



original article | UDC 616.993.192.1:636.92 | doi: 10.31210/visnyk2020.04.21


DETERMINING PARAMETERS OF DIPROPINATE RESIDUES IN COW MILK AFTER APPLICATION OF IMKAR-120 THERAPEUTIC DOSES


V. A. Levytska¹

A. V. Berezovsky²

A. B. Mushynskiy¹

ORCID  [0000-0003-3100-009X](https://orcid.org/0000-0003-3100-009X)

ORCID  [0000-0002-5825-9504](https://orcid.org/0000-0002-5825-9504)

ORCID  [0000-0003-2850-2355](https://orcid.org/0000-0003-2850-2355)

¹ State Agrarian and Engineering University in Podillia, 13, Shevchenka str, Kamianets-Podilskyi, 32316, Ukraine

² Sumy National Agrarian University, 160, Gerasima Kondratieva str., Sumy, 40000, Ukraine

*Corresponding author

E-mail: Levytska28@gmail.com

How to Cite

Levytska, V. A., Berezovsky, A. V., & Mushynskiy, A. B. (2020). Determining parameters of dipropionate residues in cow milk after application of Imkar-120 therapeutic doses. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, (4), 170–175. doi: 10.31210/visnyk2020.04.21

Bovine babesiosis is an acute, often enzootic, tick-borne disease characterized by fever, anemia, icteric discoloration of the mucous membranes, hemoglobinuria, digestive disorders, and a sharp decrease in milk yield of dairy cows. Imidocarb is considered one of the most effective and safest of all available medicines for parasitic blood diseases. The aim of our study was to determine the amounts and timing of imidocarb excretion with milk in lactating cows. Milk sampling for the preparation testing was carried out in early June of 2020 from five cows from the herd of a private farmer in the village of Slobidka-Kulchiivetska, Kamyanets-Podilsky district, Khmelnytsky region, after the cows were diagnosed with babesiosis and treated with Imkar-120 at a dose of 2 ml per 100 kg of body weight, once, subcutaneously. At the same time, the rest of the cows in the herd was administered this preparation for prophylactic purposes in the same dose. On the first and second days after medicine administration, milk samples were taken twice, and on the third or tenth day, once – during the evening milking. From the milk samples of each cow, 50 ml of milk were taken and one pool sample (250 ml) was formed for investigation. As a result of cow milk studies it was established that during the first day after injection, the level of imidocarb concentration in the pool sample was 560 µg/kg and it gradually decreased over ten days. Pool milk samples contained the residues (46 µg/kg) of imidocarb on the 4 th day. The sample analysis during the next six days of our studies showed that the level of the preparation active substances gradually decreased daily from 39 to 11 µg/kg. According to the established standards for Ukraine, milk containing 50 µg (or less) of imidocarb in 1 kg of milk is allowed for sale. Taking into account the fact that imidocarb dipropionate, the active basis of Imkar-120 Ukrainian generic preparation, is excreted with milk in terms, which coincide with similar medicines of European manufacturers, it can be recommended for the treatment of lactating cows diseased with babesiosis and anaplasmosis.

Key words: babesiosis, cattle, imidocarb propionate, Imkar-120, milk.

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЗАЛИШКІВ ДИПРОПІНАТУ В МОЛОЦІ КОРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ДОЗ ПРЕПАРАТУ ІМКАР-120

В. А. Левицька¹, А. В. Березовський², А. Б. Мушинський¹

¹ Подільський державний аграрно-технічний університет, м. Кам'янець-Подільський, Україна

² Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Бабезіоз великої рогатої худоби – гостра, часто ензоотична, трансмісивна хвороба, яка характеризується гарячкою, анемією, жовтяничністю слизових оболонок, гемоглобінурією, порушеннями функцій органів травлення та різким зменшенням молоковіддачі у дійних корів. Імідокарб вважається одним із найефективніших та найбезпечніших з усіх доступних засобів боротьби з кровопаразитарними захворюваннями. Метою нашого дослідження було з'ясувати кількості та терміни виведення імідокарбу із молоком у лактуючих корів. Відбір проб молока для досліджень препарату проводили на початку червня 2020 року від п'яти корів із череди приватного фермера села Слобідка-Кульчівцецька Кам'янець-Подільського району Хмельницької області, після того, як було виявлено захворювання у корів на бабезіоз та проліковано препаратом «Імкар-120» в дозі 2 мл на 100 кг маси тіла, одноразово, підшкірно. Одночасно і решті корів череди було проведено введення цього препарату з профілактичною метою у такій же дозі. В першу та другу добу після введення препарату проби молока відбирали двічі, а на третю-десяту добу, один раз – під час вечірнього доїння. Від проб молока кожної корови відмірювали по 50 мл молока і формували з них одну збірну пробу (250 мл), яку й досліджували. В результаті досліджень молока від лактуючих корів було з'ясовано, що протягом першої доби після ін'єкції рівень концентрації імідокарбу становив у збірному зразку 560 мкг/кг і поступово знижувався протягом десяти діб. Збірні зразки молока містили залишки (46 мкг/кг) імідокарбу на 4-ту добу. Аналіз зразків протягом наступних шести діб наших досліджень свідчив, що рівень діючої речовини препарату щоденно поступово знижувався з 39 до 11 мкг/кг. Згідно з визначеними нормами для України, допускається в реалізацію молоко, що містить 50 (та менше) мкг імідокарбу в 1 кг молока. Зважаючи на те, що імідокарбу дипропіонат, діюча основа вітчизняного дженеричного препарату «Імкар-120», виводиться з молоком у терміни, які збігаються з аналогічними засобами від європейських виробників, то він може бути рекомендований для лікування лактуючих корів у разі бабезіозної та анаплазмозної інвазій.

Ключові слова: бабезіоз, велика рогата худоба, імідокарбу пропіонат, «Імкар-120», молоко.

Вступ

Бабезіоз великої рогатої худоби – гостра, часто ензоотична, трансмісивна хвороба, яка характеризується гарячкою, анемією, жовтяничністю слизових оболонок, гемоглобінурією, порушеннями функцій органів травлення та різким зменшенням молоковіддачі у дійних корів. Вона найчастіше спричиняється кровопаразитами двох видів *Babesia bigemina* та *B. bovis* [1–3]. Відомо, що біологічними переносниками збудників є кровосисні членистоногі – іксодові кліщі. Під час ссання крові іксодовий кліщ разом зі слиною інокулює мерозоїди збудника хвороби у кров худоби, що й призводить до її інвазування [4].

Для лікування хворої худоби зі специфічних хіміопрепаратів призначають засоби на основі диміназону ацетурату (типу «Азидин-вет») у вигляді 7 % водного розчину в дозі 3,5 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово, або на основі імідокарбу дипропіонату («Імкар-120») у вигляді 12 % розчину в дозі 2,4 мг/кг маси тіла (за ДР) підшкірно або внутрішньом'язово [5, 6]. Проте в Наказі № 2646 Міністерства охорони здоров'я України Про затвердження Показників безпечності харчових продуктів «Максимальні межі (рівні) залишків діючих речовин ветеринарних препаратів у харчових продуктах тваринного походження», що набрав чинності у грудні 2019 року, для диміназону ацетурату не визначено МРЛ (Максимальні рівні ліків) для продуктивних тварин [7]. А відтак препарати на основі диміназону ацетурату вже неможливо використовувати для великої рогатої худоби, а також овець і кіз. Тому з нинішнього року, єдиною діючою речовиною, що дозволена в нашій країні для лікування корів у разі піроплазмозів, є імідокарбу дипропіонат. На жаль, препарати на основі цієї діючої речовини мало відомі практикуючим фахівцям галузі скотарства. Оскільки аналіз свідчить, що 2011 року в Україні було зареєстровано лише один препарат на його основі. Це «Піро-стоп» виробництва компанії «Апі-Сан», Російська Федерація [8], який повторно було перереєстровано 2016 року.

Відомо, що імідокарбу дипропіонат є похідним карбаніліду. Його було синтезовано на початку 70-х років минулого століття. Він має антипротозойну активність, тому почав широко використовуватись у багатьох країнах світу для лікування тварин [9]. Було встановлено, що дипропіонатна сіль є кращою за дигідрохлоридну сіль за рахунок підвищеної розчинності та більш нейтрального рН, що дало можливість зменшити обсяг активної речовини та подразнення [10].

Нині у ветеринарній медицині імідокарбу дипропіонат застосовують для лікування великої рогатої худоби (в дозах від 2,1 до 3,0 мг/кг маси тіла), овець (1,2 мг/кг маси тіла), коней (3,4 мг/кг маси тіла), собак (3,6–6 мг/кг маси тіла) та для інших тварин. За наявності бабезіозу та анаплазмозу препарат уводять підшкірно або внутрішньом'язово. Другу дозу можливо вводити лише через 2 тижні після першої. Крім того, імідокарб забезпечує захист тварин від піроплазмідозів протягом 3–6 тижнів після введення [11].

Механізм селективної токсичності імідокарбу на *Babesia* не до кінця з'ясований. Імідокарб має структурні зв'язки з поліамінами та пригнічує ферменти, що беруть участь у метаболізмі гістаміну, поліаміну та нуклеїнових кислот. Хоча імідокарб є ефективним хіміотерапевтичним засобом, однак існують певні обмеження при його застосуванні. Так, він може виявляти серйозні побічні ефекти: від болю в місці введення, блювоти, діареї, збудження, млявості, периорбітального набряку – до загибелі тварин [12]. Варто також відзначити тривалий період повного виведення імідокарбу, що становить близько 21-ї доби для молока корів та 213 діб – для м'яса [13].

Метаболізм імідокарбу у великої рогатої худоби недостатньо описаний у літературі. Токсичні ефекти, пов'язані з хіміотерапією, є незначними та тимчасовими при низьких дозах імідокарбу у великої рогатої худоби, тоді як більш високі дози спричиняли вогнищевий гепатоцелюлярний некроз та некроз ниркових каналців [14, 15].

Метою нашого дослідження було з'ясувати кількості та терміни виведення імідокарбу із молоком у лактуючих корів. Щоб досягти мети, ми розв'язали такі *завдання*: відібрати клінічно хворих на бабезіоз корів, застосувати препарат на основі імідокарбу («Імкар-120») в терапевтичних дозах для лікування та визначити період його виведення з молоком.

Матеріали і методи досліджень

Відбір проб молока для досліджень препарату проводили на початку червня 2020 року від п'яти корів із приватної череди фермера села Слобідка-Кульчичевецька Кам'янець-Подільського району Хмельницької області, після того, як у його стаді було виявлено захворювання двох корів на бабезіоз та проліковано препаратом «Імкар-120» в дозі 2 мл на 100 кг маси тіла, одноразово, підшкірно. Одночасно і решті корів череди було проведено введення цього препарату з профілактичною метою в такій же дозі.

В першу та другу добу після введення препарату, проби молока відбирали двічі (вранці і ввечері), а на третю-десяту добу, один раз – під час вечірнього доїння. Від проб молока кожної корови відмірювали по 50 мл молока і формували з них одну збірну пробу (250 мл), яку зливали в поліетиленовий пакет з позначкою «для заморозки» та поміщали до морозильної камери побутового холодильника. Таким чином було підготовлено 12 збірних проб, які в контейнері з охолоджувачем, направили до лабораторії НВФ «Бровафарма», де на рідинному хроматографі моделі LC-30 Nesera Shimadzu методом високоефективної рідинної хроматографії з УФ-детектування були проведені дослідження відповідно до рекомендованої методики [16].

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті досліджень молока від лактуючих корів було з'ясовано, що протягом першої доби після ін'єкції рівень концентрації імідокарбу в першому збірному зразку (від вранішнього доїння) становив 560 мкг/кг і поступово знижувався протягом десяти діб (рис. 1).

На другу добу після введення препарату у вранішньому молоці було виявлено 326 мкг/кг імідокарбу, а у вечірньому – 248 мкг/кг. На третю добу рівень концентрації імідокарбу знизився майже у п'ять разів порівняно з першою добою, що свідчило про його швидку елімінацію з організму корів.

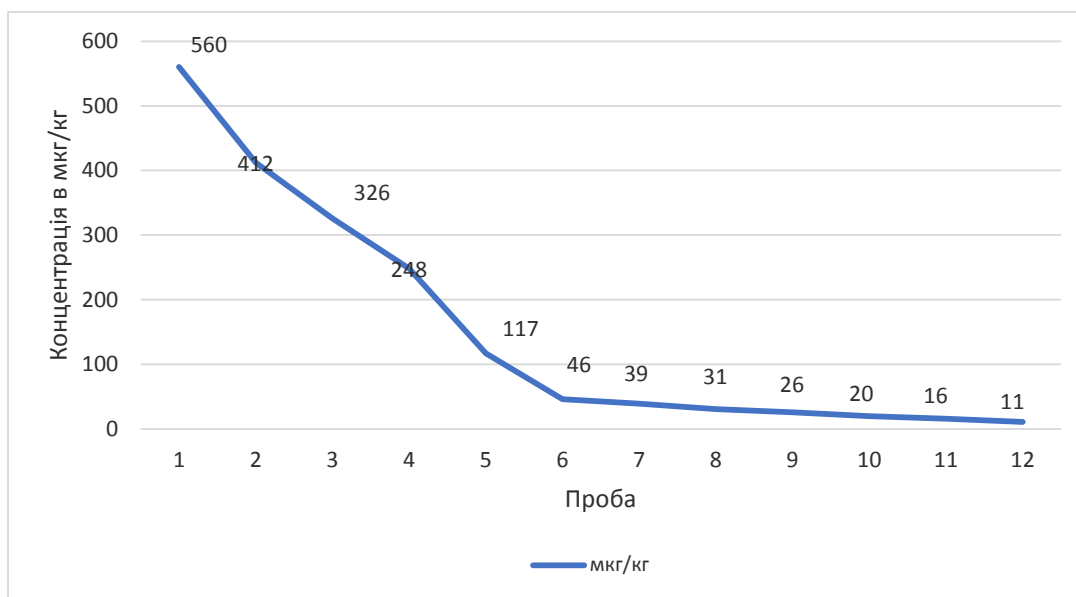


Рис. 1. Рівень імідокарбу дипропіонату у збірних пробах молока лактуючих корів упродовж 10 діб (n=5), після одноразової ін'єкції препарату «Імкар-120» в терапевтичній дозі 2,4 мг/кг

Збірні зразки молока містили залишки (46 мкг/кг) імідокарбу, що граничили з максимально допустимими, на 4-ту добу. Аналіз зразків молока протягом наступних шести діб наших досліджень також свідчив про те, що рівень діючої речовини препарату щоденно поступово знижувався з 39 до 11 мкг/кг.

Економічні збитки від паразитарних хвороб, а саме піроплазмідозів, можуть мати вражаючі розміри [3]. В ендемічних регіонах для продуктивних тварин дуже важливим є питання використання безпечних та ефективних лікарських засобів, які не будуть шкодити здоров'ю людини.

Ветеринарним лікарям, як правило, необхідні препарати, які забезпечують швидкий ефект, особливо у важкохворих тварин. Імідокарб вважається одним із найефективніших та найбезпечніших з усіх доступних засобів боротьби з кровопаразитарними захворюваннями [17, 18]. 2003 року Європейське агентство з оцінки лікарських засобів (ЕМЕА) опублікувало висновки та рекомендації Комітету з питань ветеринарних лікарських засобів (CVMP) з визначенням остаточних гранично допустимих рівнів залишків імідокарбу у тканинах великої рогатої худоби (300 мкг/кг у м'язах, 2000 мкг/кг у печінці, 50 мкг/кг у жирі та 50 мкг/кг у молоці). Однак у літературі є багато повідомлень, що в організмі тварин залишається значна кількість імідокарбу, що викликає певне занепокоєння щодо виробництва тваринної продукції для споживання людиною. Причиною цього є тривала стійкість препарату до процесів біотрансформації, як повідомлялось у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* на великій рогатій худобі та інших продуктивних тваринах [12]. Крім того, спостерігається сильне зв'язування препарату із клітинними компонентами, що спричинює депонування препарату в печінці та нирках. До того ж високі, тривалі концентрації, які були виявлені в мозку, вказують на те, що препарат здатний перетинати гематоенцефалічний бар'єр, що викликає занепокоєння щодо потенційних нейротоксичних ефектів імідокарбу. На відміну від цього, у м'язах виявляють незначну концентрацію [19]. Це призвело до занепокоєння щодо потенційних негативних наслідків, спричинених споживанням людиною молока від тварин після лікування імідокарбом, якщо виробники не дотримуються рекомендованих доз або періодів після скасування прийому препарату.

Раніше проведені фармако-токсикологічні дослідження показали, що значні рівні залишків імідокарбу зберігаються у тканинах великої рогатої худоби та овець протягом 6-ти місяців після застосування [14]. Однак у наших дослідженнях було встановлено, що вже на 4-ту добу після використання препарату, у вечірньому молоці виявили 46,0 мкг/кг імідокарбу, що не перевищувало гранично допустимої кількості речовини, оскільки згідно з визначеними чинними нормами для України (що є адекватні законодавству ЄС), допускається в реалізацію молоко, що містить 50 (та менше) мкг імідокарбу в 1 кг молока.

Описане високе співвідношення імідокарбу в молоці відносно плазми крові, що відображає його швидке проникнення з крові у молоко і накопичення завдяки добре відомому захопленню шляхом

іонізації препарату в молоці. Незважаючи на це, в літературі описані також випадки, коли концентрація імідокарбу була нижчою в молоці, ніж у плазмі крові [17].

Були виявлені суттєві відмінності в періоді елімінації імідокарбу з овечим та козячим молоком. Результати визначення залишків імідокарбу в молоці дрібних жуйних вказують на необхідність великої обережності при визначенні періоду його виведення, особливо при екстраполяції даних з великої рогатої худоби. У овець, як і у великої рогатої худоби, після одноразової ін'єкції в рекомендованій дозі 2,4–3 мг/кг середня концентрація імідокарбу в молоці знижується нижче гранично допустимого рівня, визначеного для коров'ячого молока, через 4–5 днів (10-те доїння). Однак у кіз, через високу мінливість елімінації лікарських засобів через молочну залозу, середні концентрації імідокарбу в молоці були вище допустимих меж ще й на 10-ту добу [21].

У молочних тварин екскреція молочної залози значною мірою сприяє повній елімінації лікарських засобів, тим самим модифікуючи елімінаційний режим відповідно до різних фізіологічних умов (доїння або сухостійний період) [22].

Висновки

1. На 4-ту добу після використання препарату «Імкар-120» у рекомендованій дозі 2 мл/100 кг м.т., (що адекватне 2,4 мг/кг м.т. імідокарбу дипропіонату), в молоці дослідних корів виявляли майже гранично допустиму законодавством концентрацію імідокарбу (46 мкг/кг). У наступні шість днів спостережень рівень залишків діючої речовини препарату щодобово продовжував плавно знижуватися.

2. Зважаючи на те, що імідокарбу дипропіонат, діюча основа вітчизняного дженеричного препарату «Імкар-120», виводиться з молоком у терміни, які збігаються з аналогічними засобами від європейських виробників (Carbesia – виробництва MSD Intervet; Imofen-120 – виробництва компанії Interchemi werken «De Adellar» Esti A.C. та ряду інших), то він може бути рекомендований для лікування лактуючих корів у разі бабезіозної та анаплазмозної інвазій.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні періоду виведення імідокарбу в інших видів продуктивних тварин – овець та кіз.

References

1. Urkkhart, G. M., Ermur, Dzh., Dunkan, Dzh., Dann, A. M., & Dzhennings, F. V. (2000). *Veterinarnaya parazitologiya*. Moskva: Akvarium [In Russian].
2. Mosqueda, J., Olvera-Ramirez, A., Aguilar-Tipacamu, G., & Canto, G. J. (2012). Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Current Medicinal Chemistry*, 19 (10), 1504–1518. doi: 10.2174/092986712799828355
3. Jacob, S. S., Sengupta, P. P., Paramanandham, K., Suresh, K. P., Chamuah, J. K., Rudramurthy, G. R., & Roy, P. (2020). Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis. *Veterinary Parasitology*, 283, 109136. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109136
4. Galat, V. F., Berezovsky, A. V., Soroka, N. M., Prus, M. P., Yevstaf'yeva, V. O., & Halat, M. V. (2014). *Globalna parazitologiya*. DIA [In Ukrainian].
5. Prus, M. P., Berezovsky, A. V., Galat V. F., Krasnyanchuk, I. V., & Semenko, O. V. (2005). *Rekomendatsiyi z diahnozyky babezioziv sviys'kykh tvaryn ta zakhody borot'by z nymy*. Kyiv [In Ukrainian].
6. Levytska, V. A., Berezovsky, A. V., & Mushinsky, A. B. (2020). Diahnozyka ta likuvannya babeziozu u sobak, osoblyvosti zastosuvannya ukrayins'kykh terapevtychnykh preparativ. *Ahrarnyy Visnyk Prychornomor'ya*, 97, 24–32. doi: 10.37000/abbsl.2020.97.03 [In Ukrainian].
7. Ministerstvo okhorony zdorov'ya Ukrainy. *Nakaz № 2646 vid 23.12.2019 Pro zatverdzhennya Pokaznykiv bezpechnosti kharchovykh produktiv "Maksymal'ni mezhi (rivni) zalyshkiv aktyvnykh rehovyn veterynarnykh preparativ u kharchovykh produktakh tvarynnoho pokhodzhennya"* [In Ukrainian].
8. Gorzheev, V. M., Kotsyumbas, I. Y., Kosenko, Y. M., Muzyka, V. P., Velichko, V. A., Yanovich, D. V., Chaykovskaya, A. I., & Zaruma, L. Ye. (2013). *Dovidnyk veterynarnykh preparativ*. Lviv: Poster [In Ukrainian].
9. Loscher, W., Undemacht, F. R., Kroker, R. (2002). *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Berlin: Pareu.
10. Adams, L. G., Corrier, D. E., & Williams, J. D. (1980). A study of the toxicity of imidocarb dipropionate in cattle. *Research in veterinary science*, 28 (2), 172–177.
11. Vial, H. J., & Gorenflot, A. (2006). Chemotherapy against babesiosis. *Veterinary parasitology*, 138 (1–2), 147–160. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.01.048

12. Papich, M. G., & Sykes, J. E. (Eds.). (2014). *Canine and Feline Infectious Diseases*, 66–86. doi: 10.1016/B978-1-4377-0795-3.00008-9
13. Jerram, L., & Willshire, J. (2019). Babesiosis in the UK and approach to treatment. *Livestock*, 24 (1), 18–24. doi: 10.12968/live.2019.24.1.18
14. Nolan-Smith, S. (2001). Imidocarb: Residues in cattle following administration of Imizol Injection at the recommended dose. *Schering-Plough Animal Health*, 808/195-D1142.
15. Traynor, I. M., Thompson, C. S., Armstrong, L., Fodey, T., Danaher, M., Jordan, K., Kennedy, D. G., & Crooks, S. R. (2013). Determination of imidocarb residues in bovine and ovine liver and milk by immunobiosensor. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & Risk Assessment*, 30 (6), 1108–1114. doi: 10.1080/19440049.2013.779752
16. Crescenzo, G., Lai, O., Belloli, C., Sasso, G. & Ormas, P. (2002). Validation of analytical methods for the determination of imidocarb in tissues and milk of cattle, sheep and goats. *Italian Journal of Food Science*, 14, 99–111.
17. Belloli, C., Lai, O. R., Ormas, P., Zizzadoro, C., Sasso, G., & Crescenzo, G. (2006). Pharmacokinetics and mammary elimination of imidocarb in sheep and goats. *Journal of Dairy Science*, 89 (7), 2465–2472. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72320-7
18. Inoue, K., Nunome, M., Hino T., & Oka, H. (2011). Determination of imidocarb in bovine tissues and milk samples by LC-MS/MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34 (18), 2149–2156. doi: 10.1080/10826076.2011.585484
19. Levytska, V. A., & Berezovskyi, A. V. (2019). Farmakolohichni doslidzhennia eksperymentalnoho preparatu Imkar-120. *Visnyk Poltavskoi Derzhavnoi Ahrarnoi Akademii*, (2), 119–125. doi: 10.31210/visnyk2019.02.15 [In Ukrainian].
20. Lai, O., Belloli, C., Crescenzo, G., Carofiglio, V., Ormas, P., Marangi, O., & Cagnardi, P. (2002). Depletion and bioavailability of imidocarb residues in sheep and goat tissues. *Veterinary and Human Toxicology*, 44 (2), 79–83.
21. World Health Organization (WHO) (2003). Evaluation of certain veterinary drug residues in food. 60th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Technical Report Series*, WHO 918. Geneva, Switzerland.
22. Traynor, I. M., Thompson, C. S., Armstrong, L., Fodey, T., Danaher, M., Jordan, K., Kennedy, D. G., & Crooks, S. R. (2013). Determination of imidocarb residues in bovine and ovine liver and milk by immunobiosensor. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & Risk Assessment*, 30 (6), 1108–1114. doi: 10.1080/19440049.2013.779752

Стаття надійшла до редакції 19.10.2020 р.

Бібліографічний опис для цитування:

Левицька В. А., Березовський А. В., Мушинський А. Б. Визначення параметрів залишків дипропілату в молоці корів після застосування терапевтичних доз препарату Імкар-120. *Вісник ПДАА*. 2020. № 4. С. 170–175.

© Левицька Вікторія Андріївна, Березовський Андрій Володимирович, Мушинський Андрій Броніславович, 2020