

## ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЙ СОБАК ИЗОНИАЗИДОМ В ВЕТЕРИНАРНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

В статье рассматриваются вопросы диагностирования отравлений собак изониазидом в ветеринарных лабораториях. Данный вид исследований достаточно актуален в связи с тем, что уже несколько лет бродячих и декоративных собак травят лекарством от туберкулеза под названием «Тубазид». Изониазид (тубазид) – лекарственное средство, противотуберкулезный препарат, производное гидразина изоникотиновой кислоты, предназначенное для лечения туберкулеза всех форм локализации.

**Ключевые слова:** изониазид, высокоэффективная жидкостная хроматография, алкалоиды, метод Драгендорфа.

T.S. Drozdova, A.S. Kashin

## DIAGNOSTICS OF DOG POISONINGS BY ISONIAZID IN THE VETERINARY LABORATORIES

The issues of diagnosing the dog poisonings by isoniazid in the veterinary laboratories are considered in the article. The given type of research is of current interest because some years stray and decorative dogs are poisoned by the medicine for tuberculosis under the name of "Tubazid". Isoniazid (tubazid) is a medical product, antitubercular preparation, isonicotinic acid hydrazine derivative, intended for treatment of tuberculosis of all localization forms.

**Key words:** isoniazid, highly effective liquid chromatography, alkaloids, method of Dragendorf.

**Введение.** Данный вид исследований достаточно актуален в связи с тем, что уже несколько лет бродячих и декоративных собак травят лекарством от туберкулеза под названием «Тубазид». Например, в Донецкой и Луганской областях (2009 г.) были зарегистрированы массовые случаи отравления собак изониазидом [2, 4, 5, 7].

Химическая формула изониазида –  $C_6H_7N_3O$ . Обладает выраженным бактерицидным действием, главным образом, по отношению к быстро пролиферирующим популяциям микобактерий туберкулеза. Подавляет синтез миколоевой кислоты, которая необходима для образования клеточной стенки микобактерий. Препарат хорошо всасывается в пищеварительном тракте, при даче пероральным путем бактериостатическая концентрация в крови создается через 1–3 ч после приема и сохраняется в течение 6–24 ч. Проникает через гематоэнцефалический барьер; выводится из организма преимущественно почками [9].

Пероральная передозировка этого вещества приводит к серьезным отравлениям вплоть до летального исхода. Особенно препарат высокотоксичен для собак (LD50 – 50 мг/кг живой массы) и кошек. Одна таблетка 300 мг способна привести к смертельному отравлению центральной нервной системы собаки. Грызуны относительно более устойчивы к токсическому действию изониазида. Наиболее частые случаи отравления связаны со случайным приемом препарата изониазида, который можно использовать для лечения актиномикоза крупного рогатого скота, однако на современном этапе для лечения мясо-молочного скота употребления препарата не разрешено ветфармбиосоветом Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ. Препарат неэффективен для лечения хронического гранулематозного энтерита крупного рогатого скота [6, 8].

Побочное действие изониазида в первую очередь отмечается со стороны пищеварительной системы: рвота, диарея, боли в животе; полиневриты, невриты и атрофия зрительного нерва, мышечные подергивания, атаксия, ступор, судороги, лихорадка, кожная сыпь, гепатиты, метгемоглобинемия, агранулоцитоз, эозинофилия, желтуха, пеллагра, васкулит, анемия. Может отмечаться нарушение функции печени (особенно у животных с гипотрофией или предшествующими заболеваниями печени). Со стороны периферической нервной системы возможно развитие периферической невропатии (особенно у взрослых животных и у молодняка с гипотрофией). Передозировку ГИНК следует подозревать во всех случаях, не объяснимых иными причинами метаболического ацидоза и судорог [3, 9].

**Материалы и методы исследований.** В химико-токсикологическом отделе Красноярской краевой ветеринарной лаборатории зарегистрирован (2010 г.) случай отравления собаки изониазидом.

**Анамнез:** кобель породы цверкшнауцер в возрасте 8 мес. вернулся с прогулки и через 15–20 мин у него появились признаки болезни: сильная рвота, судороги, гиперсаливация, непроизвольная дефекация и мочеотделение. Владелец собаки обратился в ветеринарную клинику, где было проведена дезинтоксикаци-

онная и симптоматическая терапия (реланиум, магния сульфат, дексаметазон и лазикс) [10]. Однако, несмотря на лечение, смерть животного наступила в течение часа.

Труп собаки был доставлен в Краевую ветеринарную лабораторию для установления причины смерти. При вскрытии наблюдалась следующая патологоанатомическая картина: серозный воспалительный отек слизистой оболочки гортани, слизистой желудка и кишечника с точечными кровоизлияниями, застойная гиперемия паренхиматозных органов, состояние зернистой дистрофии печени, сердца и почек, плохо свернувшаяся кровь.

Для исследований был отобран патологический материал: часть печени, желудок с содержимым, почка.

Исследования проводились по общетоксикологическим показателям. При анализе на алкалоиды была получена положительная реакция с групповым реактивом Драгендорфа. Это послужило отправной точкой для исследования на изониазид (тубазид).

Самый простой (химический) способ обнаружения изониазида (всех производных гидразин изоникотиновой кислоты) – реакция с водным раствором ванадата аммония (концентрация 1–2 %) – желто-коричневое окрашивание, значительно бледнеющее в течение 5–10 мин [1, 11].

Необходимо отметить, что групповая реакция с реактивом Драгендорфа не является специфической, подобную реакцию могут дать и другие лекарственные препараты (но-шпа, папаверин), поэтому вопрос об идентификации препарата достаточно актуален.

Мочу исследовали на содержание тубазида напрямую; из крови предварительно получали сыворотку (осаждением белков трихлоруксусной кислотой, центрифугированием, предварительно нейтрализовав щелочью); таким же образом подготавливали содержимое желудка [11].

Для идентификации изониазида мы использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Сорбфил» или «Силуфол». Согласно методикам, рекомендуется использовать систему, состоящую из хлороформа, ацетона, дионилового эфира фталевой кислоты в соотношении 5:4:1. Однако на практике последний реактив обычно отсутствует. В этом случае предпочтительно использовать систему хлороформ-ацетон (9:1), при слабом разведении можно увеличить количество ацетона. На пластину наносили растворенный хлороформенный экстракт и рядом стандарт. Общее количество нанесенного образца составляет в среднем 0,02 мл. Ориентироваться на величину  $R_f$  не стоит, так как эта величина рассчитана на чистые вещества. Стандарт готовили путем растворения лекарственного препарата в подщелочном хлороформе. Анализ проводили в присутствии свидетелей. Проявляющим реактивом является реактив Драгендорфа, который проявляет препарат в виде красно-кирпичных пятен.

Для контроля использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием прибора «Милихром А-02». Для хроматологического анализа предварительно приготовили изолированную сухую щелочную вытяжку (методика определения алкалоидов в патологическом материале) с рН-9, затем проводили растворение пробы в ацетонитриле с последующим детектированием и измерением содержания изониазида. Процесс анализа пробы делится на 2 этапа: разделение пробы на составляющие компоненты, детектирование и измерения содержания вещества.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Использование прибора «Милихром А-02» оказалось незаменимым для идентификации и количественного определения изониазида. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии явилось высокоточным методом для определения изониазида.

Результаты, полученные нами при использовании ВЭЖХ, оказались более высокоточными. К основным рассматриваемым характеристикам ВЭЖХ следует отнести чувствительность и селективность, к достоинствам данного метода – экспрессность и экономичность.

## Выводы

1. Процесс идентификации отравляющих веществ, в частности, изониазида, целесообразно разделить методически на два этапа. Первый – скрининговый (указательный) – с проведением качественной реакции с реактивом Драгендорфа и тонкослойной хроматографии в присутствии свидетеля. Второй – арбитражный – с удалением всех (в идеале) ложноположительных результатов. Для этого следует использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию с применением внутреннего стандарта.

2. Скрининговый метод обладает высокой производительностью, высоким уровнем чувствительности, достаточно широким охватом классом токсичных соединений, но у него нет высокой специфичности. На этом этапе можно получить минимум отрицательных ответов и максимум положительных, однако при этом наблюдается значительное число ложноположительных результатов.

3. Арбитражный метод чувствителен и селективен, обладает экспрессностью и экономичностью, что позволяет уменьшить число ложноположительных результатов.

### Литература

1. Антонов Б.И., Федотова В.И., Сухая Н.А. Лабораторные исследования в ветеринарии // Химико-токсикологические методы. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 244–248.
2. В Донецке ежегодно с особой жестокостью мэрия убивает тысячи собак // Новости Донбасса. – 2010. – № 47.
3. Изониазид. Справочник лекарств РЛС: инструкция, применение и описание вещества Изониазид. – М.: Агропромиздат, 2008. – С. 167–169.
4. Куцева Екатерина. Нет зоофашизму // Донецкий коммуникационный ресурс. – 2010. – № 49. – С. 2.
5. Лазарева Елена. Более 200 укушенных – это не предел? // Дружковка. – 2010. – № 20. – С. 3.
6. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 30 декабря 2009 г. № 2135-р. – М., 2009.
7. Смирнова Елена. Численность бродячих собак в Донецкой области будут контролировать противотуберкулезными таблетками // Факты и комментарии. – 2003. – № 5. – С. 3.
8. Стрелис А.К., Фомина И.П., Дехнич А.В. Противотуберкулезные химиопрепараты // Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. – Смоленск: НИИ антимикробной химиотерапии СГМА, 2002. – С. 65–75.
9. Lorrie Boldrick Top 10 Human Medications That Poison Our Pets (англ.). – ASPCA: копия документа.
10. Sycheva T.P., Pavlova T.N., Shchukina M.N. (1972). «Synthesis of isoniazid from 4 – cyanopyridine». *Pharmaceutical Chemistry Journal* 6 (11). – P. 696–698. DOI:10.1007/BF00771896.
11. Treatment of acute isoniazid overdose in dogs. (англ.) / D. Villar, M.K. Knight, J. Holding [et al.] // *Veterinary & Human Toxicology*. – 1995 Oct. – V. 37(5):473-7. – ISSN 0145 – 6296.

