

**УКРАЇНЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

УДК 619:615.9:632.95:636.085

КУЦАН ОЛЕКСАНДР ТИХОНОВИЧ

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ТА РОЗРОБКА ТОКСИКО-ГІГІЄНИЧНИХ РЕГЛАМЕНТІВ
ІНТЕГРОВАННИХ ПЕСТИЦИДІВ І ЇХ КОМБІНАЦІЙ
З ФОСФОРОРГАНІЧНИМИ СПОЛУКАМИ
В КОРМАХ ДЛЯ ТВАРИН**

16.00.04 – ветеринарна фармакологія та токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора ветеринарних наук

Харків - 2005

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини (ІЕКВМ) Української академії аграрних наук.

Науковий консультант – доктор ветеринарних наук, професор, академік УААН

Малинін Олег Олексійович, Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, заступник директора з наукової роботи.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Малик Остап Григорович**, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, головний науковий співробітник лабораторії фармакології та токсикології;

доктор ветеринарних наук, професор **Гуфрій Дмитро Федорович**, Львівська національна академія ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького, завідувач кафедри фармакології та токсикології;

доктор ветеринарних наук, професор **Якубчак Ольга Миколаївна**, Національний аграрний університет Кабінету Міністрів України, завідувач кафедри ветеринарно-санітарної експертизи і гігієни переробки продуктів тваринництва.

Провідна установа – Білоцерківський державний аграрний університет Міністерства аграрної політики України, кафедра внутрішніх хвороб і клінічної діагностики, м. Біла Церква.

Захист відбудеться "25" жовтня 2005 року о 9³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

Автореферат розісланий "21" вересня 2005 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор ветеринарних наук, професор

Бабкін А.Ф.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Пестициди як глобальні забруднювачі навколишнього середовища продовжують залишатись у центрі уваги спеціалістів різного профілю, включаючи токсикологів, гігієністів і екологів. Хімізація сільськогосподарського виробництва, впровадження в аграрні технології хімічних засобів захисту рослин – гарантія високої продуктивності сільського господарства (Трахтенберг И.М., 2000; Проданчук Н.Г., Спыну Е.И., 2000; Каган Ю.С., 1981; Малинин О.А., Хмельницкий Г.А., Куцан А.Т., 2002).

Характерною особливістю сільськогосподарського виробництва є тенденція до широкого використання хімічних засобів захисту рослин. Асортимент хімічних сполук, що використовують у рільництві, тваринництві і побуті постійно зростає. В Україні (станом на 2001 рік) використовувалось 268 найменувань пестицидів, а їх тоннаж у формі препаратів досягав 36 тисяч тонн і застосовувались вони на 40 млн. га сільськогосподарських угідь. Багато згаданих вище речовин використовується і в тваринництві при лікуванні тварин від ектопаразитів. Сьогодні без пестицидів не обходиться практично ні одне господарство до якої б форми власності воно не належало (Проданчук Н.Г., Спыну Е.И., 2000; Проданчук М.Г., Великий В.І., Кучак Ю.А., 2000).

Через високу біологічну активність, широке розповсюдження, цілеспрямоване застосування в різних галузях господарства та побуті пестициди створюють вірогідним забруднення практично всіх об'єктів навколишнього середовища. У зв'язку з цим потрібні дослідження токсикодинаміки пестицидів, кількісних критеріїв шкідливості та гігієнічної регламентації. Після використання пестицидів необхідно забезпечити належну систему профілактичних заходів щодо можливих інтоксикацій тварин і людей. Обов'язковою умовою використання пестицидів є забезпечення безпеки, своєчасна токсикологічна оцінка, встановлення нешкідливих параметрів їх вмісту в об'єктах навколишнього середовища, включаючи корми для сільськогосподарських тварин (Шуляк В.Г., 1998; Гуфрій Д.Ф., Гунчак В.М., Коцюмбас І.Я., Канюка О.І., Скорохід В.Й., Масюк Д.М., 2004).

Проблема охорони навколишнього середовища пов'язана з питанням розробки та впровадження системи моніторингу за наявністю токсичних сполук у кормах і продуктах тваринного походження. У тваринництві одним із основних показників рівня безпеки є максимально допустимі рівні (МДР) залишкових кількостей пестицидів у кормах. МДР повинні гарантувати не тільки виникнення хронічних отруєнь, забруднення залишками пестицидів навколишнього середовища та продуктів тваринного походження, а й відсутність можливої канцерогенної, мутагенної та ембріотоксичної дії (Проданчук Н.Г., Спыну Е.И., 2000; Горжеєв В.М., 2002; Якубчак О.М., Хоменко В.І., Мельничук С.Д., Ткачук С.А., 2003).

Однак, цілий спектр проблем санітарно-токсикологічної оцінки пестицидів залишається ще не вирішеним. Це перед усім стосується своєчасної токсикологічної і ветеринарно-санітарної оцінки пестицидів, особливо комбінованих токсикантів та речовин збагачених різноманітними активними ізомерами. Насамперед повстає питання постійного доопрацювання методичного рівня досліджень, щодо обґрунтування ГДК, МДР, методик визначення токсичних речовин у продуктах рослинного та тваринного походження, особливо групових, специфічних методик, які дають

можливість визначати в пробі наявність цілої групи хімічних речовин. Вимоги щодо чутливості і специфічності методик, які використовуються, постійно зростають і тому багато з них вже не задовольняють працівників науки та практики. Перш за все, складні питання виникають після виявлення прихованої токсичної дії за багаторазового впливу малої кількості отрути.

Отже, перед токсикологією у ветеринарній медицині насамперед стоїть глобальне завдання щодо всебічної оцінки реальної і потенційної небезпеки пестицидів за показниками їх токсичності для тварин, вивчення особливостей накопичення залишкової кількості цих токсикантів у кормах і продукції тваринного походження, розробки заходів профілактики, які б дали можливість захистити люду від шкідливого впливу хімічних ксенобіотиків, що створені самою ж людиною. Властиво це становить актуальність проведення досліджень і має велике теоретичне і практичне значення для ветеринарної медицини, зокрема токсикології.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Представлена дисертаційна робота є окремим розділом державних тем Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини Української академії аграрних наук – Завдання 10: „Провести дослідження по створенню нових хіміко-фармацевтичних лікарських засобів, антибіотиків, фітопрепаратів і профілактики токсикозів”, номер державної реєстрації 0197 U 000763 (1996-2000pp.) і Завдання 11: „Розробити методи визначення і засоби профілактики впливу негативних факторів зовнішнього середовища на організм сільськогосподарських тварин з метою одержання екологічно безпечних продуктів тваринництва”, номер державної реєстрації 0101 U 001617 (2001-2005 pp.).

Мета і задачі досліджень. Метою досліджень було теоретично обґрунтувати та експериментально розробити максимально допустимі рівні піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в кормах для сільськогосподарських тварин, з'ясувати окремі питання токсикологічної і ветеринарно-санітарної оцінки цих пестицидів, розробити методики їх визначення в кормах і об'єктах тваринного походження, впровадити в практику ветеринарної медицини санітарно-гігієнічні нормативи і рекомендації щодо профілактики забруднень продукції тваринництва залишковими кількостями пестицидів та забезпечити відсутність їх шкідливого впливу на людей і сільськогосподарських тварин.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі і розробити:

- уніфіковану методику визначення групи піретроїдів (циперметрин, лямбда-цигалотрин, дельтаметрин і інші) в кормах та об'єктах тваринного походження способом газорідинної хроматографії;
- методику визначення піретроїду ф'юрі (зетациперметрин) в об'єктах тваринного походження способом газорідинної хроматографії;
- методику визначення комбінованого пестициду нурелу-Д (хлорпірифос+циперметрин) в об'єктах тваринного походження способом газорідинної хроматографії;
- експериментально визначити валідаційні характеристики всіх розроблених методик згідно з вимогами стандарту „ISO 17025” і європейської „інструкції EC 657/2002”;
- встановити основні закономірності токсикокінетики і строки виділення активних інгредієнтів піретроїду ф'юрі та комбінованого пестициду нурелу-Д з організму тварин;
- вивчити ступінь токсичності, окремі питання токсикодинаміки за розвитку гострих і

хронічних експериментальних отруєнь тварин піретроїдом ф'юрі і комбінованим пестицидом нурелом-Д;

- теоретично і експериментально обґрунтувати МДР піретроїду ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д у кормах для сільськогосподарських тварин.

Об'єкт дослідження: проблема забруднення об'єктів тваринного походження пестицидами, гострі та хронічні пестицидні токсикози, МДР піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками у кормах для тварин.

Предмет дослідження: експериментально-теоретичне обґрунтування та розробка методик визначення пестицидів у кормах і об'єктах тваринного походження, вплив різних доз піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками на організм тварин, токсикокінетика і токсикодинаміка піретроїду ф'юрі і нурелу-Д в організмі тварин, розробка параметрів токсико-гігієнічного регламентування пестицидів у кормах для тварин.

Методи досліджень: для досягнення мети і вирішення поставлених задач були використані хіміко-аналітичні методи ідентифікації токсичних речовин (тонкошарова і газорідина хроматографія), клінічні, токсикологічні, фармакологічні, біохімічні дослідження крові й органів та статистично-математичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше теоретично обґрунтовано та вирішено методичні питання визначення пестицидів в об'єктах тваринного походження, яке дозволило їх використати при розробці методик. Аргументовано покращені методичні прийоми екстракції і очищення проб від коекстрактивних речовин, які дали можливість розробити саме нові методики визначення як окремих піретроїдних пестицидів, так і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в кормах і об'єктах тваринного походження. Новизна та актуальність цих розробок підтверджена наступними патентами:

- „Спосіб визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів у біологічних об'єктах” (патент України 66709 А G 01N33/02, № 2003109160 від 10.10.2003 р.);
- „Спосіб визначення зетациперметрину в біологічних об'єктах” (патент України 66568 А G 01N33/02, №2003077014 від 25.07.2003 р.);
- „Спосіб визначення нурелу-Д в біологічних об'єктах” (патент України 57249 А G 01N33/02, №2002054266 від 24.05.2002 р.).

Одержані нові дані про вплив піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками на вуглеводно-енергетичний обмін в організмі курей. Виявлені інтегральні показники характеру дії як гострого, так і хронічного отруєння тварин препаратами у відносно малих дозах, які можуть реально траплятись у кормах при забрудненні їх у процесі сільськогосподарського виробництва. В комплексній оцінці шкідливого впливу пестицидів, як хімічних контамінантів, визначена важлива роль деяких біохімічних показників, особливо швидкості ферментативних реакцій тканин внутрішніх органів.

Проведені усесторонні комплексні експериментально-токсикологічні дослідження на лабораторних і сільськогосподарських тваринах, що дало змогу глибоко розкрити питання патогенезу, розподілу, накопичення, метаболізму і виведення піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками з організму тварин. Проведені всебічні дослідження дали змогу

вперше в Україні обґрунтувати токсикологічну і ветеринарно-санітарну оцінку піретроїдного пестициду ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д та розробити їх МДР у кормах для сільськогосподарських тварин, що має теоретичне, науково-прикладне та соціальне значення.

Практичне значення одержаних результатів. Практична цінність роботи визначається розробленими методиками визначення пестицидів у біологічних об'єктах. Розроблені методики пройшли апробацію та затверджені як методичні вказівки для проведення токсикологічних досліджень у хіміко-токсикологічних відділах лабораторій ветеринарної медицини України та інших установах що здійснюють визначення залишкових кількостей пестицидів у кормах і об'єктах тваринного походження.

На підставі виконаних експериментів встановлена токсикологічна характеристика піретроїду ф'юрі та комбінованого пестициду нурелу-Д, дана ветеринарно-санітарна оцінка кормів і продуктів тваринництва, які одержують при використанні цих пестицидів. За результатами проведених досліджень обґрунтовані і впроваджені у практику нормативно-правові документи – максимально допустимі рівні (МДР) піретроїду ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д у кормах.

Матеріали досліджень увійшли до:

- навчального посібника „Ветеринарна токсикологія” (2002), рекомендованого Міністерством освіти і науки України для студентів вищих навчальних закладів, протокол № 966 від 16.06.2002 року.

За матеріалами досліджень розроблені наступні методичні рекомендації:

- „Методичні вказівки щодо одночасного групового визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів в кормах і тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газової та тонкошарової хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол № 15-14/188 від 05.05.2003 року;

- „Методичні вказівки щодо визначення зетаціперметрину (ф'юрі) в тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газорідної хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 86 від 18.11.2003 року;

- „Методичні вказівки щодо визначення нурелу-Д в тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) за допомогою газової хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол №15-14/298 від 07.06.2002 року;

- „Методичні вказівки щодо діагностики, профілактики і лікування тварин при отруєнні комбінованим піретроїдним пестицидом (нурел-Д)”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 59 від 25.05.2004 року;

- „Максимально допустимі рівні (МДР) комбінованого піретроїдного пестициду нурелу-Д в кормах для сільськогосподарських тварин”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 90 від 27.07.2004 року;

- „Максимально допустимі рівні піретроїду ф'юрі (зетациперметрин) в кормах для сільськогосподарських тварин”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 33 від 19 квітня 2005 року;
- „Методичні вказівки щодо діагностики, профілактики і лікуванню тварин при отруєнні піретроїдом ф'юрі (зетациперметрин)”. Розглянуті і ухвалені на засіданні методичної комісії ІЕКВМ УААН (протокол №1 від 16.03.2005р.) та направлені для розгляду в Державний департамент ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно виконав, проаналізував та узагальнив увесь обсяг експериментальних досліджень, включаючи формулювання мети, основних етапів досліджень, пошук та аналіз літератури, організацію дослідів і проведення всіх видів досліджень, включаючи інтерпретацію одержаних результатів та викладення висновків.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на щорічних наукових звітах і засіданнях Вченої ради Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини і отримали схвалення (м. Харків) у 1999-2004 рр.; Науково-технічної ради при Державному департаменті ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України протягом 2000-2004 рр. Розробки і методичні вказівки розглядалися і пропонувалися до впровадження на щорічних Всеукраїнських семінарах із завідувачами хіміко-токсикологічних відділів обласних державних лабораторій ветеринарної медицини у 2002 р. (м. Дніпропетровськ), 2003 р. (м. Миколаїв), 2004 р. (м. Київ). За результатами досліджень виголошені доповіді, які отримали загальне схвалення на: Міжнародній науковій конференції „ІЕКВМ – 80 років на передовому рубежі ветеринарної науки” (м. Харків, 2002); Міжнародній науково-практичній конференції з ветеринарної фармакології та токсикології, присвяченій 100-річчю з дня народження С.В. Баженова (м. Київ, 2002); Міжнародній конференції по науково-прикладним проблемам паразитології (м. Луганськ, 2003); Міжнародній науково-практичній конференції „Актуальні проблеми ветеринарної медицини в умовах сучасного ведення тваринництва” (м. Феодосія, 2003); Міжнародній науково-практичній конференції „Ветеринарна медицина–2004. Сучасні аспекти розробки, маркетингу і виробництва ветеринарних препаратів” (м. Феодосія, 2004); Міжнародній науковій конференції „Актуальні проблеми та інновації в тваринництві, ветеринарній медицині і харчових технологіях”, присвяченій 220-річчю академії (м. Львів, 2004); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та спеціалістів „Молоді вчені у вирішенні проблем аграрної науки і практики” (м. Львів, 2004); Міжнародній науково-практичній конференції „Ветеринарна медицина – 2005: Сучасний стан та актуальні проблеми забезпечення ветеринарного благополуччя тваринництва”, присвяченій 90-річчю від дня народження академіка І.М. Гладенка та 100-річчю від дня народження М.Д. Кльосова, 30 травня – 4 червня 2005 р. (м. Ялта.–АР Крим); Міжнародній науково-практичній конференції „Стан, проблеми та перспективи сучасної аграрної науки і практики”, присвяченої 105-річчю від дня народження С.З. Гжицького, 9 – 10 червня 2005 року (м. Львів); і Міжнародній науково-практичній конференції „Біологічні основи продуктивності та здоров'я тварин”, 23 – 24 червня 2005 року (м. Львів) та на 2 обласних семінарах-нарадах спеціалістів ветеринарної медицини.

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи опубліковані у 28 наукових працях, з яких 24 статті (19 одноосібно) у фахових виданнях, що входять до переліку затвердженого ВАК України; 1 навчальний посібник, 3 патенти.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота включає вступ, огляд літератури, вибір напрямів досліджень, матеріали та методи виконання роботи, розділів результатів власних досліджень, узагальнення результатів досліджень та їх аналіз, висновки та пропозиції виробництву, список використаних джерел і додатки. Основний зміст роботи викладена на 296 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 84 таблицями що становить 72 сторінки та 10 рисунками що становить 7 сторінок. Список використаних джерел включає 621 найменування, у тому числі 317 авторів із далекого зарубіжжя.

ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Робота виконувалася протягом 1998 – 2005 років у лабораторії токсикологічного моніторингу (раніше лабораторія фармакології та токсикології) Центру токсикологічних досліджень, ветсанекспертизи, сертифікації кормів та продуктів тваринництва Інституту експериментальної та клінічної ветеринарної медицини УААН за загальною схемою, представленою на рис.1.

Методологічною основою вибору напрямку роботи слугували матеріали літератури щодо розвитку патології різного генезу в організмі тварин і людей під впливом піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками. Дослідження були спрямовані на розробку чутливих і високоякісних методик визначення пестицидів у біологічних об'єктах, вивчення особливостей їх токсикокінетики та токсикодинаміки в організмі лабораторних та сільськогосподарських тварин, впливу на окремі ферментні системи тварин в експерименті.

За цих умов були визначені наступні напрямки роботи та загальна схема експериментальних досліджень:

- комплексна оцінка розроблених методик визначення залишкових кількостей піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в тканинах тваринного походження;
- токсикокінетика і виділення препаратів з організму тварин при експериментальних гострих і хронічних інтоксикаціях;
- окремі питання токсикодинаміки за розвитку токсикозів згаданих вище пестицидів ;
- розробка системи токсико-гігієнічного регламентування залишкових кількостей пестицидів у кормах для сільськогосподарських тварин.

Дослідна частина роботи виконувалася у віварії та експериментальній базі інституту. Для експериментів використовували піретроїд ф'юрі (зетациперметрин) у формі 10% водної емульсії (в.е.) та комбінований пестицид нурел-Д (хлорпірифос+циперметрин) у формі 55% концентрату в

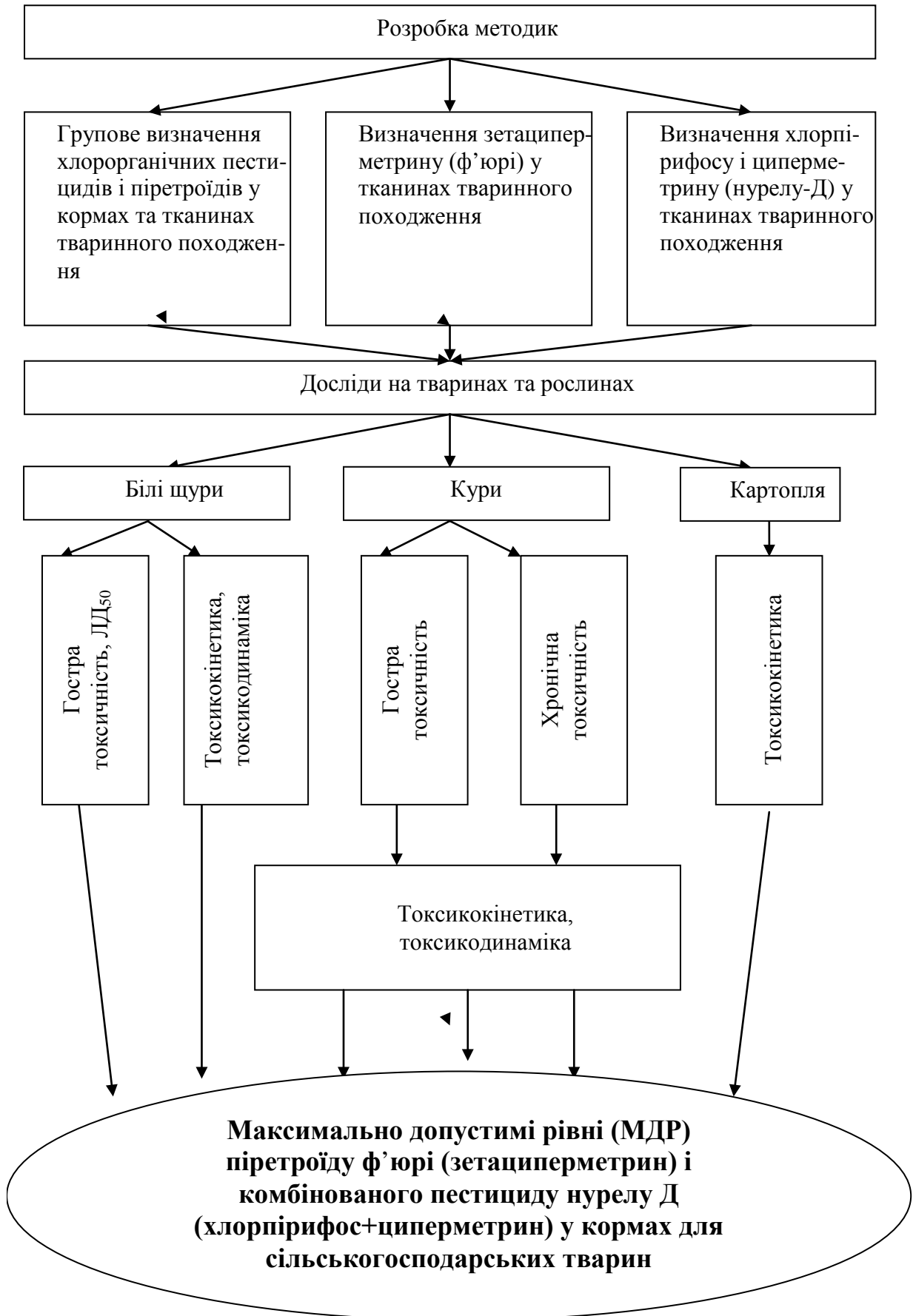


Рис.1 Загальна схема експериментальних досліджень

емульсії (к.е.). У дослідях використано 166 білих щурів і 210 курей. При цьому проведено 5515

токсикологічних досліджень, із них 1783 при розробці методик та 1260 біохімічних досліджень крові та органів.

У гострих дослідях пестициди вводили тваринам перорально, за допомогою зонду, у формі олійних розчинів, водно-олійних емульсій і водних суспензій. У хронічних дослідях пестициди вводили через зонд або задавали з кормом. Дозування здійснювали за діючою речовиною на кілограм маси тварини або в хронічних експериментах на кілограм корму. Контрольні тварини пестицидів не отримували або їм вводили відповідну кількість рослинної олії з емульгатором.

Вміст діючих речовин пестицидів (що вивчались) та їх метаболітів визначали в ґрунті і вегетативних частинах рослин із використанням розроблених методик. Утримання і годівлю піддослідних щурів та курей здійснювали у відповідності до загальноприйнятих нормативів (Западняк И.П., и др., 1974; Калашников А.П. и др., 1985).

Розробляючи методики групового визначення піретроїдних та хлорорганічних пестицидів, ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д, відомі кількості стандартних активних інгредієнтів пестицидів уносили в проби біологічної матриці і після тригодинної витримки проводили екстракцію речовин, очищення екстрактів та ідентифікацію пестицидів хроматографічними методами. Цифровий матеріал підлягав метрологічній обробці. Ці методики використовували також у гострих і хронічних експериментах при вивченні токсикокінетики пестицидів. Для усіх розроблених методик була проведена валідація згідно з вимогами „Стандарту ISO 17025” і „Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЕС 657/2002”.

Токсикологічні експерименти на тваринах виконували відповідно до методичних рекомендацій „Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” (Косенко М.В., Малик О.Г., Коцюмбас І.Я. і інші, 1997), а при встановленні величин максимально допустимих рівнів залишкових кількостей пестицидів у кормах для сільськогосподарських тварин враховували методичні рекомендації, затверджені ВАСГНІЛ (Таланов Г.А., Аббасов Т.Г., Малинин О.А., и др., 1983) та інші.

Визначення середньосмертельної дози пестицидів ф'юрі і нурелу-Д проводили методом пробіт-аналізу Miller і Tainter (1944) в модифікації В.Б. Прозоровського (1962).

У крові визначали: кількість еритроцитів на КФК-2 за допомогою калібрувальних графіків (Дервиз Г.В., Вороб'єв А.И., 1959; Заболоцкий В.Т., Поляков В. Ф., 1965); концентрацію гемоглобіну гемоглобінціанідним методом (Кондрахин И.П., 1985); глюкози в реакції з о-толуїдиновим реактивом (Самохін В.Т. і ін., 1981); пірвіноградної кислоти в крові – в реакції з саліциловим альдегідом (Шамрай Е.В., 1967); молочної кислоти – за методом Баркера і Саммерсона; холестерину – за методом Ілька, 1962.

Дослідження активності ферментів у плазмі крові включали: активність АСТ (К.Ф. 2.6.1.1.) і АЛТ (К.Ф. 2.6.1.2.) за методом Reitman і Frankel в модифікації А.М. Ошеровича і Б.І. Мільнера; активність лужної фосфатази (К.Ф. 3.1.3.1.) – за допомогою відповідних наборів науково-виробничого підприємства „Філісіт Діагностика” (Україна); активність псевдохолінестерази (К.Ф. 3.1.1.8) – за допомогою відповідних наборів „Біо-ЛА-Тест®” науково-виробничої фірми “Lachema” (Чехія); активність фруктозодифосфатальдолази (К.Ф. 3.1.3.11) – за Кулганеком і Клашком; активність загальної лактатдегідрогенази (К.Ф. 1.1.2.3) – за

Севелом і Товареком; неспецифічні естерази (К.Ф. 3.1.1.1, 3.1.1.2, 3.1.1.7) – за швидкістю перетворення 1-нафтилацетату (Малинін О.О., 1977).

Глікоген у тканинах печінки визначали за Кахну (Асатиани В.С., 1957), використовуючи кольорову реакцію з антроновим реактивом.

В окремих органах і тканинах курей (головний мозок, печінка, нирки, серце, червоні м'язи і тонка кишка) визначали активність лужної фосфатази (К.Ф. 3.1.3.1.), фруктозодифосфатальдолази (К.Ф. 3.1.3.11) і загальної лактатдегідрогенази (К.Ф. 1.1.2.3) та гомогенатах печінки і серця визначали активність АСТ (К.Ф. 2.6.1.1.) і АЛТ (К.Ф. 2.6.1.2.) за вказаними вище методами. Для цього головний мозок, печінку, нирки, серце, червоні м'язи і тонку кишку відбирали після розтину тварин для отримання гомогенатів. Тканини швидко вилучали, охолоджували протягом 3 хв., продавлювали крізь прес, гомогенізували (скло-тефлон) у відповідному середовищі, яке містить для АСТ – 0,25М сахарозу, приготовлену на 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,4); для АЛТ – 50 мМ трис-НСІ буфер (рН 7,4); для фруктозодифосфатальдолази – 5мМ триетаноламіновий буфер (ЕДТА) (рН 7,4); для загальної лактатдегідрогенази – 0,1М розчин трис-НСІ буфер, який містить ЕДТА (0,001М), і для лужної фосфатази – 100мМ трис-НСІ буфер з рН 7,4; центрифугували протягом 1 хв. при 800 об./хв. та фільтрували і зберігали при $t 0^{\circ}\text{C}$ до використання у дослідженні. Співвідношення наважки тканини та об'єму середовища гомогенізації складало 1:50.

У роботі використовували реактиви фірм: “Lachema” (Чехія), “Reanal” (Угорщина); “Merk” (Німеччина), “Sigma” (США) і реактиви вітчизняного виробництва кваліфікації ЧДА, ХЧ і ОСЧ.

Паралельно з біохімічними проводили токсикокінетичні дослідження пестицидів в організмі тварин. При цьому органи і тканини (головний мозок, серце, легені, кров, печінка, нирки, червоні та білі м'язи, вміст м'язового шлунку і товсту кишку, жир) відбирали після розтину тварин. Дослідження проб на вміст діючих компонентів ф'юрі та нурелу-Д проводили методом газорідної хроматографії згідно з розробленими нами методиками.

Результати клініко-біохімічних та токсикологічних досліджень наведені у відповідності з Міжнародною системою одиниць, рекомендованою для використання в клінічній лабораторній практиці, і статистично оброблені на персональному комп'ютері з використанням пакету програм Microsoft Excel for Windows 2000.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментально-теоретичне обґрунтування і розробка хроматографічних методик визначення піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в об'єктах тваринного походження, а також гармонізація їх згідно з вимогами „Стандарту ISO 17025” і „Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЕС 657/2002”

Методика групового визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів.

Кількісні методи визначення залишкових кількостей піретроїдів, хлорорганічних пестицидів та активних інгредієнтів піретроїду ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д в об'єктах тваринного походження розроблені за схемою, яка представлена на рисунку 2.

На першому етапі ми визначали оптимальний екстрагент, який забезпечує максимальне

екстрагування пестициду, що досліджувався із матриці за мінімальної кількості коекстрактивних речовин. Для цього використовували різноманітні органічні розчинники: ацетон, етанол, бензол, гексан і їх суміші. Наступні етапи включали фільтрацію, ультрафільтрацію, центрифугування та інші методи звільнення екстрактів від домішок. Реекстракцію проводили, як правило, з використанням гексану. Для додаткового очищення реекстрактів використовували хроматографію на колонках. На заключній стадії відпрацювали оптимальні режими ідентифікації пестицидів засобом хроматографії. Валідацію методик проводили згідно з вимогами GLP, стандарту „ISO 17025” і „Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів EC 657/2002”.

Складність розробки групових уніфікованих методик визначається різноманітними фізико-хімічними властивостями пестицидів та об'єктів дослідження. Накопичений досвід та проведені дослідження дали змогу визначити два екстрагенти: етанол та ацетон. В останніх розчинні більшість хлорорганічних і піретроїдних пестицидів. Однак, за цих умов в екстракт потрапляє велика кількість коекстрактивних речовин. Властиво це викликає необхідність розробки системи очищення екстрактів. На першому етапі ми використали метод осаджування коекстрактивних речовин із суміші полярного розчинника з водою. Найбільш позитивні результати були отримані після використання ацетон-водного екстракту та ацетату свинцю. Реекстракцію пестицидів після цього проводили неполярними органічними розчинниками (частіше гексаном) із додатково розведених водою екстрактів. На заключному етапі для додаткового очищення екстрактів ми використовували хроматографію на колонці. Очищений гексановий екстракт у подальшому використовували для ідентифікації пестицидів методом газорідинної або тонкошарової хроматографії.

Метрологічні характеристики методу та валідаційні параметри розробленої методики одночасного групового визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів у кормах і тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газорідинної та тонкошарової хроматографії проведені на базі матриці – м'язова тканина, згідно з вимогами GLP і європейських стандартів після внесення у проби 10 мкг хлорорганічних пестицидів (J-ГХЦГ, ДДТ, ДДД, ДДЕ, дилор, кельтан) і піретроїдів (амбуш, децис, цимбуш, карате, фастак). За цих умов точність і правильність при поверненні добавки аналіту до матриці була у межах 70,3 – 91,6, відносне стандартне відхилення склало 6,0 – 11,7. Крім того відносне стандартне відхилення виявлено за проведення та відтворення контролю в лабораторії і воно склало 3,02 – 4,90, яке вказує на те, що фактори, які досліджувались, не чинять впливу на результати дослідження і методика не вимагає додаткових заходів корекції. Метод був також лінійним і оптимальна стабільність аналізу у матриці, що вивчалась, зберігалась упродовж 20 діб за умови використання посуду із темного скла і $t +4^{\circ}\text{C}$. Межа детектування становила 0,5 нг для хлорорганічних пестицидів і 1,0 нг для піретроїдів.

Отже, розроблена методика досліджень групового визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів в об'єктах тваринного походження відповідає вимогам міжнародних стандартів.

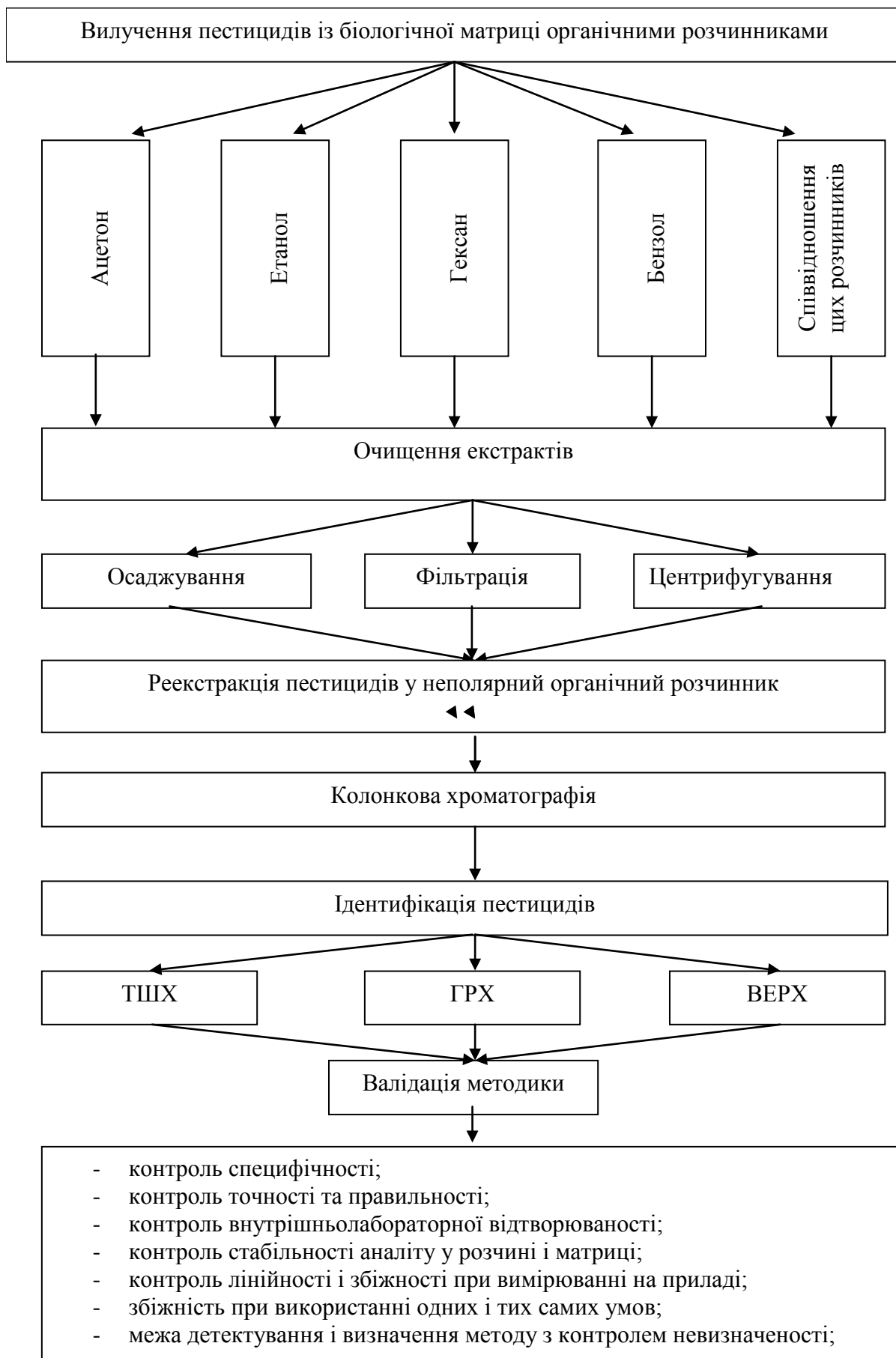


Рис.2 Схеми розробки методик визначення пестицидів

Новизна цієї розробки захищена Патентом України 66709 А G 01N33/02, №2003109160. На базі цієї розробки підготовлені „Методичні вказівки щодо одночасного групового визначення хлороганічних пестицидів і піретроїдів у кормах і тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газової та тонкошарової хроматографії”, які апробовані та затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол № 15-14/188 від 05.05.2003 року.

Методика визначення зетаціперметрину (ф'юрі). Встановлено, що кращим екстрагентом для зетаціперметрину з біологічної матриці є ацетон. Але при аналізі об'єктів тваринного походження (м'ясо, внутрішній жир, яйце, молоко) ацетон екстрагує і велику кількість ендогенних сполук (ліпіди, пігменти, каротиноїди тощо), які заважають ідентифікації пестициду.

Для звільнення екстрактів від жирових компонентів при визначенні зетаціперметрину ми використовували спосіб виморожування їх. Після охолодження екстракту протягом години при t ($-10 - 20^{\circ}\text{C}$) вдавалось позбутись 80–85 відсотків ліпідних компонентів. Додаткове очищення екстрактів від коекстрактивних речовин проводили методом хроматографії з використанням розподільних колонок (колонка з оксидом алюмінію II ступеня активності). Для цього використовували суміш розчинів гексану з бензолом. Аналіз результатів досліджень цих сумішей показав, що оптимальним співвідношенням для елюювання зетаціперметрину є – бензол : гексан – (6:4) в кількості 10 см³.

Якісну ідентифікацію та кількісне визначення зетаціперметрину проводили за часом утримання методом газорідинної хроматографії з використанням детектора для захоплення електронів за встановленими нами параметрами.

Після розробки методики нами проведені експериментальні дослідження щодо її валідації на базі дослідження біологічної матриці (м'язова тканина), в яку штучно вносили зетаціперметрин.

Після проведення контролю точності та правильності повернення добавки аналіту до матриці, процент повернення пестициду склав 77,3%, відносне стандартне відхилення – 6,0. І таким чином, методика є точною і правильною. Відносне стандартне відхилення за проведення контролю та відтворення всередині лабораторії склало 3,56, яке вказує на те, що фактори, які враховувались, не чинять впливу на результати дослідження і методика не вимагає відповідно додаткової корекції. Метод є також лінійним. Оптимальна стабільність аналіту в матриці, що вивчалась, зберігалась упродовж 14 діб за умови використання посуду із темного скла та $t +4^{\circ}\text{C}$. Межа детектування складала 0,5 нг.

Отже, новизна розробленої методики визначення зетаціперметрину для дослідження об'єктів тваринного походження захищена Патентом України 66568 А G 01N33/02, №2003077014. Методика затверджена Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України (Наказ № 86 від 18.11.2003р.) і рекомендована для використання у практиці.

Методика визначення комбінованого пестициду нурелу-Д. Використання сумішей пестицидів вимагає відповідного контролю за залишковими кількостями обох компонентів

пестициду. Саме тому, нами були проведені дослідження щодо розробки методу одночасного визначення хлорпірифосу і циперметрину в біологічній матриці з використанням приладу газорідинної хроматографії. Проведеними дослідженнями встановлено, що найбільш ефективним екстрагентом для обох пестицидів є ацетон, який забезпечує найбільшу екстракцію хлорпірифосу і циперметрину із субстанції що досліджувались. Однак, ацетон за проведення аналізу об'єктів тваринного походження екстрагує багато ендогенних сполук, які заважають подальшій ідентифікації препарату. В цьому випадку для зручності роботи створили загальну схему виділення хлорпірифосу і циперметрину із складної біологічної матриці. Первинне звільнення проб від жирових компонентів проводили за методом виморожування.

Для додаткового очищення проб від коекстрактивних речовин і розробки сепаративного елюювання хлорпірифосу і циперметрину використовували хроматографію з розподільними колонками. Колонка з силікагелем АСК не забезпечувала роздільного виходу хлорпірифосу і циперметрину. Саме тому, подальші дослідження проводили з оксидом алюмінію. Неоднакова кількість фосфорорганічного пестициду (хлорпірифосу) і піретроїду (циперметрину) в пробах, що досліджувались викликала потребу проведення сепаративного елювання препаратів із колонки. Для цього хлорпірифос вимивали сумішшю гексан : бензол (14:1) в кількості 10 см³, а циперметрин – гексан : бензол (7:3) в кількості 10 см³, які були визначені експериментальним шляхом.

Для ідентифікації і встановлення валідаційних параметрів розробленої нами методики одночасного визначення активних компонентів нурелу-Д у біологічній матриці (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) використовували спосіб газорідинної хроматографії.

Після проведення контролю точності та правильності щодо повернення добавки аналіту внесеного до матриці, процент повернення був у межах 74,9 – 81,6, а відносне стандартне відхилення склало 5,97 – 7,25. Тобто методика є точною і правильною. Відносне стандартне відхилення за проведення контролю і відтворення всередині лабораторії склало 3,43 – 3,93, що вказує на те, що фактори, які досліджувались, згідно з валідацією не чинять впливу на результати дослідження і методика не вимагає заходів корекції. Метод є також лінійним і оптимальна стабільність аналізу в матриці, що вивчалась, зберігається протягом 10 діб за умови використання посуду із темного скла та t +4⁰C. Межа детектування складає 0,05 нг для хлорпірифосу і 0,5 нг для циперметрину.

Отже, розроблена методика має прийнятні характеристики для валідації і може використовуватись в хіміко-токсикологічних лабораторіях для дослідження більшості об'єктів рослинного та тваринного походження. Новизна методики захищена Патентом України 57249 А G 01N33/02, №2002054266. Методика затверджена Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол №15-14/298 від 07.06.2002 року та рекомендована у виробництво.

Параметри токсичності піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками

Гостра токсичність ф'юрі для білих щурів. Параметри токсичності ф'юрі (10% в.е.) визначали на білих щурах, масою 180-210 г. Пестицид щурам задавали у формі водної суспензії в шлунок за допомогою зонда в дозах 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 і 5,5 мг/кг маси тіла. Спостереження за піддослідними тваринами проводили протягом 14 діб.

Через одну годину після введення ф'юрі в шлунок у щурів усіх дослідних груп встановили відмову від корму і легке пригнічення. Більшість тварин лежали, лише деякі повільно пересувались.

Щури, які отримали ф'юрі в дозах 3,0, 3,5, 4,0 мг/кг маси тіла на другу добу після введення дослідного препарату починали прийом корму та води. У щурів, які одержали вище згаданий пестицид у дозах 4,5, 5,0 і 5,5 мг/кг маси тіла, встановили порушення координації руху, а згодом параліч передніх і задніх кінцівок. Покрив шерсті щурів був скуйовдженим, видимі слизові оболонки синюшними. Спостерігались також сильне потовиділення та саливація.

Через одну добу у щурів, яким ввели ф'юрі в дозах 4,5 і 5,0 мг/кг маси тіла і що залишилися живими, спостерігали параліч кінцівок та збільшення черевної порожнини. Шерстний покрив забруднений, особливо біля анального отвору. Крім того, у щурів установлено утруднене дихання, хрипи. Після введення дослідного пестициду в смертельних дозах щури загинули в перші дві доби.

Патологоанатомічні зміни у щурів, які загинули, характеризувались вираженими застійними явищами в легенях, печінці та селезінці.

Параметри токсичності визначали шляхом розрахунків прямої графіку щодо пробіт-аналізу. ЛД₅₀ ф'юрі (10% в.е.) для білих щурів за цими розрахунками склала 4,93 мг/кг маси тіла. Величина помилки ЛД₅₀, яку вираховували за методом Міллера і Тейнтера, склала - 0,62 мг/кг.

Отже, згідно з гігієнічною класифікацією за Л.І. Медведьом ф'юрі відносимо до високотоксичних сполук.

Гостра токсичність комбінованого пестициду нурелу-Д. Нурел-Д (55% к.е.) задавали щурам у формі олійних розчинів у шлунок за допомогою зонда. Щурам піддослідних груп вводили нурел-Д в дозах 20, 40, 60, 80, 100 і 120 мг/кг маси тіла. Об'єм розчину, що вводився, визначали індивідуально для кожної тварини у відповідності до маси тіла. Спостереження за піддослідними тваринами показали, що через одну годину після введення нурелу-Д у шлунок дослідні щури відмовлялись від корму і настало легке пригнічення.

Встановлено, що через 3 години після введення щурам нурелу-Д у дозі 20 і 40 мг/кг тварини починали споживати корм і воду. А у щурів, які одержали нурел-Д у дозах 60, 80, 100 і 120 мг/кг маси тіла, розпочиналось посмикування м'язів на передній частині тіла, а згодом настав параліч передніх і задніх кінцівок. У подальші терміни дослідження клінічні ознаки інтоксикації у щурів цих груп зникли.

Через одну добу в щурів, які одержали нурел-Д у дозах 60, 80 і 100 мг/кг маси тіла і залишилися живими, спостерігали параліч кінцівок. Покрив шерсті був забруднений, особливо біля анального отвору. Крім того, було утруднене дихання та спостерігали хрипи. Лише деякі тварини споживали корм. Після введення згаданого вище пестициду в дозі більше 120 мг/кг маси тіла паралічі наступали через декілька хвилин згодом. У смертельних дозах щури загинули в

основному в перші дві доби після введення дослідного пестициду.

Патологоанатомічні зміни у щурів, які загинули, характеризувались вираженими застійними явищами в легенях, печінці та селезінці.

Параметри токсичності визначали шляхом розрахунку прямої графіку для пробіт-аналізу. ЛД₅₀ за результатами цих розрахунків склало 74,7 мг/кг маси тіла. Величина помилки ЛД₅₀, яку вираховували за методом Міллера і Тейнтера, склала 17,08 мг/кг.

Отже, згідно з гігієнічною класифікацією за Л.І. Медведьом цей комбінований пестицид відносимо до високотоксичних сполук.

Токсикокінетика піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в органах і тканинах тварин, терміни виведення їх із організму

Токсикокінетика ф'юрі в організмі білих щурів.

Вивчення токсикокінетики ф'юрі та виведення його з калом і сечею, проводили на щурах, за одноразового перорального введення препарату в дозі 2,5 мг/кг маси тіла ($\frac{1}{2}$ ЛД₅₀).

Після введення дослідного пестициду щурам настали клінічні ознаки токсикозу. Через 4 і 8 годин, а також через 1, 3 і 7 діб після введення інсектициду проводили евтаназію тварин за легкого ефірного наркозу і відбір проб органів і тканин для дослідження. Зетаціперметрин за цих умов визначено в усіх пробах, що досліджувались протягом трьох діб (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл зетаціперметрину в організмі щурів за одноразового перорального введення ф'юрі в дозі 2,5 мг/кг маси тіла

Органи і тканини	Концентрація зетаціперметрину (мг/кг) через				
	4 години	8 годин	1 добу	3 доби	7 діб
Мозок головний	0,024±0,009	0,020±0,006	0,021±0,004	0,031±0,016	< м.в.
Серце	0,045±0,011	0,027±0,015	0,028±0,014	0,041±0,016	< м.в.
Легені	0,031±0,006	0,010±0,005	0,024±0,006	0,012±0,003	< м.в.
Кров	0,025±0,004	0,018±0,009	0,044±0,008	0,014±0,003	< м.в.
Печінка	0,014±0,008	0,004±0,002	0,005±0,003	0,004±0,002	< м.в.
Нирки	0,028±0,014	0,014±0,007	0,027±0,006	0,010±0,006	< м.в.
М'язи	0,020±0,003	0,014±0,009	0,008±0,004	0,005±0,002	< м.в.
Внутрішній жир	0,041±0,015	0,038±0,009	0,038±0,013	0,008±0,002	< м.в.
Вміст шлунка	1,504±0,831	0,627±0,010	0,487±0,368	0,002±0,001	< м.в.
Вміст товстої кишки	2,369±0,572	0,999±0,353	0,196±0,102	0,001±0,005	< м.в.

Примітки: < м.в. – нижче величин межі визначення 0,002 мг/кг для зетаціперметрину;

Зетаціперметрин виявляли в усіх органах і тканинах уже через 4 години після введення пестициду, що вказує на його активну резорбцію в організмі. Найбільшу кількість його

встановлено в умісті товстої кишки – $2,369 \pm 0,572$ мг/кг та шлунку – $1,504 \pm 0,831$ мг/кг. У серці, легенях, нирках і головному мозку згаданий вище пестицид визначався в менших кількостях. У подальшому концентрація зетаціперметрину в тканинах знижувалась. Однак, через 3 доби зетаціперметрин продовжували виявляти в серці ($0,041 \pm 0,016$ мг/кг) і головному мозку ($0,031 \pm 0,016$ мг/кг) та в менших кількостях в інших тканинах.

Окрім вивчення характеру розподілу зетаціперметрину в органах і тканинах нами вивчалась динаміка виділення згаданого вище пестициду із організму тварин з сечею і калом. У добовому об'ємі сечі і калу, від кожної тварини зетаціперметрин визначався протягом 5 – 7 діб. З сечею зетаціперметрин виявляли в досить незначних кількостях. З калом виділяється значно більша кількість зетаціперметрину ($1,307 \pm 0,295$ і $0,736 \pm 0,454$ мг/кг) у перші дві доби після введення. На 4 добу кількість виділення згаданого вище пестициду зменшувалась до $0,091 \pm 0,071$ мг/кг. На 6 добу токсикант у пробах що досліджувались не виявляли.

Отже, зетаціперметрин (ф'юрі) є пестицидом із вираженими резорбтивними властивостями, який швидко всмоктується із травного каналу і розподіляється в усі органи і тканини щурів. Основна маса зетаціперметрину виводиться з калом упродовж перших 6 діб після введення.

Токсикокінетика комбінованого пестициду нурелу-Д в організмі білих щурів. Нурел-Д вводили щурам у дозі 40,0 мг/кг маси тіла ($1/2$ ЛД₅₀). Через 4 години, а також 1, 3, 7, 14, 30 і 45 діб після введення пестициду, проводили евтаназію тварин за легкого ефірного наркозу.

Результати хроматографічних досліджень (табл. 2) свідчать про те, що хлорпірифос в організмі білих щурів виявлявся протягом усього експерименту (30 – 45 діб). Вже через 4 години після введення згаданого вище пестициду він виявлявся в усіх органах і тканинах, що вказує на швидке його всмоктування і розподіл в усі органи. Найбільшу кількість дослідного пестициду встановлено у вмісті шлунка – $11,168 \pm 6,09$ мг/кг, внутрішньому жирі – $8,028 \pm 0,14$ мг/кг та у вмісті товстої кишки – $5,893 \pm 3,82$ мг/кг. В інших органах його було дещо менше ($0,773 \pm 0,34$ – $0,207 \pm 0,02$ мг/кг). В подальшому концентрація хлорпірифосу в тканинах поступово знижувалась. Через 7 діб кількість його в м'язах дорівнювала $0,357 \pm 0,29$ мг/кг, а у внутрішньому жирі – $0,184 \pm 0,07$ мг/кг. В інших органах і тканинах згаданий вище компонент пестициду визначався у незначних кількостях. Невеликі залишки хлорпірифосу встановлені протягом 45 діб після введення токсиканту в усіх органах і тканинах.

Після введення дослідного пестициду через 4 години циперметрин виявлявся у вмісті товстої кишки ($1,008$ мг/кг), вмісті шлунка ($0,136 \pm 0,09$ мг/кг), в печінці ($0,153$ мг/кг) та інших тканинах ($0,119$ – $0,040$ мг/кг).

Через 3 доби незначна кількість циперметрину виявлена лише у вмісті шлунка ($0,005 \pm 0,004$ мг/кг), а протягом останніх діб інсектицид в органах і тканинах щурів не виявлявся.

У сечі визначається лише один компонент нурелу-Д – хлорпірифос. Виділення його

Таблиця 2

Розподіл хлорпірифосу в організмі щурів за одноразового перорального введення комбінованого пестициду нурелу-Д у дозі 40,0 мг/кг маси тіла

Органи і тканини	Концентрація хлорпірифосу (мг/кг) через							
	4 години	1 добу	3 доби	5 діб	7 діб	14 діб	30 діб	45 діб
Мозок головний	0,326±0,14	0,233±0,06	0,109±0,02	0,209±0,05	0,072±0,01	0,032*	0,016*	0,007*
Серце	0,387±0,15	0,178±0,11	0,131±0,04	0,117±0,004	0,040±0,09	0,050*	0,028*	0,015*
Легені	0,711±0,49	0,144±0,03	0,090±0,01	0,086±0,27	0,136±0,01	0,043*	0,014*	0,009*
Кров	0,207±0,02	0,111±0,08	0,085±0,02	0,090±0,01	0,203±0,09	0,030*	0,021*	0,008*
Печінка	0,773±0,34	0,050±0,02	0,033±0,01	0,082±0,001	0,011±0,005	0,100*	0,039*	0,023*
Нирки	0,606±0,25	0,097±0,05	0,124±0,03	0,179±0,03	0,084±0,02	0,072*	0,036*	0,020*
М'язи	0,480±0,25	0,136±0,01	0,065±0,001	0,182±0,02	0,357±0,29	0,066*	0,023*	0,014*
Жир внутрішній	8,028±0,14	0,187±0,14	0,114±0,08	0,250±0,02	0,184±0,07	0,066*	0,014*	0,006*
Вміст шлунка	11,168±6,09	3,527±2,95	0,094±0,03	0,134±0,001	0,042±0,02	0,077*	0,028*	0,012*
Вміст товстої кишки	5,893±3,82	0,944±0,36	0,041±0,01	0,157±0,001	0,037±0,02	0,052*	0,042*	0,028*

Примітка: * – кількість хлорпірифосу в збірній пробі із чотирьох, що піддавались дослідженню;

починається вже з першої доби ($0,079 \pm 0,02$ мг/кг), а потім знижується протягом 5-6 діб. З калом виділяються обидва компоненти дослідного пестициду. За цих умов значна кількість хлорпірифосу виділяється в перші дві доби після введення ($7,237 \pm 3,94 - 9,487 \pm 4,90$ мг/кг). Потім кількість його в калі поступово зменшується протягом 10 діб.

Циперметрин із калом виділяється протягом 3 діб. Максимальна кількість його виявляється на другу добу – $10,514 \pm 3,92$ мг/кг після введення згаданого вище пестициду.

Отже, нурел-Д є ліпотропним пестицидом, який швидко всмоктується із травного каналу і розподіляється в усі органи і тканини шурів.

Токсикокінетика ф'юрі в організмі курей за розвитку експериментального гострого отруєння. Вивчення токсикокінетики зетациперметрину в організмі курей, проводили за одноразового перорального введення в дозах 1,0 і 2,5 мг/кг маси тіла. Через 4 години після одноразового введення ф'юрі в дозі 1,0 мг/кг маси тіла зетациперметрин визначали в усіх пробах що досліджувались. Найбільша кількість його була виявлена у вмісті товстої кишки – $0,016 \pm 0,009$ мг/кг. У внутрішніх органах згаданий вище токсикант виявлявся на рівні – $0,0083 \pm 0,007 - 0,0033 \pm 0,003$ мг/кг. Слід відзначити про високий вміст зетациперметрину в м'язовому шлунку ($0,632 \pm 0,509$ мг/кг).

Через одну добу концентрація зетациперметрину в організмі, в основному знижувалась. Через 4 доби після введення пестициду, залишкові кількості зетациперметрину визначали лише у величинах слідових кількостей. В подальші терміни дослідження пестицид не виявлявся.

При проведенні досліджень проб від курей, які одержали ф'юрі в дозі 2,5 мг/кг маси тіла, дещо більша кількість зетациперметрину встановлена у вмісті товстої кишки ($0,135 \pm 0,022$ мг/кг), внутрішньому жири ($0,047 \pm 0,001$ мг/кг), червоних ($0,013 \pm 0,001$ мг/кг) і білих ($0,011 \pm 0,001$ мг/кг) м'язах. Через одну добу після введення піретроїду зростали залишкові кількості пестициду в нирках до $0,037 \pm 0,001$ мг/кг (в 5,3 рази). Кількість токсиканту збільшилась також в головному мозку і серці. В усіх інших органах і тканинах, що досліджувались залишкові кількості пестициду поступово зменшувались і через 7 – 14 діб після введення його знаходили на межі величин визначення.

Зетациперметрин виділяється з яйцями курей за умови його одноразового перорального введення. Виділення його з жовтком встановлено протягом 7 діб. На 14 добу пестицид не виявляли в жодній із проб яєць що досліджувались.

Отже, ф'юрі є пестицидом із вираженими ліпотропними властивостями, який швидко всмоктується із травного каналу і розподіляється в усі органи і тканини курей та виділяється з яйцями. Для прижиттєвої діагностики отруєнь курей інсектицидом ф'юрі рекомендуємо досліджувати кал, а при посмертній – вміст шлунка і товстої кишки, серця, внутрішнього жиру, легень і нирок на залишкові кількості пестициду.

Токсикокінетика комбінованого пестициду нурелу-Д в організмі курей за експериментального гострого отруєння. Враховуючи те, що нурел-Д містить хлорпірифос та циперметрин, нами були досліджені залишкові кількості цих компонентів в організмі курей після

одноразового перорального введення дослідного пестициду в дозах 10,0 і 20,0 мг/кг маси тіла. Максимальна кількість хлорпірифосу за цих умов визначалась через 4 години в усіх органах і тканинах курей. Лише у білих та червоних м'язах максимальна кількість хлорпірифосу накопичувалась пізніше (через 1 – 7 діб). Через 14 діб після введення пестициду залишкові кількості хлорпірифосу були на межі величин визначення.

Максимальна кількість циперметрину визначається протягом однієї доби у вмісті м'язового шлунка і товстої кишки, крові і печінці. Через 3 доби циперметрин залишався у вмісті м'язового шлунка і печінці. Через 7 і 14 діб незначні залишкові кількості пестициду визначали лише у м'язовому шлунку.

За результатами наших досліджень методом газорідинної хроматографії виявлено два метаболіти хлорпірифосу, які умовно позначені нами, як метаболіти M_1 і M_2 . Метаболіт M_1 в організмі курей, які одержали нурел-Д у дозі 10,0 мг/кг маси тіла знаходиться в незначних кількостях. Метаболіт M_2 знаходиться в більшій кількості, ніж метаболіт M_1 . Через 4 години він виявляється в печінці (навіть більше, ніж основний компонент), вмісті товстої кишки, червоних м'язах та вмісті м'язового шлунка і білих м'язах. Максимальну кількість метаболіту M_2 хлорпірифосу виявлено через 7 діб в головному мозку, серці і червоних м'язах. Через 14 діб значна кількість метаболіту M_2 продовжує виявлятися у легенях, внутрішньому жири, вмісті м'язового шлунка, нирках та інших тканинах.

При введенні нурелу-Д у дозі 20,0 мг/кг закономірність розподілу хлорпірифосу та циперметрину в тканинах була аналогічною. Через 7 та 14 діб препарати визначались в органах і тканинах, що досліджувались, на межі величин визначення.

Метаболіт M_1 , за введення нурелу-Д у дозі 20,0 мг/кг, через 4 години визначався лише в печінці. В наступні 14 діб метаболіт M_1 виявили у більшості тканин, однак у досить незначних кількостях. Метаболіт M_2 , за введення нурелу-Д у дозі 20,0 мг/кг визначався через 4 години в усіх органах, що досліджувались. У наступні 14 діб метаболіт M_2 також виявляли майже в усіх тканинах організму курей за поступового його зменшення. Хлорпірифос, а також його метаболіти M_1 і M_2 , як і циперметрин починають виділятися з яйцями курей через одну добу після введення пестициду. Залишкові кількості токсиканту продовжували виділятися у формі хлорпірифосу і метаболіту M_1 з яйцями курей протягом 14 діб у кількостях $0,008 \pm 0,002$ – $0,052 \pm 0,002$ мг/кг. Через 3 доби після введення згаданого вище пестициду в жовтку яєць курей обох груп виявляли лише хлорпірифос. У жовтку його було більше у 3-4 рази, ніж в білку. Через 7 та 14 діб хлорпірифос і його метаболіт M_1 виявлявся в жовтку яєць від курей обох дослідних груп. Крім того, в білку знаходили лише хлорпірифос.

Отже, вивчення токсикокінетики нурелу-Д в організмі курей показало, що хлорпірифос швидко піддається метаболізму і визначається в органах як у незмінній формі, так і у формі метаболітів. Залишкові кількості хлорпірифосу продовжують визначатись у тканинах курей протягом 14 діб. Циперметрин визначається лише у вмісті товстої кишки, крові, печінці та вмісті м'язового шлунка. Враховуючи результати проведених досліджень, для прижиттєвої діагностики отруєнь курей нурелом-Д рекомендуємо дослідження калу, а при посмертній – нирок, внутрішнього жиру, головного мозку і легень. За цих умов, слід звертати увагу на виявлення в

об'єктах, що досліджувались, обох діючих компонентів пестициду – циперметрину і хлорпірифосу, а також їх метаболітів.

Токсикокінетика ф'юрі в організмі курей за тривалого щоденного надходження з кормом. Вивчення токсикокінетики зетациперметрину в організмі курей, проводили за щоденного протягом 60 діб надходження дослідного пестициду з кормом у кількостях 0,5 і 2,5 мг на його кілограм маси. Аналізуючи одержані результати, слід відзначити, що, через 30 діб, зетациперметрин визначався в усіх обраних для дослідження органах і тканинах обох дослідних груп. У групі курей, яка отримувала 0,5 мг/кг піретроїду, максимальну кількість зетациперметрину визначали у внутрішньому жирі (0,016 мг/кг).

В серці, вмісті м'язового шлунка і товстої кишки, а також в білих і червоних м'язах визначали зетациперметрин у кількостях 0,002 – 0,007 мг/кг. В головному мозку, легенях, печінці, крові і нирках зетациперметрин встановлено на межі величин визначення препарату.

За введення пестициду в більшій кількості (2,5 мг/кг) зетациперметрин визначали у внутрішньому жирі, серці, легенях, печінці, вмісті м'язового шлунка – в 1,5 – 6 разів більше, ніж в меншій дозі. В інших тканинах пестицид виявляли на межі величин його визначення. Через 60 діб після щоденного надходження токсиканту зетациперметрин виявляли в усіх органах і тканинах у більших кількостях (в 2,5 – 4,2 рази). Однак, загальна закономірність розподілу його по органах і тканинах була такою ж.

Через 14 діб після припинення надходження пестициду, зетациперметрин встановлено в обох групах лише у внутрішньому жирі (0,022 – 0,037 мг/кг). Зетациперметрин визначали в жовтку яєць, одержаних від курей, що отримували пестицид в дозі 0,5 мг/кг у кількостях 0,002 – 0,020 мг/кг. Після підвищення пестициду в дозі до 2,5 мг/кг кількість зетациперметрину зростала (0,030 – 0,022 мг/кг). Через 14 діб, після припинення надходження інсектициду зетациперметрин у жовтку не визначався.

Отже, ф'юрі (зетациперметрин) є інсектицидом з вираженими резорбтивними властивостями, виділяється з жовтком і накопичується в жировій тканині. Однак, через 14 діб більшість тканин організму звільнялись від залишкових кількостей дослідного пестициду.

Токсикокінетика комбінованого пестициду нурелу-Д в організмі курей за тривалого щоденного надходження з кормом. Вивчення токсикокінетики діючих компонентів пестициду нурелу-Д в організмі курей проводили за щоденного протягом 60 діб надходження з кормом у кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг корму. Після цього встановлено, що через 30 діб, хлорпірифос виявлявся в усіх обраних для дослідження органах і тканинах обох дослідних груп. У групі, яка отримувала 1,0 мг/кг, максимальну кількість згаданого вище пестициду виявляли в нирках, внутрішньому жирі (по 0,039 мг/кг) і головному мозку (0,036 мг/кг). Встановили хлорпірифос також в серці, вмісті м'язового шлунка і товстої кишки, легенях, печінці, білих м'язах та крові. Після введення токсиканту в кількості 5,0 мг/кг в нирках, його було в 1,6 рази більше (0,062 мг/кг), у вмісті м'язового шлунка – в 2,2 рази більше (0,052 мг/кг), а в головному мозку – в 1,4 рази більше (0,049

мг/кг), ніж у меншій кількості. Через 60 діб після щоденного надходження пестициду хлорпірифос у всіх органах і тканинах визначали в значно більших кількостях. Звертає на себе увагу велика кількість його в серці (0,101 мг/кг), головному мозку (0,087 мг/кг) і нирках (0,086 мг/кг).

Через 14 діб після припинення надходження дослідного пестициду в кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг хлорпірифос визначався в червоних м'язах, печінці, вмісті м'язового шлунка, товстої кишки, нирках, внутрішньому жиру, головному мозку, легенях і серці. Припинення надходження нурелу-Д тваринам у групі, яка отримувала 5,0 мг/кг, майже не вплинуло на наявність хлорпірифосу в головному мозку і більшості інших тканин що досліджувались. Проведені експерименти свідчать про те, що 14 діб не достатньо для виведення залишків хлорпірифосу з організму.

Окрім хлорпірифосу, методом хроматографії встановлено два його метаболіти (M_1 і M_2). Через 30 діб після щоденного отримання згаданого вище пестициду, метаболіт M_2 визначався у внутрішньому жиру (0,068 мг/кг), а також в менших кількостях у печінці, легенях і вмісті м'язового шлунка. В групі курей, яка отримувала нурел-Д у кількості 5,0 мг/кг метаболіт M_2 визначався у внутрішньому жиру і інших тканинах у більших концентраціях (0,081 – 0,005 мг/кг). Через 60 діб надходження нурелу-Д, метаболіти хлорпірифосу M_1 і M_2 не були визначені.

Після дослідження динаміки розподілу другої складової частини нурелу-Д – циперметрину, в організмі курей за умови двомісячного щоденного надходження в кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг корму встановлено, що в першій дослідній групі наявність його була нижчою межі величин визначення протягом усього досліду.

У курей другої дослідної групи (5,0 мг/кг) циперметрин було виявлено лише в крові (0,094 мг/кг) через 30 діб після надходження пестициду. В інші терміни та в інших органах наявність його була нижчою за межі величин визначення.

Встановлено, що хлорпірифос не виділявся з білком. Наявність його в жовтку яєць птиці, яка отримувала пестицид у кількості 1,0 мг/кг дорівнювала 0,014 – 0,021 мг/кг. Через 14 діб, після припинення надходження інсектициду, хлорпірифос у жовтку визначався в кількості 0,014 мг/кг. Метаболіти M_1 і M_2 , а також циперметрин у білку і жовтку не виявлено або в деяких випадках були на межі величин визначення.

У жовтку яєць від курей, що отримували нурел-Д у кількості 5,0 мг/кг, визначали значно більшу кількість хлорпірифосу (0,199 мг/кг) і циперметрину (0,070 мг/кг). Хлорпірифос і його метаболіт M_1 встановили в жовтку і через 45-58 діб надходження пестициду. Через 14 діб після припинення згодовування токсиканту в жовтку визначався лише хлорпірифос у кількості 0,015 мг/кг.

Отже, у випадках хронічної інтоксикації хлорпірифос визначався у внутрішньому жиру, головному мозку, серці, легенях, крові, печінці, нирках, білих і червоних м'язах, вмісті м'язового шлунка і товстої кишки, а також в жовтку яєць. Метаболіти хлорпірифосу M_1 і M_2 виявлялись лише в деяких органах на межі величин визначення або зовсім не встановлено.

Залишкові кількості піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в рослинних об'єктах

Залишкові кількості ф'юрі у рослинних об'єктах. Для системи забезпечення здоров'я тварин від отруень необхідно доскональне вивчення хімічних і токсикологічних властивостей пестицидів (терміни збереження їх у навколишньому середовищі, напрямки дезінтоксикації та шляхи перерозподілу за ланцюгом: ґрунт – рослина – тварина). Залишкові кількості зетаціперметрину за його використання в рільництві в літературі не наведені.

Залишкові кількості зетаціперметрину вивчали в ґрунті, бульбах і бадиллі картоплі за обробки рослин у процесі вегетації. Ділянки картоплі обробляли дворазово з інтервалом 7 діб у кількості, що рекомендувала фірма-виробник.

Через 2, 10 і 30 діб після другої обробки дослідним пестицидом відбирали проби бадилля, бульб і ґрунту для досліджень. За час проведення експерименту зберігались вологі погодні умови, майже кожен день випадав дощ. Денна температура коливалась у межах від $+23^{\circ}\text{C}$ до $+29^{\circ}\text{C}$, нічна від $+18^{\circ}\text{C}$ до $+24^{\circ}\text{C}$. Результати хроматографічних досліджень показали, що вже через 2 доби зетаціперметрин визначався лише в бадиллі у кількості до $0,404 \pm 0,154$ мг/кг. У ґрунті та бульбах на цей і подальші терміни досліджень залишкових кількостей зетаціперметрину не виявлено. В бадиллі пестицид встановлено на 10 добу – до $0,145 \pm 0,081$ мг/кг. На 30 добу дослідження залишки зетаціперметрину в бадиллі були на нижній границі межі величин визначення.

Отже, залишкові кількості ф'юрі (зетаціперметрин) визначались лише в бадиллі картоплі на різних етапах вегетації цієї культури.

Залишкові кількості комбінованого пестициду нурелу-Д у рослинних об'єктах. Після використання багатокомпонентних пестицидів у рільництві настало питання вивчення термінів збереження залишкових кількостей, обов'язково, всіх активних інгредієнтів препарату в об'єктах довкілля.

Діючі компоненти нурелу-Д визначали в ґрунті, бульбах і бадиллі картоплі. Картоплю обробляли ручним розприскувачем. Кожну ділянку обробляли дворазово дослідним пестицидом у кількості, що рекомендувала фірма-виробник. Через 1, 7, 21 і 28 діб після другої обробки досліджень відбирали проби бадилля, бульб картоплі та ґрунту. На час проведення експерименту зберігалась суха спекотна погода. Денна температура коливалась у межах від $+29^{\circ}\text{C}$ до $+34^{\circ}\text{C}$, нічна від $+18^{\circ}\text{C}$ до $+24^{\circ}\text{C}$. Результати хроматографічних досліджень показують, що вже через одну добу хлорпірифос визначався в усіх пробах. Найбільша його кількість була виявлена в ґрунті ($0,142 \pm 0,028$ мг/кг). Встановлено також досить швидкий метаболізм хлорпірифосу в ґрунті. Метаболіт (M_1) визначався в ґрунті у кількості $0,226 \pm 0,015$ мг/кг.

Найбільша кількість хлорпірифосу в бадиллі картоплі була встановлена в першу добу після обробки картоплі нурелом-Д. В подальші терміни вона знижувалась. На 21 добу кількість залишків хлорпірифосу та циперметрину в бадиллі картоплі була нижчою за межі величин визначення. В бульбах картоплі залишкові кількості хлорпірифосу були нижчі, ніж в бадиллі, але залишки згаданого вище токсиканту продовжували зростати протягом 7 діб після обробки. На 21 добу вони були нижчими за межі величин визначення. Виявлення метаболіту M_1 у пробах ґрунту вказує, що метаболічні перетворення найбільш інтенсивно проходять саме в ґрунті.

Другий діючий компонент нурелу-Д – циперметрин нами в жодній з проб, що досліджувались, не виявлявся.

Отже, залишкові кількості нурелу-Д виявлялись у ґрунті, бадиллі та бульбах картоплі на різних етапах вегетації. Найбільша частка залишкових кількостей пестициду припадала на хлорпірифос, який сконцентрований здебільшого в ґрунті і бадиллі. На 21 добу після обробки картоплі дослідним пестицидом залишкова кількість хлорпірифосу була на межі величин визначення, а циперметрин взагалі не виявлено.

Токсикодинаміка піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками за експериментального токсикозу у курей

Токсикодинаміка піретроїду ф'юрі в організмі курей за експериментального гострого отруєння. Через 6 годин після одноразового перорального введення ф'юрі в дозі 2,5 мг/кг маси тіла у курей встановлено легке пригнічення. За введення згаданого вище пестициду в дозі 1,0 мг/кг маси тіла клінічних ознак токсикозу не встановлено. Однак, рівень гемоглобіну за цих умов у курей знижувався на 19,4 – 18,4% проти контролю. Концентрація глюкози навпаки підвищувалась на 9,3%, а пірвіноградної кислоти в крові курей обох дослідних груп майже в усі терміни досліджень підвищувалась на 42,9%. Після визначення глікогену у печінці курей дослідних і контрольної груп вірогідних змін не було встановлено. І таким чином, навіть за відсутності клінічних ознак токсикозу, ф'юрі викликав певні суттєві зміни обміну вуглеводів та дезінтоксикаційної функції печінки.

Активність АСТ у плазмі крові курей після введення ф'юрі через 4 години мала тенденцію до підвищення. Однак, уже через добу, в курей обох дослідних груп, активність цього ферменту знижувалась ($P < 0,02$). Активність АСТ у серці курей, які одержали ф'юрі в дозі 2,5 мг/кг маси тіла на початку розвитку токсикозу зростала на 11,4%, а потім нормалізувалась. Уже через 4 доби спостерігалось зниження активності АСТ у тварин першої групи на 10,7%, а другої на 32,7% ($P < 0,05$). Такі зміни в активності АСТ та інших біохімічних показників можуть свідчити про наявність в організмі пошкоджених клітин печінки та порушення функції цього органу.

Введення ф'юрі в організм курей уже через 4 години викликає різке пригнічення активності псевдохолінестерази у плазмі крові (68,4 – 68,6%) проти контролю. У той же час, пестицид не впливав на активність суми естераз (карбоксилестераза, арілестераза й інші). Активність загальної лактатдегідрогенази в плазмі крові курей другої дослідної групи, яка одержала токсикант у дозі 2,5 мг/кг маси тіла підвищилась на 20,9%. Активність лужної фосфатази в серці зросла в 2,5 – 2,7 рази, порівняно з контролем, що вказує на досить серйозні біохімічні порушення в цьому органі. Активність фруктозодифосфатальдолази мала тенденцію до зниження в печінці та нирках курей, які одержали пестицид у дозі 1,0 мг/кг маси тіла.

Отже, встановлені нами біохімічні зміни під впливом ф'юрі можуть свідчити про порушення процесів окиснювання, фосфорилування та функцій нервової системи організму курей.

Токсикодинаміка піретроїду ф'юрі за розвитку експериментального хронічного отруєння курей. Тривале щоденне введення пестицидів у малих дозах має свої особливості

токсикодинаміки, пов'язані з ефектами функціональної або матеріальної кумуляції. Після проведення клінічних спостережень за тваринами, які 60 діб щоденно отримували ф'юрі в кількостях 0,5 мг/кг і 2,5 мг/кг корму, спостерігали легке загальне пригнічення на початку експерименту у курей другої дослідної групи.

Маса головного мозку курей, які одержували дослідний пестицид у кількості 0,5 мг/кг корму, через 30 діб після початку його надходження збільшилась на 16,7%, порівняно з контрольною групою, а маса серця в тварин у обох дослідних груп збільшилась відповідно на 8,9% та 24,4%. На підставі цього можна передбачити, що ці органи є потенційними мішенями, які найбільш уразливі під впливом малих кількостей токсиканту.

Через 60 діб від початку надходження пестициду рівень гемоглобіну знизився в крові курей обох дослідних груп. Найбільш суттєві зміни встановлені нами після введення зетаціперметрину з боку активності ферментів АСТ і АЛТ, які є індикаторними ензимами стану печінки. Вже через 30 діб після початку надходження згаданого вище пестициду в кількості 2,5 мг/кг корму спостерігалось зниження активності АСТ у плазмі крові на 26,9% і АЛТ на 52,8% проти контролю. Причому зниження активності цих ферментів збереглося навіть і через 14 діб після припинення надходження дослідного пестициду, що вказує на стійке порушення клітинних оболонок.

Активність фруктозодифосфатальдолази в плазмі крові у курей що одержували ф'юрі в кількості 2,5 мг/кг корму, знижувалась на 27% через 30 діб, а псевдохолінестерази на 30%. Слід відзначити, що активність ферментів в органах і тканинах курей мала таку ж закономірність, як і в плазмі крові. Активність фруктозодифосфатальдолази в тонкій кишці через 60 діб після початку надходження згаданого вище пестициду в тварин другої дослідної групи (кількість 2,5 мг/кг корму) знизилась в 1,13 рази проти контролю. А активність загальної лактатдегідрогенази була пригніченою (в 1,24 рази) лише в нирках у курей, які одержували ф'юрі в кількості 2,5 мг/кг корму.

Отже, результати вивчення токсикодинаміки ф'юрі свідчать про те, що згаданий вище пестицид за надходження протягом 60 діб у кількостях 0,5 і 2,5 мг/кг корму клінічних симптомів токсикозу у курей не викликав. Однак, зростання коефіцієнтів маси головного мозку та серця свідчить про певні деструктивні зміни в цих органах, а зниження рівня гемоглобіну в крові може вказувати на розвиток гіпоксії в організмі тварин. Пригнічення активності АСТ і АЛТ, фруктозодифосфатальдолази, псевдохолінестерази та інших ферментів свідчить про гальмування ферментних систем організму під впливом дослідного токсиканту.

Токсикодинаміка комбінованого пестициду нурелу-Д за експериментального гострого отруєння у курей. Введення нурелу-Д курям у дозі 10,0 мг/кг маси тіла викликає короткочасне пригнічення. При введенні дослідного пестициду у дозі до 20,0 мг/кг маси тіла спостерігалось у курей закриття очей, зниження апетиту, сонливість та більш виражене пригнічення. Дві тварини із цієї групи загинуло. Патологоанатомічні зміни характеризувались наявністю крові в черевній порожнині, яка незгорнулась і була темно-червоного кольору. Виявлено набряк паренхіматозних органів. Маса серця у курей другої дослідної групи збільшилась на 30,8%.

Біохімічні показники у піддослідних курей обох груп були нестабільними. Концентрація піровиноградної кислоти через 4 години збільшилась на 24,6 і 9,2%, а молочної кислоти у курей,

що отримували пестицид у дозі 20,0 мг/кг маси пестициду через 4 години зменшувалась на 30,5%.

Введення нурелу-Д у дозах 10,0 і 20,0 мг/кг маси тіла через 4 години викликало стабільне зростання активності АСТ і АЛТ. Активність псевдохолінестерази у плазмі крові курей обох дослідних груп знижувалась, що призводило до порушення обміну нейромедіаторів, пригнічення центральної нервової системи. Активність цього ферменту у плазмі крові продовжувала бути зниженою на 70-75% і через одну добу після введення пестициду. Активність естераз (карбоксилестераза, арілестераза і інші) знижувалась через одну добу після введення піретроїду на 53,3% і 56,7%. Активність загальної лактатдегідрогенази в плазмі зростала лише відразу після введення дослідного пестициду до $6,89 \pm 0,14$ ммоль/год \times л у першій дослідній групі курей і до $7,66 \pm 0,31$ ммоль/год \times л у другій дослідній групі порівняно з контролем ($6,34 \pm 0,09$ ммоль/год \times л).

Активність загальної лактатдегідрогенази зростала в головному мозку через одну добу в тварин обох дослідних груп. У червоних м'язах через 3 доби активність лактатдегідрогенази в обох дослідних групах вірогідно знижувалася. Вважаємо, що характер змін активності лактатдегідрогенази в плазмі крові і тканинах тварин що досліджувались вказує на наявність порушень процесів фосфорилування.

Активність фруктозодифосфатальдолази у плазмі крові курей обох дослідних груп через 4 години зроста до $1,74 \pm 0,04$ і $1,76 \pm 0,03$ ммоль/год \times л. Підвищення активності фруктозодифосфатальдолази встановлено також у м'язі серці через 4 години після введення нурелу-Д у дозі 10,0 мг/кг (в 1,13 рази), а курей, які одержали 20,0 мг/кг маси тіла пестициду через одну добу в 1,27 разів. У протилежність цьому згаданий вище токсикант викликав зниження активності лужної фосфатази в плазмі в усі терміни дослідження. Однак, у серці, в тварин групи, які одержували цей пестицид у дозі 20,0 мг/кг маси тіла, через 4 години після введення, активність лужної фосфатази зроста в 2,09 рази. Через одну добу підвищення активності цього ферменту збереглося до 1,27 – 2,14 рази.

Отже, визначений нами характер біохімічних змін за впливу нурелу-Д свідчить про порушення в нервовій системі та в окремих функціях обміну вуглеводів у курей.

Токсикодинаміка нурелу-Д за експериментального хронічного отруєння у курей.

Після тривалого щоденного надходження нурелу-Д клінічні ознаки виявили лише у курей, які отримували дослідний пестицид у кількості 5,0 мг/кг корму, через 14 діб від початку його надходження до організму у вигляді пригнічення, яке продовжувалось упродовж двох тижнів.

Через 30 діб після початку надходження інсектициду маса головного мозку зменшувалась на 19,05%, а маса печінки у курей другої дослідної групи зростала на 35,94%. Кількість еритроцитів під впливом щоденного надходження нурелу-Д збільшувалась на 21,5%. Концентрація піровиноградної кислоти збільшилась на 22,7%, а молочної кислоти на 35,5%. Найбільш виражені та вірогідні ці зміни встановлені у курей другої дослідної групи, що одержували пестицид у більшій кількості.

Активність АСТ у плазмі крові була не стабільною. У першому періоді досліді вона вірогідно знижувалась, а у другому навпаки зростала. Це явище можна пов'язувати з функцією печінки, як основного органу, що в першу чергу реагує на введення токсикантів. Активність АЛТ

через 30 діб у серці знижувалась у курей, які отримували нурел-Д у кількості 1,0 мг/кг корму (в 1,41 рази), а у тварин групи, які отримували його в кількості 5,0 мг/кг корму, навпаки, підвищувалась (у 2,43 рази проти контролю).

Активність псевдохолінестерази в курей обох груп, як і слід очікувати, пригнічувалась, корелюючи як з кількістю, так і тривалістю надходження отрути до організму.

Активність фруктозодифосфатальдолази зросла у плазмі курей другої групи через 60 діб в організмі, що, мабуть, зв'язано з явищем кумуляції і накопиченням пестициду у такій кількості, яка почала викликати певні порушення обміну вуглеводів і в, першу чергу, процесів фосфорилування.

Активність АСТ у печінці, як і в крові, знижувалась (в 1,24 рази), а АЛТ в той же час знижувалась у 1,54 рази. Через 60 діб вона залишалась нижчою у групі, яка отримувала 5,0 мг/кг нурелу-Д (у 1,76 рази порівняно з контролем).

Активність лужної фосфатази під впливом пестициду знижується в нирках у 1,92 рази, фруктозодифосфатальдолази в печінці – у 1,17 – 1,25 рази, активність фруктозодифосфатальдолази в 1,29 рази проти контролю. Пригнічуючий вплив інсектициду на активність фруктозодифосфатальдолази був настільки сильним, що навіть через 14 діб після припинення надходження токсиканту активність фруктозодифосфатальдолази лишалась нижчою у 1,25 рази порівняно з контролем.

Отже, нурел-Д за тривалого щоденного надходження в організм курей у кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг корму викликав згладжені клінічні ознаки отруєння. Збільшення концентрацій піровиноградної та молочної кислот, як метаболітів обміну вуглеводів, свідчить про порушення певних ланцюгів утворення енергії в організмі.

Експериментально-теоретичне обґрунтування максимально-допустимих рівнів піретроїдних пестицидів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в кормах для тварин

Обґрунтування максимально-допустимих рівнів ф'юрі в кормах для тварин. Проведені дослідження свідчать про те, що інтоксикація ф'юрі викликає у тварин порушення функції нервової системи та дихання. Характер токсичної дії згаданого вище пестициду обумовлюється блокуванням проходження нервового імпульсу по аксонах центральної і периферичної нервової системи. Отруєння тварин викликають зміни в концентрації молочної і піровиноградної кислот, глюкози та активності ферментів – псевдохолінестерази, загальної лактат-дегідрогенази, фруктозодифосфатальдолази, лужної фосфатази у плазмі крові курей. Загальна схема впливу ф'юрі на ферменти представлена на рис. 3. Дані цієї схеми віддзеркалюють основні функціональні та клініко-біохімічні процеси в різних паренхіматозних органах у випадках гострих та хронічних токсикозів.

Отже, за характером клінічних, гематологічних і біохімічних змін в організмі тварин за виникнення гострої і хронічної інтоксикації ф'юрі можна вважати, що концентрація піретроїду на рівні 0,5 мг/кг корму наближається до порогової. Але, враховуючи те, що навіть ф'юрі у кількості

0,5 мг/кг в кормі викликав при багаторазовому введенні в організм зміни окремих біохімічних показників, за визначення токсико-гігієнічних параметрів ми вибрали підвищений коефіцієнт безпеки – 5. З урахуванням цього коефіцієнту ми пропонуємо наступні МДР ф'юрі (зетациперметрин) у кормах для сільськогосподарських тварин (табл. 3).

Таблиця 3

Максимально допустимі рівні ф'юрі в кормах

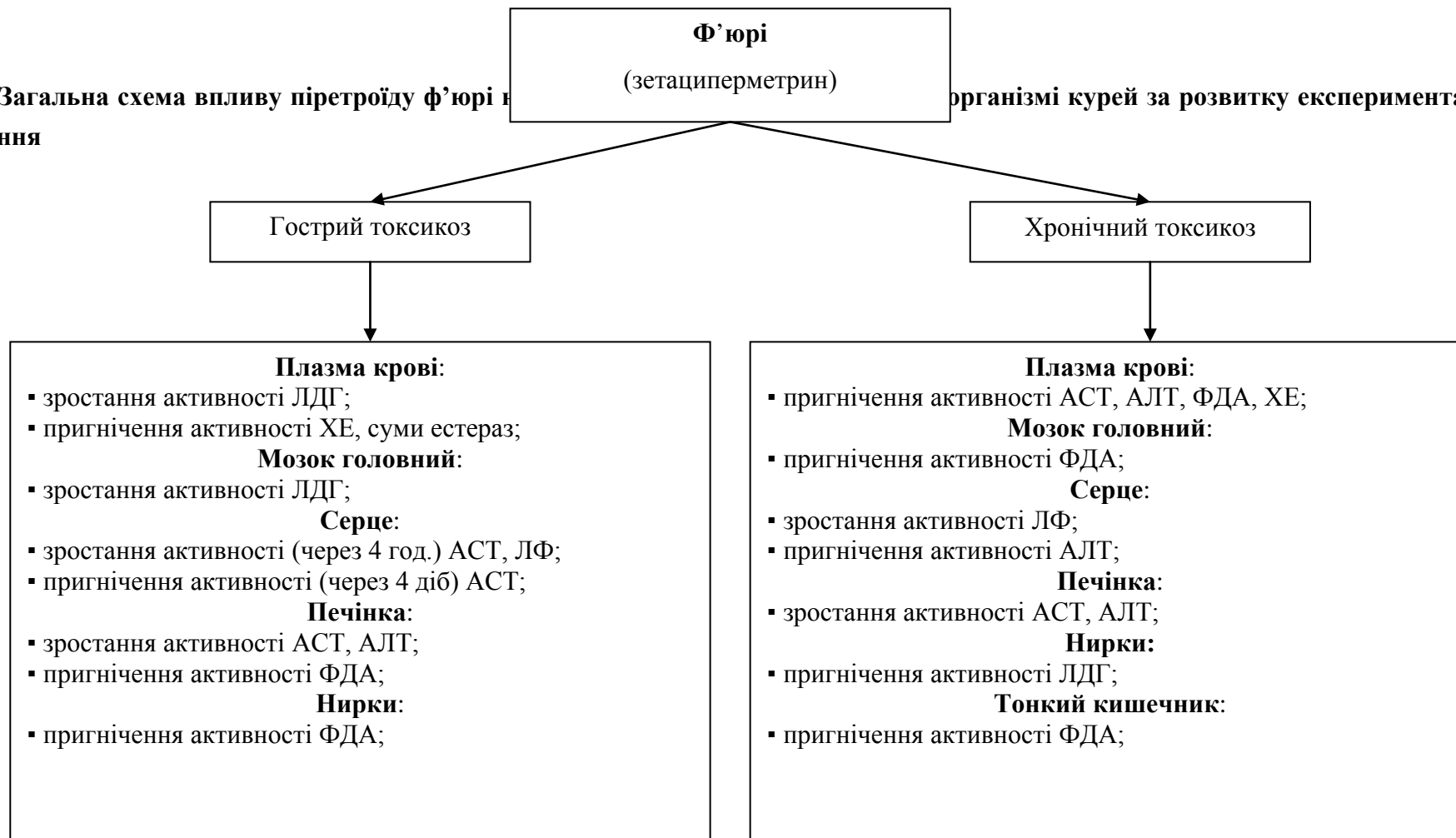
Технологічна група тварин	МДР діючого компоненту ф'юрі (зетациперметрин) у мг на 1 кг корму
Тварини на відгодівлі	0,02
Кури-несучки	не доп.*

Примітка: * - межа визначення 0,002 мг/кг для зетациперметрину

Обґрунтування максимально-допустимих рівнів нурелу-Д у кормах для тварин. У механізмі токсичної дії нурелу-Д домінуючу роль відіграють як порушення функції нервової системи, так і роботи легень, нирок і інших паренхіматозних органів. Характер токсичної дії зумовлюється наявністю у пестициді двох компонентів, що належать до різних хімічних груп із відмінностями в механізмі дії. Так, хлорпірифос є інгібітором естераз, блокує нікотин-ацетилхолінові рецептори. Циперметрин блокує проходження нервового імпульсу по аксонах центральної і периферичної нервової системи, впливаючи на натрієві канали. Під впливом комбінованих піретроїдних пестицидів виявлено порушення вуглеводно-фосфорного обміну, окисно-відновних реакцій. Після отруєння тварин згаданим вище пестицидом нами встановлені зміни в концентрації молочної і пірвіноградної кислот, глюкози, активності ферментів – загальної лактатдегідрогенази, фруктозодифосфатальдолази, лужної фосфатази в плазмі крові курей, а також різке пригнічення активності псевдохолінестерази. Загальна схема впливу нурелу-Д на ферменти представлена на рис. 4. Оцінюючи в цілому характер клінічних, гематологічних і біохімічних змін в організмі тварин за виникнення гострої і хронічної інтоксикації нурелом Д можна вважати, що концентрація пестициду на рівні 1,0 мг/кг корму наближається до порогової.

Оскільки, нурел-Д навіть у найменшій кількості, що вивчалась (1,0 мг/кг у кормі), викликає за багаторазового введення в організм зміни окремих біохімічних показників, ми вибрали підвищений коефіцієнт безпеки – 5. Враховуючи це, ми пропонуємо наступні МДР нурелу-Д (хлорпірифос+циперметрин) у кормах для сільськогосподарських тварин (табл. 4).

Рис.3 Загальна схема впливу піретроїду ф'юрі в організмі курей за розвитку експериментального отруєння



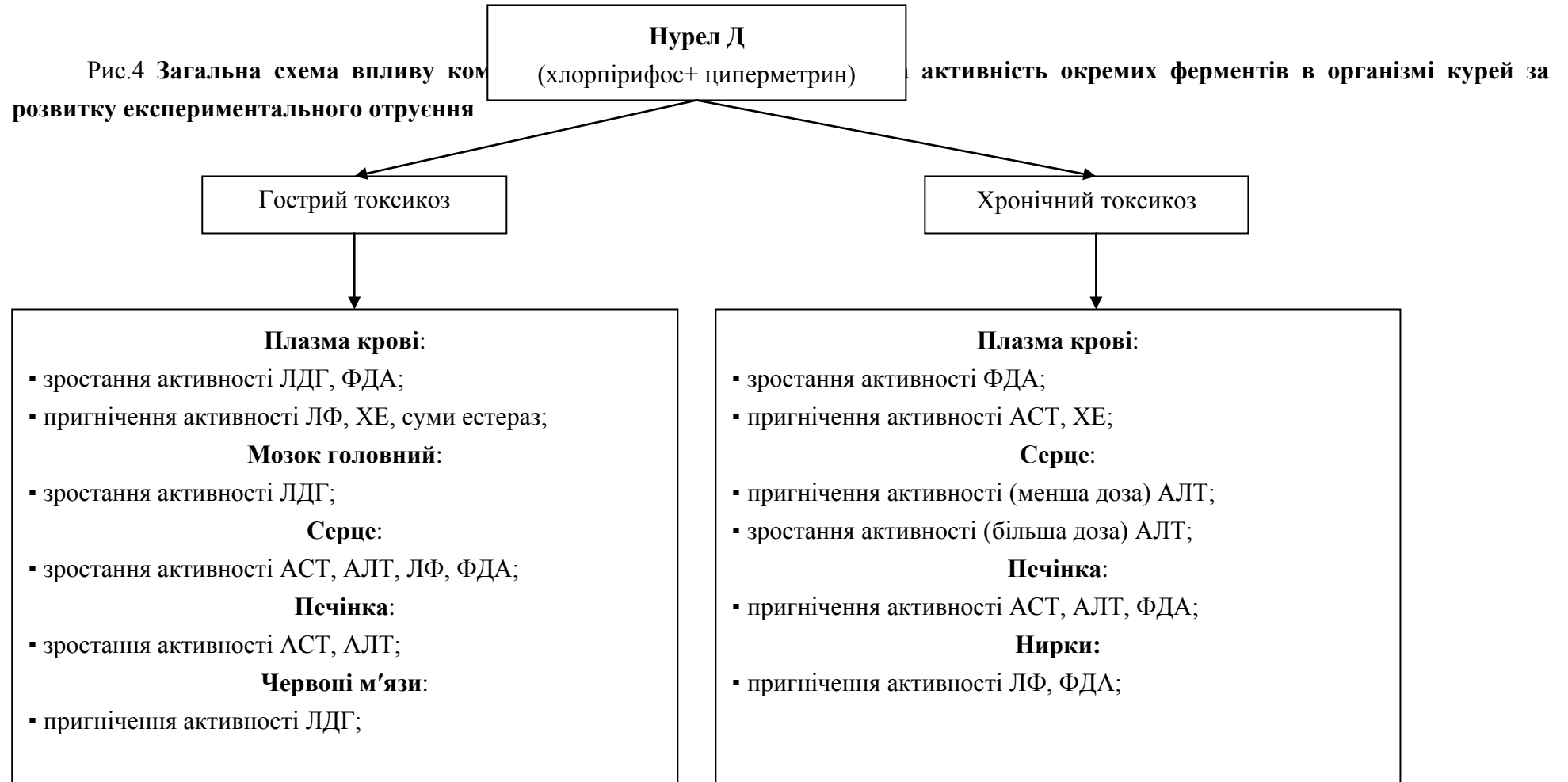
Максимально допустимі рівні діючих компонентів нурелу-Д у кормах

Технологічна група тварин	МДР діючих компонентів нурелу-Д у мг на 1 кг корму	
	Хлорпірифос	Циперметрин
Тварини на відгодівлі	0,2	0,02
Кури-несучки	0,05	не доп.*

Примітка: * – межа визначення 0,002 мг/кг для циперметрину;

Отже, в результаті проведених експериментально-теоретичних досліджень нами виконана важлива науково-практична задача щодо регламентації залишкових кількостей піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в кормах для тварин, розроблені методи діагностики. Система профілактичного моніторингу, що базується на розроблених нами токсико-гігієнічних регламентах, буде забезпечувати одержання безпечної високоякісної продукції тваринного походження та профілакувати випадки гострих і хронічних отруєнь сільськогосподарських тварин.

Рис.4 Загальна схема впливу ком
розвитку експериментального отруєння



ВИСНОВКИ

1. У дисертації на основі проведених комплексних токсикологічних і фізіолого-біохімічних досліджень запропоновано новий науковий підхід, який полягає у дослідженні піретроїду ф'юрі (зетациперметрин) та комбінованого пестициду нурелу-Д (хлорпірифос+циперметрин), що на основі теоретично-експериментальних обґрунтувань по-новому, комплексно розв'язує проблему визначення та обмеження пестицидів у кормах для тварин, яке запобігає виникненню отруєнь та забрудненню навколишнього середовища. Представлені матеріали експериментально-теоретичного обґрунтування токсико-гігієнічних регламентів дослідних пестицидів відіграють важливу роль у науковому та практичному плані для ветеринарної медицини.

2. Розроблені теоретичні основи і уніфіковані методики визначення групи піретроїдів (циперметрин, лямбда-цигалотрин, дельтаметрин і інші), піретроїду ф'юрі (зетациперметрин) та комбінованого пестициду нурелу-Д (хлорпірифос+циперметрин) в об'єктах тваринного походження способом газорідинної хроматографії з чутливістю для піретроїдів 0,02 – 0,1 мг/кг і повнотою виявлення 59 – 76%, а хлорпірифосу – відповідно 0,01 – 0,025 мг/кг та повнотою виявлення 58 – 62%. Визначені валідаційні характеристики в усіх розроблених методик згідно з вимогами „Стандарту ISO 17025” і „Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів EC 657/2002”.

3. Піретроїд ф'юрі у формі 10% в.е. та нурел-Д 55% к.е. відносяться до групи високотоксичних пестицидів. ЛД₅₀ їх для білих щурів за перорального їх введення складають відповідно 4,93±0,62 і 74,70±17,08 мг/кг маси тіла.

4. Вивчення токсикокінетики піретроїду ф'юрі за одноразового перорального введення в організм тварин (білі щури, кури) свідчить про те, що він швидко всмоктується із травного каналу і розподіляється в усі органи і тканини. У щурів найбільша кількість залишкових кількостей зетациперметрину виявляється починаючи з 4-ої годин (у вмісті товстої кишки – 2,369±0,572 мг/кг, вмісті шлунка – 1,504±0,831 мг/кг, серці – 0,045±0,011 мг/кг, легенях – 0,031±0,006 мг/кг, нирках – 0,028±0,014 мг/кг, в крові 0,025±0,004 мг/кг, головному мозку – 0,024±0,009 мг/кг і м'язах – 0,020±0,003 мг/кг). В інших органах і тканинах (печінка, м'язи, внутрішній жир, вміст шлунка і товстої кишки) залишки зетациперметрину визначаються у величинах слідових кількостей. Основна маса пестициду виділяється з калом в перші дві доби після його введення (1,307±0,295 і 0,736±0,454 мг/кг). У курей зетациперметрин виділяється з яйцями і переважно з жовтком.

5. Нурел-Д за одноразового перорального введення в організм тварин (білі щури, кури) є ліпотропним пестицидом і вивчення токсикокінетики його показало, що він швидко всмоктується із травного каналу і розподіляється в усі органи і тканини. Хлорпірифос, як складова частина нурелу-Д у щурів визначається вже в перші години після введення у внутрішньому жирі (8,028±0,14 мг/кг). Великі кількості хлорпірифосу встановлено у вмісті шлунка і товстої кишки, внутрішньому жирі, печінці, легенях та нирках (0,097±0,05 – 3,527±2,95 мг/кг). Залишкові кількості циперметрину у той же час визначаються у вмісті товстої кишки і шлунка, печінці, крові, внутрішньому жирі і легенях. Хлорпірифос у відносно незначних кількостях залишається в деяких

органах і тканинах шурів протягом 45 діб. Основна частка хлорпірифосу виводиться з сечею і каловими масами протягом 10 діб.

Через 4 години після введення нурелу-Д курям у дозах 10,0 і 20,0 мг/кг маси тіла хлорпірифос виявлено в умісті товстої кишки, головному мозку, жирі і нирках. Залишкові кількості його продовжують виявлятися протягом 14 діб. Циперметрин через 4 години після введення також визначається у вмісті товстої кишки, крові і печінці. Через 3 доби він виявляється лише в печінці і вмісті м'язового шлунка. Після одноразового перорального введення нурелу Д курям у дозах 10,0 і 20,0 мг/кг маси тіла протягом 1 – 14 діб з яйцями виділяється лише хлорпірифос та його метаболіти.

6. Встановлено, що в організмі курей при введенні нурелу-Д утворюються два метаболіти хлорпірифосу: M_1 і M_2 . Метаболіт M_2 знаходиться в усіх органах і тканинах, що досліджувались, на всіх термінах проведення досліду (14 діб). Метаболіт M_1 виявляється в основному на 7-14-у добу після одноразового введення препарату і визначається також у жовтку яєць курей.

7. Тривале, щоденне надходження піретроїду ф'юрі курям у кількостях 0,5 і 2,5 мг/кг корму не супроводжувалось матеріальною кумуляцією його в тканинах. Максимальна залишкова кількість зетациперметрину визначалась у внутрішньому жирі (0,016 мг/кг), серці (0,002 мг/кг), вмісті м'язового шлунка (0,007 мг/кг) і товстої кишки (0,006 мг/кг), а також в білих (0,002 мг/кг) і червоних м'язах (0,003 мг/кг). При збільшенні дози введеного токсиканту концентрація пестициду в тканинах зростає. Через 14 діб після припинення надходження пестициду, зетациперметрин виявлено лише у внутрішньому жирі – 0,022 мг/кг. Через 2-7 діб від початку надходження зетациперметрин встановлено у жовтку яєць (0,0026 мг/кг).

8. Тривале щоденне надходження нурелу-Д тваринам у кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг корму викликає накопичення хлорпірифосу в нирках, внутрішньому жирі (по 0,039 мг/кг) і головному мозку (0,036 мг/кг). Дещо менше хлорпірифосу, було в серці, вмісті м'язового шлунка і товстої кишки, легенях, печінці, білих і червоних м'язах, крові. Збільшення дози пестициду викликає зростання концентрації хлорпірифосу в тканинах. Окрім хлорпірифосу в тканинах визначаються його метаболіти: M_1 і M_2 . Циперметрин встановлено тільки в крові (0,094 мг/кг) через 30 діб від початку надходження пестициду в організм. З яйцями після надходження нурелу-Д виділяється лише хлорпірифос (0,014–0,021 мг/кг) та метаболіт M_1 (0,001 мг/кг) і лише з жовтком. Через 14 діб після припинення надходження пестициду, хлорпірифос, продовжує визначатись в усіх органах та тканинах.

9. При експериментальному гострому отруєнні ф'юрі у дозах 1,0 і 2,5 мг/кг маси тіла у курей відзначається легке пригнічення, яке зникає через декілька годин. Порушень у прийомі корму і води не встановлено. Збільшення концентрації піровиноградної кислоти (до 42,9%) у крові курей під впливом ф'юрі вказує на порушення процесів гліколізу, які призводять до виснаження запасів вуглеводів, розладу діяльності головного мозку в напрямку гальмування нервових імпульсів. Ці процеси ускладнюються розвитком гіпоксії клітин організму у зв'язку зі зниженням рівня гемоглобіну (на 8,2%) в крові.

10. У курей за одноразового перорального введення нурелу-Д у дозі 20,0 мг/кг маси тіла через одну годину встановлено різке пригнічення, сонливість, закриття очей, в'ялий прийом

корму. Кури більше стоять з витягнутими догори шиями або сидять. Кінцівками кури не могли фіксувати свого положення в клітці. Виявлені випадки їх загибелі. При патологоанатомічному розтині цих курей відзначені застійні явища в паренхіматозних органах. Після дослідження курей через 4 години після введення пестициду встановлено вірогідне зростання маси серця у птиці другої дослідної групи (на 30,8%).

11. Після тривалого щоденного надходження піретроїду ф'юрі в організм курей (кількості 0,5 і 2,5 мг/кг корму) клінічних ознак токсикозу не встановлено, але коефіцієнти маси головного мозку та серця зростали на 16,7% і 8,9% через 30 діб після початку надходження пестициду в організм. Через 60 діб у курей обох дослідних груп встановлено зниження рівня гемоглобіну на 14,6% і 8,3% відповідно, що вказує на розвиток гіпоксії в організмі тварин.

12. За тривалого щоденного надходження в організм курей нурелу-Д у кількостях 1,0 і 5,0 мг/кг корму через 14 діб розвивалося пригнічення. Коефіцієнти маси головного мозку через 60 діб від початку надходження пестициду знижувались на 19,05%, серця – на 23,53%, а печінки навпаки зростали на 50,51%. В крові курей дослідних груп встановлено збільшення кількості еритроцитів на 21,5%, концентрації пірвіноградної та молочної кислот (відповідно на 22,7% і 35,5%), що вказує на наявність адаптаційно-компенсаторного синдрому в організмі курей після надходження в організм отрути.

13. Піретроїди та їх комбінації з фосфорорганічними сполуками за розвитку гострих токсикозів у курей викликають зростання у плазмі крові активності загальної лактатдегідрогенази на 8,68 – 20,82%, фруктозодифосфатальдолази на 28,9 – 30,4%, а також зниження активності лужної фосфатази на 41,0 – 52,5% у плазмі крові. При хронічних інтоксикаціях встановлено зниження активності АСТ (на 32,18 – 26,91%) і зростання активності фруктозодифосфатальдолази (на 20,7%), що може свідчити про певні порушення процесів окиснювання та фосфорилування.

14. Під впливом піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками найбільш часто рееструються зміни активності АСТ і АЛТ у печінці та серці, активності лужної фосфатази в серці, активності загальної лактатдегідрогенази в головному мозку та червоних м'язях, активності фруктозодифосфатальдолази в головному мозку та тонкій кишці. В плазмі крові частіше виявляються зміни активності АСТ та фруктозодифосфатальдолази. В зв'язку з цим, для визначення дії піретроїду ф'юрі та комбінованого пестициду нурелу-Д на обмін речовин у птиці можна використовувати визначення активності АСТ, АЛТ, ЛФ і ФДА в печінці, серці і головному мозку. Для прижиттєвої діагностики впливу пестицидів на обмін речовин рекомендуємо проводити дослідження активності АСТ та фруктозодифосфатальдолази у плазмі крові тварин.

15. При обробці картоплі піретроїдом ф'юрі, у рекомендованих кількостях, залишкові кількості зетаціперметрину визначаються лише в бадиллі 0,145 – 0,404 мг/кг. Залишків зетаціперметрину у бульбах картоплі в період збирання врожаю нами не виявлено, що дає можливість використовувати їх при відгодівлі тварин без обмежень.

16. При обробці картоплі нурелом-Д у рекомендованих кількостях, залишкові кількості хлорпірифосу виявлені в бадиллі – 0,037 мг/кг та бульбах картоплі – до 0,015 мг/кг протягом 14 діб після обробки. В ґрунті через 21 добу залишки пестициду виявлялись у кількості 0,142 мг/кг. Поряд із хлорпірифосом у ґрунті виявляли і його метаболіт М₁ (0,226 мг/кг). Залишків

циперметрину в бульбах картоплі нами не встановлено. Залишків обох активних інгредієнтів нурелу Д у бульбах в період збирання врожаю не встановлено, що дає можливість використовувати їх при відгодівлі тварин без обмежень.

17. В основі патогенезу отруєння тварин піретроїдами (ф'юрі /зетаціперметрин/) та їх комбінаціями з фосфорорганічними сполуками (нурел-Д /хлорпірифос+циперметрин/) встановлено порушення функціонального стану холінореактивних систем організму, яке проявляється характерною клінічною картиною інтоксикації, пригніченням активності псевдохолінестерази і комплексу неспецифічних естераз та певними диспропорціями в процесах окиснювання і фосфорилування.

18. Теоретично обґрунтовані і розроблені нормативно-правові документи (МДР) піретроїду ф'юрі і комбінованого пестициду нурелу-Д у кормах для сільськогосподарських тварин. Наявність зетаціперметрину, для тварин на відгодівлі обмежується 0,02 мг на кг корму, а для активних інгредієнтів нурелу-Д, відповідно: для хлорпірифосу – 0,2 мг/кг корму і циперметрину – 0,02 мг на кг корму. У кормах для курей-несучок залишки зетаціперметрину та циперметрину не допускаються, а залишки хлорпірифосу обмежуються на рівні 0,05 мг на кг корму.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Матеріали досліджень увійшли до навчального посібника „Ветеринарна токсикологія” (2002), рекомендованого Міністерством освіти і науки України для студентів вищих навчальних закладів, протокол № 966 від 16.06.2002 року.

За результатами досліджень розроблені наступні методичні рекомендації:

2. „Методичні вказівки щодо одночасного групового визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів в кормах і тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газової та тонкошарової хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол № 15-14/188 від 05.05.2003 року;

3. „Методичні вказівки щодо визначення зетаціперметрину (ф'юрі) в тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) способом газорідної хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 86 від 18.11.2003 року;

4. „Методичні вказівки щодо визначення нурелу-Д в тканинах тваринного походження (м'ясо, внутрішні органи, молоко, жир, яйця) за допомогою газової хроматографії”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, протокол № 15-14/298 від 07.06.2002 року;

5. „Методичні вказівки щодо діагностики, профілактики і лікування тварин за виникнення отруєння комбінованим пестицидом (нурел-Д)”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 59 від 25.05.2004 року;

6. „Максимально допустимі рівні (МДР) комбінованого піретроїдного пестициду нурелу-Д в кормах для сільськогосподарських тварин”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 90 від 27.07.2004 року;

7. „Максимально допустимі рівні піретроїду ф'юрі (зетаціперметрин) в кормах для сільськогосподарських тварин”. Затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України, наказ №33 від 19 квітня 2005 року;

8. „Методичні вказівки щодо діагностики, профілактики і лікування тварин при отруєнні піретроїдом ф'юрі (зетаціперметрин)”. Розглянуті та ухвалені на засіданні методичної комісії ІЕКВМ УААН (протокол №1 від 16.03.2005 року) і направлені для розгляду в Державний департамент ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

А. Посібники

1. Малинин О.А., Хмельницький Г.А., **Куцан А.Т.** Ветеринарна токсикологія: Учебное пособие. – Корсунь-Шевченковский, 2002. – 464с. *(Дисертанту належить частка досліджень щодо токсичності піретроїдів та фітотоксикології).*

Б. Список статей, опублікованих за темою дисертації

2. **Куцан О.Т.**, Малинін О.О. Спосіб одночасного визначення залишків хлорпірифосу і циперметрина при їх сумісній присутності в пробах // Науковий вісник НАУ.– К., 2002.– Вип.55.– С.94–96. *(Дисертант провів експериментальні дослідження, брав участь в інтерпретації отриманих результатів і написанні статті).*

3. Куцан О.Т. Гостра токсичність нурелу Д для щурів // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник.– Харків, 2002.– Вип.80, С.374–378.

4. **Куцан О.**, Малинін О., Новожицька Ю. Токсико-гігієнічний контроль продуктів тваринництва в умовах інтенсивного розвитку агропромислового комплексу країни // Ветеринарна медицина України.– 2002.– №12.– С.17–18.

(Дисертанту належить ідея та розробка системи контролю, яка покладена в основу статті).

5. Куцан О.Т. Засіб ідентифікації та залишкові кількості нурелу Д в об'єктах зовнішнього середовища після обробки картоплі // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2003.– Вип.81.– С.193–198.

6. Куцан О.Т. Вплив нурелу Д на деякі гематологічні показники курей в гострому токсикологічному експерименті // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2003. – Вип.82.– С.336–339.

7. Куцан О.Т. Активність деяких ферментів крові у курей під впливом нурелу Д при його однократному пероральному введенні // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. –Луганськ, 2003.– Вип. № 31/43 Ветеринарні науки. – С.334–339.

8. Куцан О.Т. Особливості хроматографічного аналізу та залишкові кількості зетациперметрину в об'єктах зовнішнього середовища після обробки картоплі // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2004. – Вип.83.– С.138–140.

9. Малінін О.О., **Куцан О.Т.**, Шевцова Г.М. Динаміка активності деяких індикаторних ферментів в організмі курей під впливом комбінованого піретроїдного пестициду // Науковий вісник НАУ. – К., 2004. – Вип.72. – С.216-220 *(Дисертант організував експериментальні дослідження, брав участь в інтерпретації отриманих результатів з статистичною обробкою та написанні статті).*

10. Куцан О.Т. Характер змін деяких ферментів в органах і тканинах курей при гострій інтоксикації нурелом Д // Вісник Причорномор'я. – Одеса, 2004. – Вип. 25. – С.120–127.

11. Куцан О.Т. Динаміка розподілу комбінованого піретроїдного пестициду в організмі курей // Вісник аграрної науки. – 2004. – №11. – С.38–42.

12. Малінін О., **Куцан О.**, Шевцова Г. Динаміка змін активності трансаміназ в організмі курей під впливом комбінованого піретроїдного пестициду в умовах хронічного експерименту // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 12. – С.28–30. *(Дисертант організував експериментальні дослідження, брав участь у інтерпретації отриманих результатів з статистичною обробкою та написанні статті).*

13. Куцан О.Т. Характер змін активності деяких ферментів вуглеводного обміну в органах і тканинах курей під впливом комбінованого піретроїдного пестициду в хронічному експерименті // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2004. – Вип.84.– С.403–409.

14. Куцан О.Т. Визначення деяких показників крові у курей, які отримували комбінований піретроїдний пестицид в хронічному експерименті // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – Полтава, 2004. – Вип. 2.– С.59–61.

15. Куцан О.Т. Токсикокінетика комбінованого піретроїдного пестициду в організмі курей при хронічній інтоксикації // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2004. – Том 6 (№2), Ч.1. – С.44–52.

16. Куцан О.Т. Розподіл комбінованого піретроїдного пестициду в організмі шурів і деякі шляхи його виведення при експериментальному гострому отруєнні // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква, 2004. – Вип.28. – С.106–115.

17. Куцан О.Т. „Отруєння тварин комбінованим піретроїдним пестицидом нурелом Д” // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 10. – С.19–22.

18. Куцан О.Т. Динаміка розподілу зетациперметрину в організмі шурів і деякі шляхи його виведення при експериментальному гострому отруєнні // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2004. – Том 6(№3). – Ч.6. – С.60–66.

19. **Куцан О.**, Малінін О., Новожицька Ю. „Методичні підходи при експериментальному дослідженні валідаційних характеристик методик по визначенню залишкових кількостей токсикантів в об'єктах тваринного походження” // Ветеринарна медицина України. – К. – 2005. – № 4. – С.36–39. *(Дисертанту належить ідея, обробка літературних даних, проведення експериментальних досліджень валідації і участь у написанні статті).*

20. Куцан О.Т. Токсикологічний вплив піретроїду ф'юрі на гематологічні показники курей в гострому експерименті // Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків. – Вип.85, ч.1. – 2005. – С.639–643.

21. Куцан О.Т. Вплив піретроїду ф'юрі на морфологічні і деякі біохімічні показники крові курей в умовах хронічного токсикологічного експерименту // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету.-Луганськ, 2005.– Вип. Ветеринарні науки №50/73. – С.103–108.

22. Куцан О.Т. Активність деяких ферментів в органах і тканинах курей при тривалому надходженні піретроїду ф'юрі до організму в малих дозах // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2004. – Том 7 (№1), Ч.2. – С.166–173.

23. Куцан О.Т. Токсикокінетика піретроїду ф'юрі при тривалому надходженні його до організму курей в малих дозах // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква, 2005. – Вип.31. – С.56–61.

24. Куцан О.Т. Динаміка активності деяких ферментів плазми крові курей при гострому отруєнні піретроїдом ф'юрі // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2005. – Том 7 (№2), Ч.2. – С.55–59.

25. Куцан О.Т. Токсикокінетика піретроїду ф'юрі в організмі курей при експериментальному гострому отруєнні // Науково технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2005. – Вип.6(№2). – С.121–125.

26. Патент Україна 57249 А G 01N33/02. Спосіб визначення нурелу Д в біологічних об'єктах / **О.Т. Куцан**, О.О. Малінін; ІЕКВМ УААН. – 2002054266. – Заявлено 24.05.2002; Опубл. 16.06.2003. Бюл. №6.-2с. (*Дисертант провів експериментальні дослідження і оформив заявку на патент*).

27. Патент Україна 66568 А G 01N33/02. Спосіб визначення зетациперметрину в біологічних об'єктах / О.Т. Куцан; ІЕКВМ УААН. – 2003077014. – Заявлено 25.07.2003; Опубл. 17.05.2004. Бюл. №5. – 6с.

28. Патент Україна 66709 А G 01N33/02. Спосіб визначення хлорорганічних пестицидів і піретроїдів у біологічних об'єктах / **О.Т. Куцан**, О.О. Малінін, Г.М. Шевцова; ІЕКВМ УААН. – 2003109160. – Заявлено 10.10.2003; Опубл. 17.05.2004. Бюл. №5.– 10с. (*Дисертант провів експериментальні дослідження і оформив заявку на патент*).

Куцан О.Т. Експериментально-теоретичне обґрунтування та розробка токсико-гігієнічних регламентів піретроїдних пестицидів і їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками в кормах для тварин. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.04 - ветеринарна фармакологія та токсикологія. – Інститут експериментальної і клінічної

ветеринарної медицини УААН, Харків, 2005.

Використовуючи покращені методичні прийоми екстракції піретроїдів і їх комбінацій з фосфорорганічними пестицидами та очищення проб від коекстрактивних речовин, розроблені принципово нові токсикологічні методики визначення згаданих вище пестицидів в об'єктах тваринного походження. На розроблені методики визначення піретроїдів одержано 3 патенти України.

Вперше одержані дані про вплив піретроїдів та їх комбінацій із фосфорорганічними сполуками на вуглеводно-енергетичний обмін курей. Виявлені інтегральні показники гострого і хронічного отруєння тварин ф'юрі і нурелом-Д у відносно малих дозах, які можуть реально траплятись у кормах після забруднення їх в процесі сільськогосподарського виробництва. Визначена важлива роль окремих біохімічних показників, особливо швидкості ферментативних реакцій тканин внутрішніх органів у комплексній оцінці шкідливого впливу пестицидів на організм тварин.

Проведено комплекс експериментальних токсикологічних досліджень, на лабораторних і сільськогосподарських тваринах, який дав змогу розшифрувати окремі питання патогенезу, розподілу, накопичення, метаболізму і виведення піретроїдів та їх комбінацій з фосфорорганічними сполуками з організму тварин. Вивчені залишкові кількості пестицидів та їх метаболітів у виробничих умовах після використання їх у рільництві на різних стадіях вегетації. На підставі проведених комплексних досліджень уперше в Україні представлена токсикологічна і ветеринарно-санітарна оцінка піретроїду ф'юрі (зетациперметрин) і комбінованого пестициду нурел-Д (хлорпірифос+циперметрин), впроваджені їх МДР у кормах для сільськогосподарських тварин із метою профілактики гострих і хронічних отруєнь та недопущенню забруднення сільськогосподарської продукції залишковими кількостями цих токсичних речовин.

Ключові слова: токсикокінетика і токсикодинаміка піретроїдів та їх комбінацій у щурів і курей, максимально допустимі рівні пестицидів, методики визначення пестицидів, гострі і хронічні токсикози піретроїдними та комбінованими пестицидами у курей, обмін вуглеводів.

Куцан А.Т. Экспериментально-теоретическое обоснование и разработка токсико-гигиенических регламентов пиретроидных пестицидов и их комбинаций с фосфорорганическими соединениями у кормах для животных. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени доктора ветеринарных наук по специальности 16.00.04 - ветеринарная фармакология и токсикология. – Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН, Харьков, 2005.

Разработаны методики определения пиретроидов и комбинированных пестицидов в объектах животного происхождения способом газожидкостной хроматографии. Изучены валидационные параметры разработанных методик с целью гармонизации их по требованиям „Стандарта ISO 17025” и „Европейской инструкции по применению аналитических методов та интерпретации результатов ЕС 657/2002”. Методики признаны изобретением и на них получены 3 патента. Впервые экспериментально определены параметры острой токсичности пиретроида фьюри (зетациперметрин) и комбинированного пестицида нурелла-Д

(хлорпирифос+циперметрин) для белых крыс при пероральном введении. Изучена токсикокинетика этих препаратов в организме крыс, основные пути метаболизма и выведения при остром отравлении (1/2 ЛД₅₀). Впервые раскрыты некоторые механизмы острой и хронической интоксикации пиретроидом фьюри и комбинированным пестицидом нуреллом-Д у кур, в частности влияние их на углеводный обмен. Установлено, что фьюри в дозе 2,5 мг/кг массы тела вызывает у кур незначительное угнетение, которое быстро проходит. Пестицид в обеих изучаемых дозах (2,5 и 5,0 мг/кг) вызывал гипогемоглобинемию, повышение концентраций глюкозы и пировиноградной кислоты, угнетение активности псевдохолинэстеразы в плазме крови, повышение активности ЛДГ, повышение активности АСТ и ЩФ в сердце и снижение активности ФДА в печени и почках, а также возрастание активности ЛДГ в головном мозге.

При однократном пероральном введении нурелла-Д в дозах 10,0 и 20,0 мг/кг массы тела у кур, которые получили большую дозу пестицида, отмечалось резкое угнетение, птица не могла фиксировать положение своего тела в клетке. Биохимическими исследованиями при воздействии нурелла-Д установлено достоверное повышение содержания молочной и пировиноградной кислот в крови, повышение активности АСТ и АЛТ в плазме крови, ЛДГ, ФДА, угнетение активности псевдохолинэстеразы, повышение АСТ в печени и АЛТ в сердце, повышение ЩФ в сердце, ФДА в сердце.

Длительное поступление фьюри и нурелла-Д с кормом вызывало несколько отличительную картину влияния на организм кур. Так, фьюри в количествах 0,5 и 2,5 мг/кг корма клинических признаков токсикоза не вызывал. Однако, при этом отмечен рост весовых коэффициентов мозга и сердца, гипогемоглобинемия, снижение активности АСТ и АЛТ в плазме крови, угнетение активности псевдохолинэстеразы и ФДА, возрастание активности АСТ и АЛТ в сердце и угнетение активности ЛДГ в почках.

При длительном поступлении нурелла-Д в количествах 1,0 и 5,0 мг/кг корма признаки токсикоза у кур были отмечены только под воздействием пестицида от большей дозы, которые характеризовались кратковременным угнетением. Установлено также снижение весовых коэффициентов мозга и увеличение сердца, увеличение концентрации молочной и пировиноградной кислот, угнетение активности псевдохолинэстеразы в плазме крови та АСТ и АЛТ в печени, ЩФ в почках, ФДА в печени и почках.

Таким образом, результаты изучения токсикокинетики фьюри и нурелла-Д показали, что оба препарата обладают выраженными резорбтивными свойствами, практически сразу всасываются и распределяются во все органы и ткани. При длительном поступлении с кормом у этих пестицидов отмечены слабые кумулятивные свойства. При острых и хронических токсикозах у кур возможно выделение остаточных количеств препаратов с желтком яиц.

Изучены закономерности распределения остаточных количеств фьюри и нурелла-Д в производственных условиях при использовании их в технологиях по выращиванию картофеля.

Комплекс проведенных исследований позволил впервые в Украине дать всестороннюю токсикологическую и ветеринарно-санитарную оценку пиретроида фьюри (зетациперметрин) и комбинированного пестицида нурелла-Д (хлорпирифос+циперметрин), а также разработать их МДУ в кормах для сельскохозяйственных животных с целью профилактики острых и хронических

отравлений и недопущению загрязнения остаточными количествами этих пестицидов продуктов животного происхождения.

Ключевые слова: токсикокинетика и токсикодинамика пиретроидов и их комбинаций у крыс и кур, максимально допустимые уровни пестицидов, методики определения пестицидов, острые и хронические токсикозы пиретроидными и комбинированными пестицидами у кур, обмен углеводов.

Kutsan O.T. The experimental-theoretical ground and development of toxic-hygienic regulations by pyrethroids pesticides and their combinations with the phosphor organic compounds in feeds for animals. – Manuscript.

Dissertation for getting a Doctor's degree of veterinary sciences on speciality 16.00.04 - veterinary pharmacology and toxicology. – Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkov, 2005.

Using the improved methodical ways of pyrethroids extraction and their combinations with the phosphor organic pesticides and decontaminating of samples from the co-extractive matters there were developed fundamentally new toxicological methods of determination of these pesticides in the objects of animal origin. There were received 3 patents to the developed methods, including a group method of determination of pyrethroids.

For the first time it was got data about influence of pyrethroids and their combinations with the phosphor organic compounds on the carbohydrate metabolism of chickens. Exposed integral indexes of action character of both acute and chronic poisoning of animals by preparations in the relatively small doses, which can be really met in feeds at their contamination in the process of agricultural production. In the complex estimation of the harmful influencing of pesticides, as chemical contaminants, important role of some biochemical indexes especially speeds of enzyme reactions of tissues and organs was determined.

For the first time there was conducted complex of experimental toxicological researches, on the laboratory and agricultural animals, that gave possibility to decipher some questions of pathogenesis, distributing, accumulation, metabolism and destroying of pyrethroids and their combinations with the phosphor organic pesticides from the organism of animals. Remaining residues of pesticides and their metabolites in the production conditions at their use in the plant-growing were studied. At that terms of vegetation growth of plants in which really can get residues of pesticides at the use of the last in forage for animals were set. Complex of conducted researches gave an opportunity for the first time in the country to present well-founded toxicological and veterinary-sanitary estimation of pyrethroid preparation of furi (zetacypermethrin) and combination pesticide of nurel D (chlorpyrifos+cypermethrin) and to ground their MRL in feeds for the agricultural animals with the purpose of prevention of the acute and chronic poisoning and to prevention of contamination of agricultural product by residues of toxicological contaminants.

Keywords: toxycokinetics and toxycodinamic pyrethroids and their combinations for rats and chickens, maximum residues levels of pesticides, methods of determination of pesticides, acute and chronic intoxications of pyrethroid sand by the combined pesticides at chickens, carbohydrate metabolism.

Підписано до друку 09.09.2005 р. Формат 60×90/16
Друк офсет. Папір офсет. Гарнітура Times NR Cyr.
Умовн. друк. арк. 1,9. Тираж 100 прим.
Надруковано АГЗТ "САММІТ-Харків"
Св.-во ДК № 133 від 01.08.2000 р.
61023, м. Харків, вул. Мироносицька, 86. Тел. 716-22-00