування

Застосовують одноразово впродовж 3-5 діб внутрішньом'язово, підшкірно або внутрішньовенно (повільно) у разових дозах (у мл на 10 кг маси тіла):

коні і велика рогата худоба – 0,2-0,4 мл;

лошата і телята – 0,5-1,0 мл;

вівці та кози – 1,0-1,5 мл;

ягнята, козенята – 1,5-2,0 мл;

свині – 0,5-1,0 мл;

поросята – 1,0-1,5 мл;

собаки, коти, хутрові звірі та кролі – 0,5-2,0 мл;

Птиці – шляхом випоювання впродовж 4-5 діб у дозах (у мл на 1 л питної води):

бройлери і кури-несучки – 1,0-2,0 мл;

курчата, молодняк – 1,0-1,5 мл.

При хронічних захворюваннях тваринам вводять половину дози. При необхідно курс повторюють через 14 діб.

Протипоказання

Індивідуальна чутливість до компонентів препарату.

Застереження

Продукція тваринництва використовується без обмежень.

Форма випуску

Флакони по 100 мл.

Зберігання

Сухе, темне, недоступне для дітей місце при температурі +5 - +25 °С. Препарат зберігати окремо від харчових продуктів, напоїв, у тому числі від корму для тварин.

Термін придатності – 2 роки. Після першого відбору препарат необхідно використати протягом 28 діб за умови зберігання в оригінальній упаковці при температурі від +4 до +8 °С.

Для застосування у ветеринарній медицині!

Визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам. Експеримент було проведено на 36 самках нелінійних білих щурів (3 – 4)-місячного віку і масою (190 – 200) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [1-3]: температура у приміщенні складала $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожну тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату БТФ ПЛЮС, що вводили внутрішньошлунково за один раз, не перевищував $2,5 \text{ см}^3$.

За принципом аналогів було сформовано 5 дослідних груп: щурам вводили препарат в дозах (за абсолютною масою препарату) 5000,0; 10000,0; 20000; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово (5000,0 і 10000,0 мг/кг), дворазово (доза 20000,0 мг/кг) і триразово (дози 30000,0 і 40000,0 мг/кг) перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Щурам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили воду для ін'єкцій в об'ємі $2,0 \text{ см}^3$. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 щурів ($n=6$). Загальний термін дослідження склав 14 діб.

За клінічним станом дослідних тварин спостерігали упродовж 14 діб, відмічаючи появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження щурів звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шкіри, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору та консистенції фекалій тощо [25-27].

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили аутопсію (патологоанатомічний розтин). Для встановлення патологоанатомічних змін

використовували макроскопічний метод досліджень [31]. Аутопсію виконували за нижче стандартною схемою.

Визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового підшкірного введення білим щурам. Експеримент було проведено на 36 самках нелінійних білих щурів 3-місячного віку і масою (200 – 210) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [25-27]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожну тварину зважували. Дози препарату БТФ ПЛЮС, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно не перевищував $5,0\text{ см}^3$. В експерименті за принципом аналогів було сформовано контрольну і 5 дослідних груп по 6 тварин в кожній ($n=6$).

Визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС (розчин для ін'єкцій) за одноразового підшкірного введення білим мишам. Експеримент було проведено на 36 самцях нелінійних білих мишей (3 – 4)-місячного віку і масою (23 – 25) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [1-3]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі мишей використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожну тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожної миші, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно за один раз, не перевищував $1,0\text{ см}^3$. В експерименті за принципом аналогів було сформовано контрольну і

5 дослідних груп по 6 тварин в кожній (n=6).

Препарат БТФ ПЛЮС вводили в дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово підшкірно в ділянці холки. Тваринам контрольної групи вводили воду для ін'єкцій.

Слід зазначити, що маніпуляції над лабораторними тваринами (мишами, щурами, мурчаками) проводили відповідно до наявних нормативних документів [28-30], що регламентують організацію робіт із використанням тварин експериментальних і дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

За клінічним станом дослідних лабораторних тварин спостерігали упродовж чотирнадцяти діб, відмічаючи розвиток і появу клінічних ознак отруєння, терміни загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження мишей звертали увагу на поведінку, наявність апетиту, реакцію на зовнішні подразники, стан шкіри, колір слизових оболонок, зміни кольору та консистенції фекалій, частоту дихання та дефекації, тощо [25-27].

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили автопсію (патологоанатомічний розтин) за вище наведеною схемою.

Визначення токсичності та подразнювальної дії препарату БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролям (гостра дермальна токсичність). Параметри гострої дермальної токсичності препарату БТФ ПЛЮС досліджували на 20 кролях породи Шиншила, віком 4 міс, масою (3,0-3,1) кг. Тварин утримували в стандартних умовах віварію за температури (18-21)°С, вологості (55-65) %, на стандартному раціоні, що відповідає нормативам.

Досліди на тваринах проводили з дотриманням правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей».

Для проведення досліджень було сформовано одну контрольну та три дослідних групи, по 5 кролів у кожній. За день до початку досліду на передбачуваному місці аплікації видаляли шерсть, ретельно вистригали її

ножицями. Крім того, тваринам були одягнені захисні комірці з метою попередження злизування препарату.

Спостереження за дослідними тваринами тривало 14 діб, при цьому враховували загальний стан тварин, характер уражень шкіри в місці аплікації, а також терміни загибелі або видужання тварин. Аплікація препарату була проведена вранці до годівлі тварин.

Препарат рівномірно наносили на ділянку шкіри кролів розміром 6×6 см.

Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні). Підгостру токсичність препарату БТФ ПЛЮС досліджували на 96 лабораторних статевозрілих щурах-самцях, масою (230,0-240,0) г.

Препарат БТФ ПЛЮС вводили підшкірно протягом 10 діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 24 щура у кожній (n=24): контрольна група — тварини, яким підшкірно вводили воду для ін'єкцій, I група — тварини, яким підшкірно вводили дослідний препарат (за абсолютною масою) у дозі 200,0 мг/кг (2,0 мл на 10 кг маси тіла, (терапевтична, згідно листівки вкладки), II група – 1000,0 мг/кг (п'ятикратна) та III група – 2000,0 мг/кг (десятикратна) відповідно.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на 6-ту, 11-ту і 18-ту добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин у порівнянні з контрольними впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспаратамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, альбумінів, а

також вміст кінцевих продуктів протеїнового розкладу – сечовини та креатиніну відповідно.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 7(7.6.5.0) (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента за рівня вірогідності 95,0 % ($p < 0,05$).

Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних уведеннях на собаках (підгостра токсичність при підшкірному введенні). Підгостру токсичність препарату БТФ ПЛЮС досліджували на 20 безпородних собаках масою (6,4-7,9) кг. Препарат вводили підшкірно один раз на добу протягом 10 діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідних групи по 5 тварин у кожній. Собакам контрольної групи підшкірно вводили воду для ін'єкцій. Тваринам I дослідної групи підшкірно вводили препарат (за абсолютною масою) в дозі 200,0 мг/кг (2,0 мл на 10 кг маси тіла, (терапевтична, згідно листівки вкладки), II група – 1000,0 мг/кг (п'ятикратна) та III група – 2000,0 мг/кг (десятикратна) відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у собак вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та їжі), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загально прийнятих методів.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили натщесерце з підшкірної вени передпліччя до введення препарату, на 6-ту, 11-ту і 18-ту добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин у порівнянні з контрольними впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці

крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспаратамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, альбумінів, а також вміст кінцевих продуктів протеїнового розкладу – сечовини та креатиніну відповідно.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 7(7.6.5.0) (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стюдента за рівня вірогідності 95,0 % ($p < 0,05$).

Визначення толерантності мурчаків щодо препарату БТФ ПЛЮС. Толерантність щодо препарату БТФ ПЛЮС випробовували на 6 групах мурчаків-самців ($n=5$, масою 370-410 г): тваринам дослідних груп препарат вводили підшкірно в дозах за абсолютною масою 5000,0; 7500,0; 10000,0; 12500,0 і 15000,0 мг/кг маси тіла; тварини 6 групи – були контрольними.

Спостереження за тваринами проводили впродовж 10 діб після введення. Фізіологічний стан дослідних тварин оцінювали за показниками рухливості, наявності апетиту, поведінки (зокрема реакції на больовий та зоровий подразники), стану волосяного покриву.

Визначення ембріотоксичності, мутагенності та тератогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих щурах. Для визначення ембріотоксичності, мутагенності та тератогенності препарату БТФ ПЛЮС було проведено дослід на лабораторних тваринах (щурах-самках) з масою тіла від (230 ± 5) г згідно [32].

У тварин проводили вивчення естрального циклу. Перший день вагітності самок контролювали за присутністю у піхвових мазках сперматозоїдів.

Було створено 2 дослідні та 1 контрольну групи по 30 вагітних самок-щурів у кожній, яких розділили ще на 3 підгрупи по 10 тварин.

Лікарський засіб БТФ ПЛЮС вводили підшкірно у дозах (за абсолютною масою) 200,0 мг/кг (терапевтична) та 2000,0 мг/кг (10-кратна) маси тіла: тваринам I підгруп з 1-го по 6-тий день вагітності (перший період – передімплантаційний); других підгруп – з 6-го по 16-тий день (другий період –

імплантація та органогенез); третіх підгруп – з 16-тої по 20-ту добу вагітності (третій період – період інтенсивного розвитку плоду) відповідно.

Вагітним самкам щурів контрольної групи в зазначені терміни вводили воду для ін'єкцій.

Щурів зважували на 1-, 5-, 12-, 16- та 20-ту добу дослідження.

Досліди на тваринах проводили з дотриманням вимог відповідно до статті 26 Закону України № 3447-15 «Про захист тварин від жорстокого поводження» у редакції від 16.10.2012 р. та 86/609/Е ЄС Директиви.

Визначення канцерогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих мишах. Прогнозування канцерогенного ефекту при підшкірному введенні препарату БТФ ПЛЮС проводили з використанням мікроядерного тесту (методу оцінки генотоксичності за виявленням мікроядер в клітинах кісткового мозку ссавців). Тест проведений відповідно до рекомендацій [33]. В якості експериментальної моделі були взяті самці і самки білих нелінійних мишей масою тіла $22,0 \pm 1,0$ г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію за температури (18-21) °С та вологості (55-65) %, штучним освітленням, з вільним доступом до води та корму.

У першій серії експерименту препарат БТФ ПЛЮС у дозах 200,0 мг/кг і 2000,0 мг/кг маси тіла вводили підшкірно одноразово тільки мишам-самцям (n=6) з фіксацією клітинного матеріалу через 24 год після введення. У другій серії випробуваний препарат в аналогічних дозах вводили підшкірно самцям і самкам мишей (n=6) щодня протягом 5 діб. Фіксацію клітинного матеріалу здійснювали через 24 год після останнього введення.

Для проведення експерименту за принципом аналогів було також сформовано дві контрольні групи (позитивний та негативний контроль) по 6 мишей у кожній. Негативним контролем була вода для ін'єкцій. В якості позитивного контролю при одноразовому введенні (пероральному) використовували циклофосамід в дозі 20 мг/кг маси тіла.

Приготування цитогенетичних препаратів проводили згідно з методичними вказівками [34]. Отримані препарати (два скла від кожної

тварини) піддавали мікроскопічному цитогенетичного аналізу.

Аналізували 2000 поліхроматофільних еритроцитів від кожної тварини, співвідношення нормо- і поліхроматофільних еритроцитів визначали при підрахунку 500 еритроцитів. Критерієм позитивного результату було відтворене і / або залежне від дози значуще збільшення числа поліхроматофільних еритроцитів (ПХЕ) з мікроядра принаймні в одній з груп в порівнянні з контрольною. Отриманий позитивний результат свідчить, що речовина індукує хромосомні пошкодження та / або порушення мітотичного апарату клітин у експериментальних тварин.

Статистичну обробку проводили відповідно до загальноприйнятих рекомендацій. Частка ПХЕ від всіх еритроцитів в нормі не повинна перевищувати 0,2 %.

Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Дослідження параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам

У досліді щурам внутрішньошлунково вводили препарат БТФ ПЛЮС у дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення препарату щурам I; II і III дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Щури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду.

За кратного введення препарату щурам IV і V дослідних груп (دوزи 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла) у тварин спостерігали незначне збудження протягом (2-3)-х год після останнього введення, також був дещо знижений прийом корму. Окрім цього протягом 3-х діб після введення у тварин цих груп виявляли розрідження фекалій. Клінічний стан щурів даних дослідних груп відновлювався на (4-5)-ту добу після введення.

Загибелі щурів у всіх дослідних групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження.

На 15-ту добу досліді проводили евтаназію щурів за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікання з ротової (носової) порожнини та ануса не відмічали.

На розтині (відносно контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не відмічали; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка коричневого кольору, пружної; консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричневого кольору,

не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень препарату БТФ ПЛЮС показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимально можлива введена доза ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС (за абсолютною масою) становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.2. Визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС за одноразового підшкірного введення білим щурам

Препарат БТФ ПЛЮС вводили в дозах 1000,0; 5000,0; 10000,0; 15000,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово підшкірно в ділянці холки. Тваринам контрольної групи вводили воду для ін'єкцій.

За фізіологічним і клінічним станом лабораторних тварин спостерігали упродовж чотирнадцяти діб, відмічаючи розвиток і появу клінічних ознак гострого отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження щурів звертали увагу на реакцію на зовнішні подразники, поведінку, наявність апетиту, колір слизових оболонок, стан шкіри, зміни кольору та консистенції фекалій, частоту дихання та дефекації, тощо [1-3].

Після загибелі (діагностичного забою) тварин робили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патзмін використовували макроскопічний метод досліджень [7].

У досліді щурам вводили препарат БТФ ПЛЮС у дозах 1000,0; 5000,0; 10000,0; 15000,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що підшкірне введення препарату щурам I-III дослідних груп (1000,0-10000,0 мг на кг живої маси тіла) через (5-10) хв після введення викликало незначне збудження та дозозалежне підвищення рухової активності, яке зберігалось протягом доби після введення. Проте корм і воду протягом дня тварини вживали добре. Далі у тварин I-III дослідних груп вищевказані показники на 2-гу добу після введення не відрізнялись від таких у контрольній групі. У IV і V дослідних групах протягом 2-х діб спостерігали незначне пригнічення, а вже на (3-4)-ту добу після введення клінічний стан тварин даних груп не відрізнявся від контрольного. У тварин усіх дослідних груп у місці введення препарату не відмічали болючості та припухлості протягом терміну досліджень, кулька після введення препарату зникала протягом доби після введення. Слід зазначити, що загибелі тварин в усіх дослідних групах протягом 14-ти діб не спостерігали.

На 15-ту добу досліду проводили евтаназію щурів за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікань з ротової (носової) порожнини та ануса не відмічали.

На розтині у щурів I-V дослідних груп (відносно контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не відмічали; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка коричневого кольору, пружної; консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричневого кольору, не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено. У ділянці введення не спостерігали ознак запалення і крововиливів.

За результатами досліджень показник LD_{50} ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС за умов його одноразового підшкірного введення щурам-самкам розрахувати не вдалося, оскільки загибелі тварин протягом 14-ти добового терміну дослідження не спостерігали. Максимально можлива доза для підшкірного введення склала 20000,0 мг/кг маси тіла (за абсолютною масою препарату). Отже, препарат БТФ ПЛЮС при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – відносно не шкідливих речовин ($LD_{50Subcut} >4500$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.3. Визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС (розчин для ін'єкцій) за одноразового підшкірного введення білим мишам

У досліді мишам вводили препарат БТФ ПЛЮС у дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що підшкірне введення препарату мишам I-II дослідних груп (5000,0-10000,0 мг/кг маси тіла) через (5-10) хв після введення викликало незначне збудження та підвищення рухової активності, яке зберігалось протягом доби після введення. Проте корм і воду протягом дня тварини вживали добре. Далі у тварин I-II дослідних груп вищевказані показники на 2-гу добу після введення не відрізнялись від таких у контрольній групі. У III-V дослідних групах протягом 2-х діб спостерігали незначне пригнічення, а вже на (3-4)-ту добу після введення клінічний стан тварин даних груп не відрізнявся від контрольного. У тварин усіх дослідних груп у місці введення препарату не відмічали болючості та припухлості протягом терміну досліджень, кулька після введення препарату зникала протягом доби після введення. Слід зазначити, що загибелі тварин в усіх дослідних групах протягом 14-ти діб не спостерігали.

На 15-ту добу досліді проводили евтаназію мишей за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікань з ротової (носової) порожнини та ануса не відмічали.

На розтині у мишей I-V дослідних груп (відносно контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не відмічали; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка коричневого кольору, пружної; консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричневого кольору, не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого

кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено. У ділянці введення не спостерігали ознак запалення і крововиливів.

За результатами досліджень показник LD_{50} ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС за умов його одноразового підшкірного введення мишам-самцям розрахувати не вдалося, оскільки загибелі тварин протягом 14-ти добового терміну дослідження не спостерігали. Максимально можлива доза для підшкірного введення склала 40000,0 мг/кг маси тіла (за абсолютною масою препарату). Отже, препарат БТФ ПЛЮС при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – відносно не шкідливих речовин ($LD_{50Subcut} >4500$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.4 Визначення токсичності та подразнювальної дії препарату БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролям (гостра дермальна токсичність).

Кроликам дослідних груп препарат БТФ ПЛЮС наносили на шкіру в дозах (за абсолютною масою): I групі — 750,0 мг/кг, II — 1500,0 мг/кг, III — 3000,0 мг/кг маси тіла, відповідно.

Тваринам контрольної групи за аналогічних умов наносили воду для ін'єкцій.

Встановлено, що після нанесення препарату БТФ ПЛЮС на шкіру кролів в дозах (750,0-3000,0) мг/кг маси тіла у тварин не спостерігали змін загального стану та апетиту, що свідчить про відсутність токсичного впливу препарату при одноразовому нанесенні на шкіру кролів. Слід також зазначити, що жодна з дослідних тварин не загинула впродовж експерименту.

У кролів протягом усього терміну дослідження (14 діб) не було виявлено еритеми, набряку шкіри, утворення кірочок та тріщин на шкірі, що свідчить про відсутність ознак дерматиту та подразливої дії на шкіру.

Отже, ветеринарний препарат БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролів у дозах від 750,0 до 3000,0 мг/кг маси тіла не проявляє подразнювальної дії, а за ступенем небезпечності його можна віднести до IV класу – малонебезпечних речовин ($DL_{50} > 2500,0$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.5. Визначення подразнювальної дії ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС на кролях.

Подразнювальну (шкідливу) дію препарату БТФ ПЛЮС на слизову оболонку ока досліджували на 3 кролях. У кон'юнктивальний мішок лівого ока тварин із піпетки закапували по 0,1 мл препарату. Для контролю в праве око тварині закапували по 0,1 мл води для ін'єкцій. Тварину фіксували, відтягували кут кон'юнктивального мішка і протягом 1 хв пальцем перетискали слізно-носовий канал. Після обробки через одну, 24, 48, 72, 96 год та до 14 діб проводили ретельний огляд очей. Подразнювальну дію препарату БТФ ПЛЮС визначали за наявністю (відсутністю) гіперемії кон'юнктиви, ін'єкцією кровоносних судин, станом склери, рогівки, повік і оцінювали за бальною системою, згідно таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Оцінка подразнювальної дії препарату БТФ ПЛЮС

А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	
1. Судини ін'єктовані	1 бал
2. Окремі судини погано видно	2 бали
3. Дифузне глибоке почервоніння	3 бали
Б. набряк повік	
1. Слабкий набряк	1 бал
2. Виражений 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
В. Виділення	
1. Мінімальна кількість в кутику ока	1 бал
2. Кількість виділень зволожує повіку	2 бали
3. Кількість виділень зволожує повіку та шкіру навколо	3 бали

Під час визначення подразнювальної дії ветеринарного препарату БТФ ПЛЮС на слизову оболонку ока кроликів були одержані наступні результати (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2.

Оцінка подразнювальної дії препарату БТФ ПЛЮС на слизову оболонку ока кролів, у балах

Подразнювальна дія	Термін досліджень, доба													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Оцінка подразнювальної (шкідливої) дії препарату на слизову оболонку ока першого кроля														
Гіперемія	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Виділення	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Оцінка подразнювальної (шкідливої) дії препарату на слизову оболонку ока другого кроля														
Гіперемія	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Виділення	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Оцінка подразнювальної (шкідливої) дії препарату на слизову оболонку ока третього кроля														
Гіперемія	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Набряк	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Виділення	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Після нанесення препарату БТФ ПЛЮС на слизову оболонку ока кролів (n=3) встановлено, що впродовж усього терміну спостережень він не викликав подразнювальної дії (таблиця 3.2), лише протягом першої доби після нанесення спостерігали ін'єкцію судин та помірні виділення, при цьому набряку повік не спостерігали.

Отже, дослідженнями встановлено, що препарат БТФ ПЛЮС не викликає подразнювальної дії на слизову оболонку ока кролів.

3.6. Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні).

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму, а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загально прийнятих методів.

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану щурів дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем.

Протягом всього терміну спостереження (18 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові подразники та подразники світла, у них дуже добре зберігалась рефлекторна збудливість; дефекації та сечовиділення, тяжке дихання не відмічали.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові щурів у динаміці нанесення на шкіру препарату БТФ ПЛЮС наведено в таблиці 3.3.

З результатів, наведених у таблиці 3.3, виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові дослідних щурів патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату БТФ ПЛЮС, у тварин не зареєстровано, навпаки, за введення препарату у всіх досліджуваних дозах спостерігали стимулюючий вплив на кровотворну систему. Так, уміст загального гемоглобіну за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг живої маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 12,9 і 16,8 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 14,1 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 12,2 і 19,1 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 14,8 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після

введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 13,1 і 19,8 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 14,6 %.

Таблиця 3.3.

Рівень гематологічних показників крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату БТФ ПЛЮС ($M \pm m$; $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм³				
Контроль	98,65±1,43	97,41±2,73	98,06±1,23	97,95±1,54
200,0 мг/кг	98,87±2,18	109,93±1,55*	114,58±2,18*	111,76±2,26*
1000,0 мг/кг	97,05±2,56	109,31±1,41*	116,83±1,54*	112,44±1,71*
2000,0 мг/кг	98,11±2,17	110,16±2,56*	117,47±2,35*	112,27±2,32*
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	38,44±0,83	38,44±0,85	38,26±0,73	38,83±0,76
200,0 мг/кг	38,53±0,70	39,29±0,90	39,21±0,81	39,05±0,78
1000,0 мг/кг	38,71±0,78	39,15±0,76	39,11±0,88	39,28±0,72
2000,0 мг/кг	38,57±0,84	39,92±0,82	39,19±0,72	39,22±0,80
Еритроцити (RBC), 10¹²/дм³				
Контроль	7,35±0,33	7,31±0,31	7,27±0,23	7,17±0,31
200,0 мг/кг	7,28±0,24	8,95±0,27*	9,03±0,28*	8,11±0,24*
1000,0 мг/кг	7,31±0,28	9,23±0,34*	9,16±0,24*	8,23±0,27*
2000,0 мг/кг	7,14±0,25	9,18±0,29*	9,94±0,37*	8,14±0,22*
Лейкоцити (WBC), 10⁹/дм³				
Контроль	9,20±0,30	9,21±0,34	9,18±0,21	9,17±0,26
200,0 мг/кг	9,17±0,25	8,23±0,38*	7,21±0,26*	7,15±0,30*
1000,0 мг/кг	9,16±0,28	8,17±0,24*	7,19±0,33*	7,18±0,27*
2000,0 мг/кг	9,12±0,40	7,98±0,35*	7,19±0,32*	7,12±0,34*

Рівень гематокриту протягом усього терміну досліджень мав тенденцію до підвищення у крові щурів усіх дослідних груп.

Аналогічно загальному гемоглобіну вірогідні зміни спостерігали і за кількістю еритроцитів у крові щурів. За введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість еритроцитів у

крові щурів перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 22,4 і 24,2 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 13,1 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника ($p < 0,05$) за кількістю еритроцитів становило 26,3 і 26,0 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне перевищення складало 14,8 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість еритроцитів була вищою за контроль ($p < 0,05$) на 25,6 і 36,7 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою на 13,5 %.

На відміну від вищевказаних показників кількість лейкоцитів у крові щурів, які отримували БТФ ПЛЮС, знижувалася протягом терміну досліджень. Так, за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість лейкоцитів у крові щурів була нижче за контроль ($p < 0,05$) на 10,6 і 21,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою за контроль на 22,0 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення зниження відносно контрольного показника ($p < 0,05$) за кількістю лейкоцитів становило 11,3 і 21,7 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне зниження залишалось на такому ж рівні. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість лейкоцитів була нижчою за контроль ($p < 0,05$) на 13,4 і 21,7 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою на 22,4 % (табл. 3.3).

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові щурів у динаміці підшкірного введення препарату БТФ ПЛЮС наведено в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4.

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату БТФ ПЛЮС ($M \pm m$; $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год \times см ³				
Контроль	3,17 \pm 0,10	3,19 \pm 0,11	3,23 \pm 0,16	3,21 \pm 0,15
200,0 мг/кг	3,20 \pm 0,10	3,23 \pm 0,12	3,26 \pm 0,15	3,19 \pm 0,11
1000,0 мг/кг	3,18 \pm 0,14	3,22 \pm 0,15	3,28 \pm 0,17	3,18 \pm 0,10
2000,0 мг/кг	3,22 \pm 0,12	3,24 \pm 0,14	3,29 \pm 0,09	3,22 \pm 0,17
Активність АСТ, мкмоль/год \times см ³				
Контроль	4,26 \pm 0,21	4,25 \pm 0,18	4,27 \pm 0,21	4,23 \pm 0,11
200,0 мг/кг	4,31 \pm 0,20	4,29 \pm 0,18	4,22 \pm 0,14	4,19 \pm 0,10
1000,0 мг/кг	4,27 \pm 0,18	4,27 \pm 0,14	4,26 \pm 0,14	4,17 \pm 0,08
2000,0 мг/кг	4,30 \pm 0,12	2,24 \pm 0,11	4,31 \pm 0,13	4,16 \pm 0,10
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	67,52 \pm 0,64	66,37 \pm 1,08	66,20 \pm 1,10	65,94 \pm 1,14
200,0 мг/кг	67,40 \pm 0,88	70,00\pm1,11*	72,40\pm0,82*	71,10\pm0,77*
1000,0 мг/кг	67,43 \pm 1,05	71,03\pm0,70*	71,15\pm0,95*	70,80\pm1,04*
2000,0 мг/кг	67,65 \pm 1,14	71,50\pm1,17*	71,11\pm0,83*	70,45\pm1,12*
Альбуміни, г/дм ³				
Контроль	34,91 \pm 1,12	34,80 \pm 1,13	34,82 \pm 1,03	34,05 \pm 0,98
200,0 мг/кг	34,70 \pm 0,87	37,12\pm0,82*	38,47\pm1,05*	37,25\pm0,64*
1000,0 мг/кг	34,98 \pm 1,10	36,73\pm0,73*	37,21\pm0,92*	36,23\pm0,62*
2000,0 мг/кг	34,64 \pm 0,82	36,90\pm1,02*	37,05\pm0,80*	36,12\pm0,73*
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	106,25 \pm 2,50	106,93 \pm 1,12	107,73 \pm 2,48	108,00 \pm 2,40
200,0 мг/кг	105,02 \pm 2,49	96,47\pm2,76*	92,31\pm1,25*	96,21\pm1,30*
1000,0 мг/кг	107,01 \pm 2,38	98,10\pm2,58*	93,58\pm2,75*	95,23\pm2,12*
2000,0 мг/кг	106,05 \pm 2,12	98,02\pm1,08*	93,50\pm2,05*	95,18\pm1,40*
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	6,05 \pm 0,15	6,10 \pm 0,17	6,12 \pm 0,13	6,11 \pm 0,16
200,0 мг/кг	6,11 \pm 0,14	6,68\pm0,14*	6,80\pm0,17*	6,73\pm0,17*
1000,0 мг/кг	6,07 \pm 0,11	6,79\pm0,16*	6,88\pm0,12*	6,79\pm0,10*
2000,0 мг/кг	6,11 \pm 0,10	6,83\pm0,10*	6,91\pm0,13*	6,81\pm0,14*

З даних таблиці 3.4 видно, що значення показників активності обох амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) в сироватці крові щурів, як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці підшкірного введення та через 7 діб після припинення введення препарату БТФ ПЛЮС у дозах 200,0; 1000,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла вірогідно не відрізнялися між собою, що свідчить про відсутність гепатотоксичної дії препарату.

Поряд із цим на усіх термінах досліджень та в сироватці крові щурів усіх дослідних груп спостерігали підвищення концентрації загальних протеїнів за рахунок альбумінової фракції, що є наслідком стимулювання препаратом обмінних процесів. Так, концентрація загальних протеїнів за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 5,5 і 9,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 7,8 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 7,0 і 7,5 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 7,4 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація загальних протеїнів перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 7,7 і 7,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 6,8 %.

При цьому концентрація альбумінів за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення препарату перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 6,7 і 10,5 %, а через 7 діб після припинення введення також залишалася вірогідно вищою за контроль на 9,4 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 5,5 і 6,9 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 6,4 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація альбумінів перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 6,0 і 6,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася

вірогідно вищою за контроль на 6,1 %.

Слід зазначити, що наслідком підвищення концентрації загальних протеїнів було підвищення в сироватці крові щурів усіх дослідних груп основного продукту переамінування протеїнів – сечовини. Концентрація сечовини за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення препарату перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 9,5 і 11,1 %, а через 7 діб після припинення введення також залишалася вірогідно вищою за контроль на 10,1 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 11,3 і 12,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 11,1 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація сечовини перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 12,0 і 12,9 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 11,5 %.

Поряд із цим концентрація креатиніну в сироватці крові щурів усіх дослідних груп знижувалася протягом періоду експерименту, що свідчить про відсутність нефротоксичної дії. Так, за введення препарату у терапевтичній дозі (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація креатиніну у крові щурів була нижче за контроль ($p < 0,05$) на 9,8 і 14,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою за контроль на 10,9 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення зниження відносно контрольного показника ($p < 0,05$) за концентрацією креатиніну становило 8,3 і 13,1 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне зниження залишалася на рівні 11,8 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація креатиніну була нижчою за контроль ($p < 0,05$) на 8,3 і 13,2 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою на 11,9 % (табл. 3.4).

Отже, можна зробити висновок, що підшкірне введення препарату БТФ

ПЛЮС в дозах (200,0-200,0) мг/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в їх організмі.

3.7. Визначення токсичності препарату БТФ ПЛЮС при повторних введеннях на собаках (підгостра токсичність при підшкірному введенні).

Під час дослідження загального клінічного стану собак дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем. Встановлено, що за введення препарату в терапевтичній дозі (200 мг/кг) не реєстрували змін інтегральних показників, а у дозах 1000,0 мг/кг та 2000 мг/кг маси тіла – змін рухової активності тварин. Протягом всього терміну спостереження (18 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість, порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали.

Результати дослідження гематологічних показників крові собак у динаміці експерименту наведено в таблиці 3.5. Під час визначення гематологічних показників крові дослідних собак патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату БТФ ПЛЮС, у тварин не зареєстровано, навпаки, за введення препарату у всіх досліджуваних дозах спостерігали стимулюючий вплив на кровотворну систему.

Так, уміст загального гемоглобіну за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 10,3 і 11,9 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 8,5 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 9,0 і 10,5 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 89,1 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищував контроль ($p < 0,05$) на 8,4 і 9,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишався вірогідно вищим за контроль на 7,9 %.

Таблиця 3.5.

Рівень гематологічних показників у периферичній крові собак за підгострого підшкірного введення препарату БТФ ПЛЮС ($M \pm m$; $n=5$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм ³				
Контроль	136,72±2,29	134,21±1,21	135,32±2,85	134,38±1,35
200,0 мг/кг	134,87±1,15	148,05±2,61*	151,41±1,44*	145,74±2,42*
1000,0 мг/кг	135,47±2,27	146,24±2,78*	149,52±2,82*	145,26±1,62*
2000,0 мг/кг	134,45±1,79	145,46±1,24*	147,85±1,26*	144,96±2,36*
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	47,10±0,77	48,99±0,82	48,41±0,82	48,24±0,81
200,0 мг/кг	47,02±0,84	49,54±0,76	49,54±0,85	49,21±0,75
1000,0 мг/кг	48,21±0,68	49,35±0,85	49,65±0,68	49,11±0,73
2000,0 мг/кг	48,79±0,95	49,21±0,79	49,74±0,87	49,46±0,82
Еритроцити (RBC), 10 ¹² /дм ³				
Контроль	6,23±0,14	6,09±0,15	5,96±0,18	6,01±0,18
200,0 мг/кг	6,03±0,16	6,61±0,13*	6,85±0,13*	6,64±0,14*
1000,0 мг/кг	6,08±0,15	6,67±0,18*	6,88±0,16*	6,53±0,15*
2000,0 мг/кг	6,11±0,17	6,71±0,12*	6,90±0,19*	6,59±0,11*
Лейкоцити (WBC), 10 ⁹ /дм ³				
Контроль	10,40±0,26	10,51±0,22	10,95±0,12	10,96±0,15
200,0 мг/кг	10,45±0,19	9,34±0,15*	9,19±0,24*	9,84±0,12*
1000,0 мг/кг	10,56±0,17	9,21±0,12*	9,11±0,18*	9,96±0,24*
2000,0 мг/кг	10,57±0,23	9,19±0,21*	9,13±0,22*	10,00±0,17*

Рівень гематокриту протягом усього терміну досліджень мав тенденцію до підвищення у крові собак усіх дослідних груп.

Аналогічно загальному гемоглобіну вірогідні зміни спостерігали і за кількістю еритроцитів у крові собак. За введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість еритроцитів у крові собак перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 8,5 і 14,9 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 10,5 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника

($p < 0,05$) за кількістю еритроцитів становило 9,5 і 15,4 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне перевищення складало 8,7 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість еритроцитів була вищою за контроль ($p < 0,05$) на 10,2 і 15,8 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою на 9,7 %.

На відміну від вищевказаних показників кількість лейкоцитів у крові собак, які отримували БТФ ПЛЮС, знижувалася протягом терміну досліджень. Так, за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість лейкоцитів у крові собак була нижче за контроль ($p < 0,05$) на 11,1 і 16,1 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою за контроль на 10,2 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення зниження відносно контрольного показника ($p < 0,05$) за кількістю лейкоцитів становило 12,4 і 16,8 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне зниження становило 9,1 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення кількість лейкоцитів була нижчою за контроль ($p < 0,05$) на 12,6 і 16,6%, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою на 8,8 % (табл. 3.5).

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові собак у динаміці підшкірного введення препарату наведено в таблиці 3.6.

З даних таблиці 3.6 видно, що значення показників активності обох амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) в сироватці крові собак, як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці підшкірного введення та через 7 діб після припинення введення препарату БТФ ПЛЮС у дозах 200,0; 1000,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла вірогідно не відрізнялися між собою, що свідчить про відсутність гепатотоксичної дії препарату.

Таблиця 3.6.

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові собак за підгострого підшкірного введення препарату БТФ ПЛЮС ($M \pm m$; $n=5$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год \times см ³				
Контроль	0,86 \pm 0,06	0,87 \pm 0,08	0,88 \pm 0,04	0,92 \pm 0,04
200,0 мг/кг	0,93 \pm 0,07	0,89 \pm 0,05	0,85 \pm 0,05	0,93 \pm 0,06
1000,0 мг/кг	0,92 \pm 0,05	0,87 \pm 0,05	0,89 \pm 0,06	0,91 \pm 0,04
2000,0 мг/кг	0,91 \pm 0,08	0,86 \pm 0,04	0,91 \pm 0,06	0,92 \pm 0,05
Активність АСТ, мкмоль/год \times см ³				
Контроль	1,30 \pm 0,13	1,33 \pm 0,07	1,30 \pm 0,16	1,28 \pm 0,15
200,0 мг/кг	1,28 \pm 0,12	1,32 \pm 0,12	1,29 \pm 0,20	1,28 \pm 0,18
1000,0 мг/кг	1,30 \pm 0,08	1,32 \pm 0,08	1,29 \pm 0,10	1,27 \pm 0,10
2000,0 мг/кг	1,29 \pm 0,10	1,30 \pm 0,09	1,33 \pm 0,20	1,31 \pm 0,10
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	65,13 \pm 0,72	65,08 \pm 0,69	65,16 \pm 0,72	64,40 \pm 0,92
200,0 мг/кг	64,69 \pm 0,90	69,64\pm0,88*	73,82\pm0,80*	70,20\pm0,73*
1000,0 мг/кг	65,05 \pm 0,84	70,27\pm1,03*	71,65\pm0,94*	69,80\pm0,68*
2000,0 мг/кг	64,91 \pm 1,11	70,85\pm0,75*	71,89\pm0,61*	69,63\pm0,81*
Альбуміни, г/дм ³				
Контроль	30,51 \pm 0,45	30,60 \pm 0,38	31,02 \pm 0,34	30,27 \pm 0,38
200,0 мг/кг	30,58 \pm 0,32	33,01\pm0,41*	35,25\pm0,43*	32,47\pm0,45*
1000,0 мг/кг	30,42 \pm 0,43	32,95\pm0,44*	34,58\pm0,38*	32,21\pm0,51*
2000,0 мг/кг	30,39 \pm 0,48	33,15\pm0,32*	34,29\pm0,36*	32,35\pm0,49*
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	67,20 \pm 1,64	67,66 \pm 1,15	67,75 \pm 1,45	68,00 \pm 1,35
200,0 мг/кг	67,17 \pm 1,36	62,12\pm1,24*	61,89\pm1,50*	62,01\pm1,42*
1000,0 мг/кг	68,83 \pm 1,44	61,93\pm1,30*	61,60\pm1,52*	62,26\pm0,94*
2000,0 мг/кг	68,05 \pm 1,30	61,82\pm0,93*	61,47\pm1,40*	62,42\pm1,86*
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	5,17 \pm 0,10	5,18 \pm 0,16	5,20 \pm 0,12	5,20 \pm 0,18
200,0 мг/кг	5,22 \pm 0,17	5,75\pm0,11*	5,81\pm0,13*	5,62\pm0,19*
1000,0 мг/кг	5,24 \pm 0,14	5,80\pm0,10*	5,89\pm0,15*	7,70\pm0,12*
2000,0 мг/кг	5,16 \pm 0,15	5,94\pm0,13*	6,01\pm0,10*	5,68\pm0,13*

Поряд із цим на усіх термінах досліджень та в сироватці крові собак усіх дослідних груп спостерігали підвищення концентрації загальних протеїнів за

рахунок альбумінової фракції, що є наслідком стимулювання препаратом обмінних процесів. Так, концентрація загальних протеїнів за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 7,0 і 13,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 9,0 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 8,0 і 10,0 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 8,4 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація загальних протеїнів перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 8,9 і 10,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 8,1 %.

При цьому концентрація альбумінів за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення препарату перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 7,9 і 13,6 %, а через 7 діб після припинення введення також залишалася вірогідно вищою за контроль на 7,3 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 7,7 і 11,5 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 6,4 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація альбумінів перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 8,3 і 10,5 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 6,9 %.

Слід зазначити, що наслідком підвищення концентрації загальних протеїнів було підвищення в сироватці крові собак усіх дослідних груп основного продукту переамінування протеїнів – сечовини. Концентрація сечовини за введення терапевтичної дози (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення препарату перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 11,0 і 11,7 %, а через 7 діб після припинення введення також залишалася вірогідно вищою за

контроль на 8,1 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення перевищення контрольного показника складало ($p < 0,05$) 12,0 і 13,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату – 9,6 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація сечовини перевищувала контроль ($p < 0,05$) на 14,7 і 15,6 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно вищою за контроль на 9,2 %.

Поряд із цим концентрація креатиніну в сироватці крові собак усіх дослідних груп знижувалася протягом періоду експерименту, що свідчить про відсутність нефротоксичної дії. Так, за введення препарату у терапевтичній дозі (200,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація креатиніну у крові собак була нижче за контроль ($p < 0,05$) на 8,2 і 8,6 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою за контроль на 8,8 %. За введення препарату у п'ятикратній дозі (1000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення зниження відносно контрольного показника ($p < 0,05$) за концентрацією креатиніну становило 8,5 і 9,1 %, а через 7 діб після припинення введення препарату вірогідне зниження залишалось на рівні 8,4 %. За введення препарату у десятикратній дозі (2000,0 мг/кг маси тіла) через 5 і 10 діб після введення концентрація креатиніну була нижчою за контроль ($p < 0,05$) на 8,6 і 9,3 %, а через 7 діб після припинення введення препарату також залишалася вірогідно нижчою на 8,2 % (табл. 3.6).

Отже, можна зробити висновок, що підшкірне введення препарату БТФ ПЛЮС в дозах (200,0-200,0) мг/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм цільових тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в їх організмі.

3.8. Визначення толерантності мурчаків щодо препарату БТФ ПЛЮС

Результати дослідження визначення толерантності щодо препарату БТФ ПЛЮС наведено у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7.

Результати вивчення толерантності мурчаків щодо препарату БТФ ПЛЮС

№ п/ч	Доза введення, мг/кг маси тіла	Кількість тварин	Наявність клінічних ознак отруєння	Загибель мурчаків
1	5000,0	5	-	0
2	7500,0	5	-	0
3	10000,0	5	-	0
4	12500,0	5	-	0
5	15000,0	5	-	0
6	0 (контроль)	5	-	0

Препарат БТФ ПЛЮС не чинив негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах від 5000,0 до 15000,0 мг/кг маси тіла відповідно: тварини були рухливими, адекватно реагували на зовнішні подразники, добре споживали корм та воду, припухлості та болючості в ділянці введення препарату не спостерігали.

Отже, препарат БТФ ПЛЮС не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (5000,0-15000,0) мг/кг маси тіла.

3.9 Визначення ембріотоксичності, мутагенності та тератогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих щурах

Установлено, що за весь період вагітності в самок щурів контрольної та дослідних груп препарат БТФ ПЛЮС не впливав на загальний клінічний стан тварин. Споживання корму й води, поведінкові реакції відповідали загальним показникам фізіологічної норми. Протягом усього періоду вагітності не було встановлено відмінностей у динаміці маси тіла щурів у дослідних групах, порівняно з інтактним контролем (таблиця 3.8).

Таблиця 3.8.

Динаміка маси тіла самок щурів протягом вагітності при вивченні ембріотоксичної, мутагенної та тератогенної дії препарату БТФ ПЛЮС ($M \pm m$; $n=90$)

Група	Доба введення	Термін спостереження / доба / маса тіла щурів, г				
		1 доба	5 доба	12 доба	16 доба	20 доба
Контроль	1-6	228,3±2,35	232,1±2,27	294,7±1,46	332,9±1,17	338,9±1,27
	6-16	229,7±1,63	234,7±1,12	296,4±2,24	334,4±2,45	339,5±2,12
	16-20	228,1±2,53	232,5±2,21	295,2±2,85	333,2±1,92	338,0±2,34
I Дослід 200,0 мг/кг	1-6	226,7±1,23	235,2±2,13	295,5±2,38	334,8±2,71	339,4±2,15
	6-16	228,2±2,81	232,7±2,27	296,3±2,14	330,2±1,25	336,5±1,39
	16-20	227,6±2,44	233,2±1,38	294,4±2,06	336,4±2,13	341,7±2,34
II Дослід 2000,0 мг/кг	1-6	226,7±2,62	230,6±2,21	296,8±1,24	334,6±1,44	339,6±2,15
	6-16	229,4±2,76	234,4±1,12	296,1±1,71	336,5±2,26	341,4±2,73
	16-20	229,2±1,29	234,7±2,46	295,5±2,57	332,1±1,19	338,7±1,11

Не виявляли тератогенної дії на ембріони, а маса плаценти, плодів та їх краніо-каудальний розмір були на рівні контрольної групи (таблиця 3.9).

Отже, препарат БТФ ПЛЮС (розчин для ін'єкцій) за умов підшкірного введення вагітним самкам щурів у дозах 200,0 (терапевтична) та 2000,0 мг/кг (десятикратна) маси тіла не викликає загибелі та патологічних змін ембріонів, не чинить ушкодження зиготи чи ембріона та виникнення вад розвитку його внутрішніх органів і центральної НС.

Таблиця 3.9.

Показники тератогенності та ембріотоксичності препарату БТФ ПЛЮС після підшкірного введення вагітним самкам щурів (M±m; n=90)

Показники	Результати експериментальних дослідження								
	Контроль			І група (200,0 мг/кг), доба введення			ІІ група (200,0 мг/кг), доба введення		
	1-6	6-16	16-20	1-6	6-16	16-20	1-6	6-16	16-20
Кількість вагітних самок	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Кількість жовтих тіл	10,50±0,37	10,30±0,37	10,20±0,36	10,60±0,52	11,10±0,31	11,20±0,57	10,70±0,26	10,00±0,37	10,30±0,37
Кількість живих плодів	9,50±0,37	9,30±0,30	9,30±0,34	9,70±0,45	10,20±0,39	10,10±0,58	9,70±0,26	9,00±0,33	9,30±0,21
Кількість мертвих та резорбованих	0,10±0,10	0,10±0,10	0,20±0,13	0,10±0,10	0,10±0,10	0,10±0,10	0,10±0,10	0,10±0,10	0,10±0,10
Загальна ембріональна смертність, %	9,64±0,38	9,49±1,38	8,81±1,04	8,12±2,14	8,21±1,64	9,98±0,88	9,39±0,22	9,89±1,53	9,24±2,02
Доімплантаційна смертність (%)	10,48±0,77	10,40±1,63	10,81±1,84	8,89±2,26	9,21±2,03	11,09±1,51	10,30±0,90	10,89±2,36	10,24±2,29
Післяімплантаційна смертність (%)	0,83±0,51	0,91±0,56	2,00±0,82	0,77±0,47	1,00±0,61	1,11±0,68	0,91±0,56	1,11±0,68	1,00±0,61
Маса плода (г)	2,77±0,039	2,81±0,058	2,78±0,063	2,83±0,024	2,88±0,032	2,82±0,029	2,78±0,038	2,79±0,039	2,81±0,032
Краніо-каудальний розмір (мм)	31,62±0,30	31,46±0,31	31,45±0,34	31,52±0,34	31,55±0,40	31,48±0,32	31,38±0,44	31,48±0,45	31,40±0,45
Маса плаценти (г)	0,50±0,013	0,49±0,022	0,49±0,013	0,50±0,015	0,50±0,020	0,49±0,019	0,50±0,019	0,50±0,020	0,49±0,010
Зовнішній огляд плодів									
кількість обстежених плодів, з них з аномал. р-ку (абс.; %)	96 (0; 0)	94 (0; 0)	95 (0; 0)	98 (0; 0)	103 (0; 0)	102 (0; 0)	98 (0; 0)	91 (0; 0)	94 (0; 0)
Стан кістяка									
кількість обстежених плодів, з них з аномал. р-ку (абс.; %)	48 (0;0)	47 (0;0)	47 (0;0)	49 (0;0)	51 (0;0)	51 (0;0)	49 (0;0)	45 (0;0)	47 (0;0)
Стан внутрішніх органів									
кількість обстежених плодів, з них з аномал. р-ку (абс.; %)	96 (0; 0)	94 (0; 0)	95 (0; 0)	98 (0; 0)	103 (0; 0)	102 (0; 0)	98 (0; 0)	91 (0; 0)	94 (0; 0)

3.10 Визначення канцерогенності препарату БТФ ПЛЮС на білих мишах.

Встановлено (таблиця 3.10), що у мишей з групи негативного контролю, яким підшкірно вводили воду для ін'єкцій, частка поліхроматофільних еритроцитів становила 0,1-0,117 %, що входило в межу норми. У мишей з групи позитивного контролю, що отримували циклофосфамід в дозі 20 мг/кг маси тіла, частка поліхроматофільних еритроцитів становила 0,667-0,717 %.

Таблиця 3.10.

Результати оцінки цитогенетичної активності препарату БТФ ПЛЮС у тесті на індукцію мікроядер в клітинах кісткового мозку ссавців

Група (препарат, доза)	№ миші	Кількість ПХЕ з мікроядрами на 1000 ПХЕ		Частка ПХЕ від всіх еритроцитів, %
		На кожну мишу	На групу вцілому	
1	2	3	4	5
Перша серія експерименту (одноразове введення)				
Миші-самці, негативний контроль (вода для ін'єкцій)	1	0	1,00±0,63	0,1
	2	1		
	3	1		
	4	2		
	5	1		
	6	1		
Миші-самці, позитивний контроль (циклофосфамід в дозі 20 мг/кг маси тіла)	1	7	6,67±1,63	0,667
	2	8		
	3	5		
	4	9		
	5	6		
	6	5		
Миші-самці, БТФ ПЛЮС, 200,0 мг/кг маси тіла	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	2		
	4	1		
	5	1		
	6	1		

1	2	3	4	5
Миші-самці, БТФ ПЛЮС, 2000,0 мг/кг маси тіла	1	2	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	1		
Друга серія експерименту (підшкірне введення протягом 5 діб)				
Миші-самці, негативний контроль (вода для ін'єкцій)	1	2	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	1		
Миші-самці, позитивний контроль (циклофосфамід в дозі 20 мг/кг маси тіла)	1	7	6,83±1,33	0,683
	2	7		
	3	7		
	4	9		
	5	6		
	6	5		
Миші-самці, БТФ ПЛЮС, 200,0 мг/кг маси тіла	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	2		
Миші-самці, БТФ ПЛЮС, 2000,0 мг/кг маси тіла	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	2		
	5	1		
	6	1		
1	2	3	4	5
Миші-самки, негативний контроль (вода для ін'єкцій)	1	1	1,00±0,63	0,100
	2	0		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	2		

1	2	3	4	5
Миші-самки, позитивний контроль (циклофосфамід у дозі 20 мг/кг маси тіла)	1	7	7,17±1,60	0,717
	2	9		
	3	7		
	4	9		
	5	6		
	6	5		
Миші-самки, БТФ ПЛЮС, 200,0 мг/кг маси тіла	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	2		
Миші-самки, БТФ ПЛЮС, 2000,0 мг/кг маси тіла	1	2	1,33±0,52	0,133
	2	2		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	1		

У мишей обох статей, яким протягом 5 діб підшкірно вводили БТФ ПЛЮС у терапевтичній дозі (200,0 мг/кг маси тіла) та десятикратній (2000,0 мг/кг маси тіла) частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила 0,117-0,133 %, що входило в межу норми.

Отже, препарат БТФ ПЛЮС за умов 5-добового підшкірного введення в дозах 200,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила 0,117-0,133 %, що входило в межу норми 0,2 %).

ВИСНОВКИ

1. За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС у разі одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам-самкам LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг маси тіла).

2. За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату БТФ ПЛЮС у разі одноразового підшкірного введення білим щурам-самкам і мишам-самцям LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14 діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 20000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла для обох видів тварин відповідно, що дозволяє віднести його до VI класу – відносно нешкідливих речовин ($LD_{50Subcut} > 4500$ мг/кг маси тіла).

3. Ветеринарний препарат БТФ ПЛЮС при нанесенні на шкіру кролів у дозах (за абсолютною масою препарату) від 750,0 до 3000,0 мг/кг маси тіла не проявляє подразнювальної дії, а за ступенем небезпечності його можна віднести до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50Percut} > 2500,0$ мг/кг маси тіла).

4. Препарат БТФ ПЛЮС не викликає подразнювальної (шкідливої) дії на слизову оболонку ока кроликів, про що свідчить відсутність набряку повік протягом усього терміну спостереження, ін'єкція судин та помірні виділення з ока тварин лише протягом першої доби після нанесення.

5. При підшкірному введенні щурам препарат БТФ ПЛЮС за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах (за абсолютною масою

препарату) 200,0; 1000,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в їх організмі.

6. Підшкірне введення собакам препарату БТФ ПЛЮС у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0; 1000,0 і 2000 мг/кг маси тіла протягом 10-ти днів не спричинює гепато- та нефротоксичної дії на організм за умов підгострого токсикологічного експерименту, а навпаки, стимулює процеси кровотворення та позитивно впливає на обмінні процеси в організмі цільових тварин.

7. Досліджено толерантність мурчаків щодо препарату БТФ ПЛЮС. Установлено, що препарат не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (за абсолютною масою препарату) (5000,0-15000,0) мг/кг маси тіла.

8. Препарат БТФ ПЛЮС за умов підшкірного введення вагітним щурам-самкам у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0 та 2000,0 мг/кг маси тіла не викликає загибелі та патологічних змін ембріонів, не чинить ембріотоксичної та тератогенної дії оскільки показники загальної, постімплантаційно та передімплантаційної ембріональної летальності у лабораторних тварин не мали вірогідних відмінностей, у порівнянні з показниками у групі контролю, а також не виявляли змін відносно маси плаценти, плодів та їх краніо-каудального розміру.

9. Препарат БТФ ПЛЮС за умов 5-добового підшкірного введення білим мишам у дозах (за абсолютною масою препарату) 200,0 і 2000,0 мг/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила 0,117-0,133 %, що входить в межу норми до 0,2 %).

10. За результатами проведених досліджень встановлено, що препарат БТФ ПЛЮС за показниками токсичності має всі мотиви виходу фармацевтичної фірми «ДЕВІЕ» на міжнародний ринок. Завдяки цьому

фармацевтичне підприємство може, після відповідної реєстрації лікарського препарату у країнах ЄС, починати експортувати даний продукт.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пашков В. М. Правове регулювання обігу лікарських Засобів / В. М. Пашков. Морион, 2004. 160 с.
2. Про лікарські засоби : Закон України від 04.04.1996 р. № 123/Р6 // Відомості Верховної Ради України. № 22. С. 86.
3. Таможенное право: учебник / [Отв. ред. А. Ф. НоЗдрачев]. М.: Юристь, 576 с.
4. Про Затвердження порядку ввезення на територію України незареєстрованих лікарських засобів, стандартних зразків, реагентів: Наказ Міністерства охорони Здоров'я України від 26.04.2011 № 237. Офіційний вісник України. 2011.№ 63. С. 2508. С. 24.
5. Митний кодекс України. Відомості Верховної Ради України. 2002. № 38. С. 288.
6. Шишка Р. Б. Митне право України: [навчальний посібник] / Р. Б. Шишка, В. В. Сергієнко. Харків: Еспада, 2002. 26 с.
7. Про перелік документів, необхідних для Здійснення митного контролю та митного оформлення товарів і транспортних Засобів, що переміщуються через митний кордон України : Постанова Кабінету Міністрів України від 01.02.2006 р. № 80. Офіційний вісник України. 2006. № 5. С. 222.
8. Про перелік документів, що видаються державними органами та Застосовуються митними органами при Здійсненні митного контролю та митного оформлення товарів: Лист Держмитслужби від 27.12.2010 р.
9. № 11/3-10.18/16PP0-ЕП // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?code=v6PP0342-10>
10. Основи митної справи в Україні: навчальний посібник / [В. А. Аргунов, С. М. Березний, В. В. Бичков та ін.]; під ред. П. В. Пашка. Знання, 2004. 732 с.
11. Про Затвердження Технологічної схеми роботи відділу номенклатури та класифікації товарів при взаємодії з оперативними підрозділами Київської

регіональної митниці: Наказ Держмитслужби, Київської регіональної митниці від 31.12.2003 р. № 1517 // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?code=v1517483-03>

12. Про Затвердження Концепції створення, упровадження і розвитку системи аналізу та керування ризиками та Положення про систему аналізу й селекції факторів ризику при визначенні окремих форм митного контролю : Наказ Державної митної служби України від 27.05.2005 р. № 435 // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1025.P023.0>

13. Горбатенко А. Правові наслідки митного кодування ліків: справляння державного мита, умови імпорту / А. Горбатенко, Л. Шиловський // Щотижневик Аптек. 2011. №18 (78Р). С.10-11.

14. Про Митний тариф України : Закон України від 05.04.2001 р. № 2371-III //Офіційний вісник України. 2001. № 18. Т. 1. С. 781. С. 24.

15. Про Затвердження Переліку товарів групи ризикук та групи прикриття: Наказ Держмитслужби України, Рівненської митниці від 8 квітня 2011 р. № 135 // [Електронний ресурс]. Режим доступу:[http:// www.qdpro.com.ua/qdw/php/common/disarchie/getdoc.php?isnvalue=46651](http://www.qdpro.com.ua/qdw/php/common/disarchie/getdoc.php?isnvalue=46651).

16. Про Порядок Застосування спеціальних Заходів при митному оформленні товарів групи ризику

17. Наказ Державної митної служби, Івано-франківської митниці від 2Р.07.2004 № 2Р7 // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1025.8155.0>

18. Щодо роз'яснення листа Державної митної служби України від 02.06.2004 р. № 25/3-45/7024- ЕП : Лист Державної митної служби України від 28.04.2006 № 2Р/1-11.2/3043-ЕП // [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://zakon.nau.ua/doc/?doc_id=230731

19. Щодо моніторингу та аналізу митних оформлень товарів та предметів, які переміщуються через митний кордон України та віднесені до товарів групи ризику щодо Заниження їх митної вартості: Лист Державної митної служби від

12.0P.2008 № 16/1-1484-EP // [Електронний ресурс]. Режим доступу:<http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1025.15035.0>

20. Про Порядок Застосування спеціальних Заходів при митному оформленні товарів групи ризику

21. Наказ Західної регіональної митниці від 30.06.2004 № 275 // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?code=v-275483-04>

22. Перелік товарів груп ризику та прикриття, що підлягають обов'язковому експертно-дослідному супроводженню : Розпорядження Держмитслужби України, Харківської обласної митниці від 14.12.2010 р. // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.qdpro.com.ua/qdw/php/common/disarchieve/getdoc.php?isnvalue=46427>

23. Про посилення контролю за визначенням митної вартості товарів при Здійсненні митного оформлення товарів у Дніпропетровській митниці: Наказ Державної митної служби, Дніпропетровської митниці від 1P.06.2007 № 310. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1025.12823.0>.

24. Про посилення контролю за правильністю класифікації товарів при здійсненні митного оформлення у Запорізькій митниці: Наказ Держмитслужби, Запорізької митниці від 21 лютого 2011 року № 10P // [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.qdpro.com.ua/qdw/php/common/disarchieve/getdoc.php?Isnvalue=46507>

25. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. Львів : Тріада плюс, 2005. С. 134–147.

26. Западнюк І. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа. 1983. 383 с.

27. Каркищенко Н. Н., Грачев С. В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль – 2С, 2010. 358 с.

28. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p..

29. Стаття 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

30. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. 1986. P. 1-29.

31. Жаров А. В., Иванов И. В., Стрельников А. П. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных. М.: Колос, 2003. 400 с.

32. Дыбан А. П. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию / А. П. Дыбан, В. Ф. Пучков, Н. А. Чеботарь и др. М.: МЗ СССР, 1986. С. 21.

33. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

34. Оценка мутагенной активности химических веществ микроядерным методом (методические рекомендации). М., 1984. 17 с.