

На правах рукописи

**ЧАСОВНИКОВ Максим Валериевич**



**КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИЯ  
ПЕСТИЦИДА ФУРАДАН**

**16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией**

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Воронеж – 2003

Работа выполнена в отделе экологии, токсикологии и гигиены  
Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного  
института патологии, фармакологии и терапии РАСХН.

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук,  
профессор  
**Аргунов Мурад Нурдинович**

Научный консультант: доктор биологических наук  
**Беляев Василий Иванович**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук,  
профессор  
**Шабунин Сергей Викторович**

кандидат ветеринарных наук  
**Василенко Виталий Васильевич**

Ведущая организация: Белгородская государственная  
сельскохозяйственная академия

Защита состоится «10» декабря 2003 года в 10<sup>00</sup> часов на заседании  
диссертационного совета Д. 006.004.01 при Всероссийском научно-  
исследовательском ветеринарном институте патологии, фармако-  
логии и терапии (394043, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Автореферат разослан "30" октября 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Ермакова Т.И.

2003-А  
17701

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы.

Наибольшее негативное влияние на продуктивное здоровье животных оказывают антропогенные аномалии, которыми считаются многократные количественные и качественные изменения биотопа и биоценоза аграрной экосистемы, в том числе, нарушения сложившихся взаимоотношений животных и окружающей среды.

Из техногенных загрязнений особую опасность представляют физико-химические и биогенные аномалии, среди которых пестициды различной природы и назначения (Шахов А.Г., Аргунов М.Н., Бузлама В.С., 2003).

Экономическая эффективность, достигнутая в результате использования химических средств защиты растений, не должна заслонять другую сторону вопроса - вредность этих веществ для сельскохозяйственных, домашних и диких животных, полезных насекомых, рыб и некоторых других водообитающих организмов (Ступников А.А., 1975; Яблоков А.В., 1988; Аргунов М.Н., 2000). Широкое использование этих средств в сельском, лесном и водном хозяйствах, в случаях несоблюдения мер безопасности и профилактики, неосведомленности о степени ядовитости, стойкости и периоде последствия ядохимикатов, часто обуславливает острые и хронические отравления домашних и диких млекопитающих и птиц, полезных насекомых и рыб (Попова Г.В., 1981). Кроме того, применение химических средств без соблюдения установленных правил может привести к нарушениям генетических и экологических закономерностей, уродствам у новорожденных, снижению воспроизводительной способности, продуктивности животных, ослаблению их общей резистенции к инфекциям. Некоторые химические соединения могут передаваться потомству трансвариально, другие - накапливаться в продуктах питания, кормах, почве и воде и надолго загрязнять среду обитания (Ступников А.А., 1975).

В свое время широкое применение нашло использование карбаматных пестицидов, фармакотоксикологические свойства которых были изучены в достаточной степени (Жаворонков Н.И., 1980).

Однако, в настоящее время, появились новые представители этой группы пестицидов, в том числе и фурадан.

Контроль за содержанием остаточных



пестицида в продуктах животноводства и диагностика возможных отравлений животных и человека не могут быть обеспечены в полной мере из-за отсутствия простого и чувствительного метода его определения в органах и тканях животных, осуществимого в условиях производственных ветеринарных лабораторий, а также в лабораториях санитарно эпидемиологического надзора. В связи с этим создаются предпосылки для существующего запрета на использование мяса животных при интоксикации фураданом, что приводит к потерям сельскохозяйственной продукции, тем самым, нанося значительный экономический ущерб.

#### **Цель и задачи исследований.**

Цель настоящей работы: клиническая фармакотоксикология фурадана.

Для достижения поставленной цели были разрешены следующие задачи:

- определение частоты и степени распространения отравления животных и птиц фураданом;
- изучение токсикокинетики и токсикодинамики данного пестицида;
- разработка метода определения остаточных количеств фурадана в органах и тканях животных;
- разработка лечебно-профилактических мероприятий при отравлениях животных фураданом.

#### **Научная новизна.**

Определены частота и степень распространения отравлений животных пестицидом фурадан. Изучены токсикокинетика и токсикодинамика данного пестицида. Установлено, что фурадан обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами. Разработан метод тонкослойной хроматографии для определения остаточных количеств фурадана в органах и тканях животных. Предложены способы детоксикации фурадана в мясе животных и определен безопасный уровень его остаточных количеств. Разработаны лечебно-профилактические мероприятия при интоксикации фураданом.

#### **Практическая значимость работы.**

Применение полученных данных способствует объективной оценке реальной опасности поступления фурадана в организм. Разработанный метод определения фурадана позволяет определять остаточные количества пестицида в органах и тканях животных, что повышает эффективность диагностических мероприятий и позволяет осуществлять контроль за содержанием токсиканта в

мясной продукции. Экспериментально определенное количество пестицида, не оказывающее токсического воздействия на организм, а также установленные способы детоксикации мяса животных, содержащего остаточные количества фурадана, дают основание для использования данной продукции. Издан информационный листок «Диагностика отравлений животных фураданом» (2003 г.). На основании результатов исследований разработан проект «Методических рекомендаций по клинической фармако-токсикологии фурадана», который будет представлен для рассмотрения в секцию патологии, фармакологии и терапии ОВМ РАСХН. Разработан и внедрен метод определения фурадана в органах и тканях животных, рассмотренный и одобренный на секции патологии, фармакологии и терапии ОВМ РАСХН, протокол №2 от 30 июня 2003 г.

#### **Апробация работы.**

Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных отчетных сессиях ВНИВИПФиТ в 2001-2003г.г.; на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях», г. Воронеж, ВНИВИПФиТ 2002г.; на первой региональной конференции практикующих ветеринарных врачей «Болезни мелких домашних животных», г. Воронеж, ВГАУ 2003г.; на Международной научно-технической конференции «Современные технологии переработки животноводческого сырья в обеспечении здорового питания: наука, образование и производство», г. Воронеж, ВГТА 2003г.

#### **Публикации результатов исследований.**

По материалам диссертации опубликовано 6 работ.

#### **Основные положения выносимые на защиту:**

- этиологические факторы отравлений животных фураданом;
- токсико-фармакологическая характеристика фурадана;
- метод определения остаточных количеств фурадана в патологическом материале и животноводческой продукции;
- ветеринарно-санитарная оценка мяса при наличии в нем остаточных количеств пестицида;
- способы детоксикации фурадана в мясе и уровень его безопасности;
- терапия при фурадановом токсикозе.

### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация изложена на 121 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических предложений и списка литературы, включающего 136 отечественных и 38 зарубежных источников, содержит 20 таблиц, 2 рисунка и 15 фотографий.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Материалы и методы исследований**

Экспериментальная часть работы была проведена в отделах: экологии, токсикологии и гигиены; патологической морфологии; физико-химических методов исследований Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии; Воронежской и Липецкой областных ветеринарных лабораториях, а также в условиях животноводческих хозяйств Воронежской области. Исследования проводились в соответствии с планом научно-исследовательских работ института по заданию 04.01 номер гос. регистрации 01.200.117018.

В лабораторных опытах использованы беспородные белые крысы с массой тела 180-350г. и куры Ливенской породы массой 1600-1650 г. При проведении опытов группы животных формировали по принципу парных аналогов с учетом массы тела, возраста, пола. Животных содержали на обычном рационе вивария, в рацион кур включали корма, используемые в условиях птицефабрики.

За подопытными животными и птицей вели постоянное наблюдение, а за две недели до каждой серии опытов проводили клиническое обследование по общепринятой схеме: отмечали общее состояние (аппетит, подвижность, цвет видимых слизистых оболочек), определяли массу тела при взвешивании. В опытах использовали только клинически здоровых животных и птиц.

Схема и краткая характеристика опытов представлена в таблице 1. Объем выполненных исследований показан в таблице 2.

Детальное описание условий постановки и проведения опытов отображено в соответствующих главах диссертации.

Параметры токсичности фурадана для лабораторных животных определяли методом пробит-анализа по С.Миллеру и Т. Тейнеру (1944), кумулятивные свойства фурадана определяли по Ю.С. Кагану и В.В. Станкевичу (1964, 1970). При этом использовали ускоренное определение (Аргунов М.Н. с соавт., 1998).

Таблица 1.

Схема и краткая характеристика лабораторных опытов

Основная задача опыта	Количество животных
Разработка метода определения фурадана в органах и тканях животных	90
Изучение клинических и патоморфологических изменений в организме разных видов животных и птиц при воздействии фурадана.	250
Исследование морфобиохимических показателей крови при интоксикации фураданом.	136
Изучение кумулятивных свойств фурадана	10
Испытание терапевтической эффективности некоторых фармакологических средств, при интоксикации фураданом.	160
Определение сроков элиминации фурадана из организма животных	40
Разработка способов удаления фурадана из мяса животных	15
Проведение ВСЭ мяса кур при наличии остаточных количеств фурадана в корме.	12
Выявление эбриотоксических и тератогенных свойств фурадана	258

Таблица 2.

## Объем проведенных исследований

Исследуемые показатели	Объекты исследований	Количество исследований
Масса (взвешивание)	животные	350
Эритроциты	кровь	100
Лейкоциты	кровь	100
Гемоглобин	кровь	100
Гематокрит	кровь	100
Глюкоза	кровь	100
Общий белок	кровь	112
Общие липиды	кровь	112
Мочевина	кровь	112
Аланинаминотрансфераза	кровь	112
Аспартатаминотрансфераза	кровь	112
Холинэстераза	кровь	136
Неспецифические эстеразы карбоновых кислот	органы, ткани	80
Остаточные количества фурадана	корма, вода, органы, ткани	1670
pH	мышечная ткань	12
активность пероксидазы	мышечная ткань	12
летучие жирные кислоты	мышечная ткань	12
Аммиак	мышечная ткань	12

В острых опытах пестицид задавали с кормом при свободном скормливание и внутрижелудочно, в виде водного раствора. При этом испытывали дозы 3,5 мг/кг, 9 мг/кг, 17,5 мг/кг, и 20 мг/кг. В хронических опытах испытывали дозы 0,5 мг/кг массы тела и 0,05 мг/кг массы корма. Длительность эксперимента составляла 45 дней.

Гематологические исследования включали: определение количества эритроцитов и лейкоцитов путем подсчета в счетной камере (Грибанова И.А., 1979); гемоглобина - колориметрически гемоглобинцианидным методом; определение гематокритной величины - с помощью микроцентрифуги, глюкозы - энзиматическим методом. В сыворотке крови определяли: общий белок - рефрактометрическим методом (Филипович Ю.Б. с соавт.,



1975); общие липиды - с сульфосфосфованилиновым реактивом; мочевины - спектрофотометрическим методом с диацетилмонооксимом; активность аспартаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы - спектрофотометрически динитрофенилгидразиновым методом (Колоб В.Г., 1986); активность холинэстеразы - методом, где субстратом является бутирил-тиохолин йодид, с использованием набора реактивов "Lachema".

Остаточные количества фурадана в органах и тканях животных определяли методом определения остаточных количеств фурадана в органах и тканях животных (Аргунов М.Н., Часовников М.В., Долгополов В.Н., 2003).

Влияние фурадана на воспроизводительную функцию и качество потомства изучали в двух сериях опытов, при введении различных доз пестицида в течение 2-х месяцев до наступления беременности, а также в различные периоды беременности. При этом учитывали общее состояние, показатели физиологического развития и жизнеспособности крысят.

Гистопрепараты были изготовлены в отделе патологической морфологии. Материал от павших и специально убитых в ходе опыта животных и птиц фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. После фиксации и обезвоживания кусочки заливали в парафин и из полученных на роторном микротоме (МПС-2) блоков, готовили серийные срезы толщиной 5-6 мкм. Срезы для общей оценки гистоморфологической структуры окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Активность неспецифических эстераз определяли реакцией одновременного азосочетания с  $\alpha$ -нафтилацетатом и стабилизированной солью диазония – прочным синим ВВ в модификации Гомори (1952).

Послеубойную ветсанэкспертизу тушек птиц проводили в соответствии с требованиями «Правил ветеринарного осмотра и ветсанэкспертизы мяса и мясных продуктов» (1969 г.) и, органолептической оценки на свежесть по ГОСТ 7702.0-74. Для ветеринарно-санитарной оценки качества мяса отбирали кусочки из поверхностного и более глубоких слоев тазобедренных мышц. Биохимические исследования проводили общепринятыми методами (Загаевский И.С., 1976, Макаров В.А., Устименко Л.И., 1980). Определяли концентрацию водородных ионов (рН), пероксидазу по бензидиновой пробе, количество летучих жирных кислот, ставили реакции на аммиак с реактивом Несслера.

Сроки выведения остаточных количеств фурадана определяли используя метод тонкослойной хроматографии.

Для детоксикации фурадана в мясе животных использовали различные методы обработки продукта: замораживание, вымачивание в 9%-ном растворе уксусной кислоты, вымачивание в насыщенном растворе поваренной соли (засолка) в течение 36 и 96 часов, термическая обработка в воде при 100 °С, в течение двух и трех часов, с одной и двумя сменами бульона.

Экспериментальные данные подвергнуты математической обработке с оценкой достоверности различий при  $P < 0,05$ . Используются методы математической статистики, принятые в биологии и медицине (Лакин Г.Ф., 1973; Гульбер Е.В., 1987). Результаты исследований обработаны с использованием прикладной программы «Statistica 5.0» на РС «Pentium 200 MMX».

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Этиология интоксикации фураданом.**

Факт учащения случаев интоксикации животных фураданом в Воронежской области определил задачу изучения причин, степени распространения и частоты отравлений животных фураданом, для решения которой нами были проанализированы отравления на данной территории, в период с апреля 1999 года по ноябрь 2001 года. За данный промежуток времени официально зарегистрировано 17 случаев отравлений фураданом в 11-ти районах региона, среди которых 14 - крупного рогатого скота, 2 - отравления птицы и 1 отравление щенка.

В основном отравление возникало вследствие попадания в корм животных и птиц семян сахарной свеклы обработанных фураданом, при этом семена, содержащие токсикант, обнаруживались в желудочном и зобном содержимом. Однако интоксикацию регистрировали также при употреблении животными воды и зелёной массы растений, содержащих фурадан.

Интоксикация протекала в острой или молниеносной форме и, как правило, заканчивалась летальным исходом. В отдельных хозяйствах, при каждом случае отравления, падеж крупного рогатого скота составлял 16–20 голов, кур – 6–30 голов.

В связи с тем, что основное направление в использовании фурадана это обработка семян сахарной свеклы перед посевом, а возделыванием этой культуры занимаются хозяйства всех районов Воронежской области, вероятность возникновения данной интоксикации охватывает территорию всего региона. Однако чаще отравления возникали в Панинском районе – месте расположения

завода по обработке семян растений химическими средствами защиты.

Случаи отравления регистрировались во все времена года, тем не менее, наибольшая частота отравлений связана со временем посева свеклы и с послепосевным периодом (май – август).

Наряду с животными крупных животноводческих хозяйств, отравлению фураданом подвергались животные и птицы принадлежащие «частному сектору» при этом даже имело место отравление щенка, в рвотных массах которого были обнаружены семена свеклы, обработанные фураданом.

Изучение данной проблемы в условиях производства раскрывает перед нами сущность этиологии отравлений животных фураданом, подтверждая мнение практически всех токсикологов, занимающихся проблемами пестицидных токсикозов о том, что главной причиной отравлений животных данными веществами является несоблюдение требований по производству, транспортировке, хранению и использованию данных веществ.

### **3.2. Разработка метода определения остаточных количеств фурадана в органах и тканях животных.**

Контроль за содержанием остаточных количеств фурадана в продуктах животноводства и диагностика возможных отравлений животных и человека не могут быть обеспечены в полной мере из-за отсутствия простого и чувствительного метода его определения в органах и тканях животных, осуществимого в условиях производственных ветеринарных лабораторий, а также в лабораториях санитарно эпидемиологического надзора.

Разработанный нами метод определения данного пестицида в органах и тканях животных основан на извлечении фурадана из исследуемой пробы хлороформом, очистке путем перераспределения в двух несмешивающихся растворителях (п-гексан и ацетон в объемном соотношении 3:2) с последующим хроматографированием в тонком слое. Проявление основано на гидролизе препарата спиртовым раствором щелочи и образовании окрашенных соединений с солью диазония.

При этом особое внимание мы уделяем экстракции пестицида из исследуемого материала, так как качество выполнения, предлагаемых нами условий данной процедуры играет важную роль в получении положительных результатов исследования. Метрولوجическая характеристика способа приведена в таблице 3.

Таблица 3.

Метрологическая характеристика метода определения фурадана в органах и тканях животных тонкослойной хроматографией.

Параметры	Мышечная ткань	Печень
Предел обнаружения, Мг/кг	0,05	0,05
Число параллельных определений, n	5	5
Варьирование степени определения, R %	92,0-97,0	84,0-95,5
Среднее значение степени определения, С %	94,1	87,9
Стандартное отклонение, S	2,17	5,15
Доверительный интервал при $\alpha=0,05, \%$	$94,1 \pm 1,1$	$87,9 \pm 5,6$

### 3.3. Клиническая картина и морфобиохимические изменения в крови животных при интоксикации фурадано́м.

Установленная в опытах ЛД<sub>50</sub> фурадана для крыс -  $9 \pm 0,99$  мг/кг, ЛД<sub>100</sub> - 17,5 мг/кг, ЛД<sub>0</sub> - 3,5 мг/кг. Кумуляция препарата в организме слабо выражена (К кум.>5).

Методом тонкослойной хроматографии в нашей разработке установлены сроки элиминации фурадана из организма лабораторных животных при острой интоксикации. Так при внутривенном введении белым крысам пестицида в максимально переносимой дозе (3,5 мг/кг массы тела), через сутки

обнаруживали его остатки в печени -  $3,6 \pm 0,23$  мг/кг, в мышечной ткани -  $2,5 \pm 0,20$  мг/кг. В последующие дни, содержание остаточных количеств в исследуемых органах сокращалось, на 6-е сутки в мышцах обнаруживали только следы пестицида, а на 7-е сутки фурадан в исследуемых пробах не обнаруживался.

Интоксикация протекала в молниеносной форме. Начало проявления клинических признаков регистрировали через 4-5 минут после поступления токсиканта *per os*. Незначительные, судорожные сокращения отдельных мышц в течение 2-3 минут перерастали в тремор всего тела.

Легкая степень отравления крыс фураданом проявлялась отказом от корма и прекращением перемещений по клетке. Животные принимали неестественные позы, при этом вытягивая вверх или вперед шею. Дыхание затруднялось, его ритм сбивался, такая картина развивалась быстро, а спустя 8-12 минут происходило ее угасание, мышечная дрожь исчезала, после чего наступал период угнетения, сопровождающийся гиподинамией и отказом от корма. Спустя 6-7 часов после затравки общее состояние опытных крыс нормализовывалось.

При средней и тяжелой степени отравления белых крыс фураданом, клинические признаки интоксикации проявлялись уже через 4 минуты после внутрижелудочного введения пестицида. Клинически наблюдали тремор всего тела, фибриляцию отдельных групп мышц, пульсацию глазных яблок, нарушение координации движения, обильную саливацию, слезотечение и истечения из носа, затрудненное дыхание. Летальный исход регистрировали через 8 минут после введения токсиканта, при явлениях клонико-тонических судорог.

Клиническую картину острого отравления фураданом вызывали также у кур. При этом испытывали дозу 20 мг/кг массы, задавая пестицид с кормом. Начало проявления клинических признаков регистрировали через 40 минут после принятия токсиканта. При этом отмечалось общее угнетение, гиподинамия, взъерошенность перьевого покрова, нарушение координации движений, незначительные истечения из нозовых отверстий.

Клиническая картина острой интоксикации крупного рогатого скота, на основе анамнестических данных хозяйств, проявлялась одышкой, беспокойством, тремором жевательных мышц, а затем тремором всего тела, гиперсаливацией и диареей. Дыхание становилось затрудненным и замедленным. Смерть животных наступала в первые часы интоксикации.

Картина крови белых крыс при остром отравлении фураданом представлена в таблице 4., данные которой отражают достоверное повышение глюкозы, мочевины и АсАТ на 58,6%, 48,0% и 17,7% соответственно, что указывает на поражение печени, почек и миокарда. Через 18 дней, после введения токсиканта отмечено достоверное снижение общих липидов и мочевины на 13,3% и 12,8% соответственно, а также повышение активности АЛАТ на 14,2%, на основании чего можно констатировать нарушение синтетической функции печени.

При изучении активности холинэстеразы сыворотки крови белых крыс, через 3 часа после введения фурадана в дозе 3,5 мг/кг выявлено превышение данного показателя у опытных животных ( $9,89 \pm 0,38$  мккат/л) по сравнению с контролем ( $6,38 \pm 0,26$  мккат/л) на 55% ( $P < 0,05$ ). Через сутки происходило достоверное снижение активности холинэстеразы на 30,1% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Через 6 суток после интоксикации, активность фермента была ниже, чем в контроле на 22,3% ( $P < 0,05$ ). На 12-е сутки отмечали тенденцию к снижению данного показателя в опытной группе на 9,4 %. В конце эксперимента, т.е. через 18 суток после введения токсиканта, уровень активности холинэстеразы не достоверно отличался от контрольного, хотя все еще оставался более низким чем в контроле на 5,9%.

Изучение особенностей длительного поступления фурадана в организм животных в малых количествах проводили в опытах на белых крысах. При этом пестицид задавали ежедневно с кормом, в дозах 0,5 мг/кг и 0,009 мг/кг массы тела, в течение 45 дней. Отмечали отставание в привесах животных, получавших пестицид ежедневно, в дозе 0,5 мг/кг. Каких либо других различий в клиническом статусе опытных и контрольных животных выявлено не было. Не установлено влияние фурадана в дозе 0,009 мг/кг на гематологические показатели, так как достоверных различий по данным показателям, с контрольной группой выявлено не было (таблица 5).

При поступлении фурадана в организм животных в дозе 0,5 мг/кг имела место тенденция снижения количества эритроцитов на 3,8%, уровня гемоглобина на 5,9%, гематокрита на 8,5% и повышения количества лейкоцитов на 15% по сравнению с крысами контрольной группы. В крови опытных животных снижалась активность холинэстеразы на 7,6% ( $P < 0,05$ ), уровень общего белка на 9,1% ( $P < 0,05$ ), мочевины на 19,3% ( $P < 0,05$ ), глюкозы на 19,5% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контрольными.

Активность АсАТ крыс в опытной группе превышала таковую в контрольной на 13,0% ( $P < 0,05$ ).

Таблица 4.

Морфо-биохимические показатели крови белых крыс при остром отравлении фураданом в дозе 3,5 мг/кг.

Показатели	через 3 часа после введения		через 18 дней после введения	
	контроль	опыт	контроль	Опыт
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,35 \pm 0,250$	$6,43 \pm 0,133$	$8,2 \pm 0,31$	$7,8 \pm 0,09$
Лейкоциты, $10^9/л$	$12,5 \pm 3,50$	$7,1 \pm 1,06$	$10,4 \pm 0,88$	$10,5 \pm 0,9$
Гемоглобин, г/л	$126 \pm 1,4$	$123 \pm 0,5$	$145 \pm 7,6$	$152 \pm 8,3$
Гематокрит, %	$38,5 \pm 6,50$	$31,0 \pm 7,00$	$42,8 \pm 1,32$	$44,3 \pm 2,06$
Глюкоза, ммоль/л	$4,73 \pm 0,360$	$6,93 \pm 0,326^*$	$4,01 \pm 0,140$	$4,34 \pm 0,143$
Общий белок, г/л	$76,8 \pm 0,29$	$76,3 \pm 3,37$	$81,4 \pm 2,03$	$80,7 \pm 1,51$
Общие липиды, г/л	$2,25 \pm 0,005$	$2,35 \pm 0,107$	$3,45 \pm 0,089$	$2,99 \pm 0,054^*$
Мочевина, ммоль/л	$5,25 \pm 0,061$	$7,77 \pm 0,023^*$	$5,23 \pm 0,022$	$4,56 \pm 0,354^*$
АсАТ, ммоль/л*ч	$2,31 \pm 0,130$	$2,72 \pm 0,087^*$	$1,98 \pm 0,075$	$1,99 \pm 0,079$
АлАТ, ммоль/л*ч	$1,57 \pm 0,035$	$1,61 \pm 0,044$	$1,13 \pm 0,025$	$1,29 \pm 0,061^*$

Примечание: \* -  $P < 0,05$

Таблица 5.

Биохимические показатели крови крыс при подострой интоксикации фураданом с применением бентонита в качестве адсорбента.

№ гр.	Фурадан, мг/кг	Бентонит, г/кг	Показатели						
			Общий белок, г/л	Общие липиды, г/л	Мочевина, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	АсАТ, ммоль/л*ч	АлАТ, ммоль/л*ч	ХЭ, мккат/л
1 опыт.	0,5	-	75,3 ± 1,16*	2,56 ± 0,092	4,29 ± 0,298*	2,91 ± 0,073*	1,65 ± 0,033*	0,81 ± 0,030	5,93 ± 0,057*
2 опыт.	0,5	4,8	83,8 ± 2,41	2,67 ± 0,141	5,66 ± 0,267	3,74 ± 0,255	1,52 ± 0,063	0,87 ± 0,039	6,40 ± 0,154
3 опыт.	0,009	-	83,1 ± 2,60	2,54 ± 0,192	5,40 ± 0,272	3,64 ± 0,161	1,47 ± 0,041	0,87 ± 0,030	6,40 ± 0,144
4 конт.	-	-	82,9 ± 3,20	2,52 ± 0,230	5,32 ± 0,317	3,62 ± 0,096	1,46 ± 0,058	0,86 ± 0,032	6,42 ± 0,152

Примечание: \* -  $P < 0,05$ .



### **3.4. Морфогистохимические изменения в организме животных при остром отравлении фураданом.**

Материалом для исследований служили органы и ткани павших белых крыс, при введении фурадана в дозе 17,5 мг/кг массы тела. При вскрытии трупов обнаруживали гиперемию сосудов внутренних органов. Легкие отечны, с очагами кровоизлияний, печень увеличена, полнокровная, в отдельных участках окрашена в сероватый или глинистый цвет, отечность и гиперемия мозговых оболочек.

Гистологическими исследованиями при остром отравлении экспериментальных животных фураданом фиксировали уменьшения просвета крупных кровеносных сосудов и капилляров, т. е. общее расстройство гемодинамики. Вместе с тем при остром отравлении были характерны отеки в лёгких, где имело место расширение и нарушение целостности межальвеолярных перегородок. В паренхиме печени отмечалось значительное увеличение пространств Диссе, деформация печёночных балок и гепатоцитов. Некоторые гепатоциты находились в состоянии некробиоза, а микроциркуляторное русло расширялось и содержало форменные элементы крови. В почках разрыхление стромальных элементов при наличии некротических изменений в эпителиях извитых канальцев. Отмечалось уплотнение структуры ткани селезёнки. Отмечались глубокие изменения в головном мозге, перипеллюлярные и периваскулярные отёки. Некротические изменения ткани головного мозга наблюдали в центральных и периферических зонах больших полушарий. Наблюдали отек семенников с разрыхлением клеточных и стромальных элементов. Поражение миокарда проявлялось разволокнением мышечных волокон и отеком стромы.

При цитофотометрировании эпителия извитых канальцев, оказалось, что активность неспецифических эстераз карбоновых кислот в почках опытных животных была выше на 37,7% ( $P < 0,05$ ), а в печени на 15,7% ( $P < 0,05$ ), чем у контрольных.

### **3.5. Эмбриотоксические и тератогенные свойства фурадана.**

В опытах на лабораторных животных установлена степень токсического действия фурадана на организм в плодном, неонатальном и постнатальном периодах. Пестицид, введенный однократно беременным самкам белых крыс в дозе 3,5 мг/кг, оказывал токсическое действие во все периоды беременности, что

выражалось 100%-ной общей эмбриональной смертностью. При вскрытии беременных самок обнаруживалась водянка головного мозга эмбрионов.

При поступлении пестицида в организм самок в дозе 0,5 мг/кг массы тела, в течение двух месяцев до наступления беременности отмечалось неблагоприятное действие на развитие потомства. При этом наблюдалось снижение жизнеспособности крысят, так как имелись случаи мертворождения и постнатальной смертности, рождение потомства с меньшей массой и размерами тела. Масса крысят опытной группы составляла  $5,12 \pm 0,22$  г при  $6,11 \pm 0,10$  г в контроле, длина тела -  $49,8 \pm 2,0$  мм, при  $51,5 \pm 0,8$  мм в контроле. У 23,5% новорожденных, внешним осмотром обнаруживали гематомы на теле. К тому же у крысят наблюдали более поздние сроки отлипания ушей, обрастания шерстным покровом и прорезывания глаз. Существенные различия наблюдали и в показателях интенсивности развития и роста потомства опытной и контрольной групп. Так, на 17-й день развития крысят, достоверное отличие наблюдали лишь по длине хвоста, а на 45-й день жизни, опытные крысята превосходили контрольных по массе тела на 15% ( $P < 0,05$ ), по длине тела на 5,2% ( $P < 0,05$ ), по длине хвоста на 17% ( $P < 0,05$ ), что имеет существенное значение при оценке потенциальной опасности отдаленных эффектов действия фурадана.

При ежедневном поступлении пестицида в организм самок в дозе 0,05 мг/кг корма, в течение двух месяцев до наступления беременности, неблагоприятного действия на развитие потомства отмечено не было.

### **3.6. Ветеринарно-санитарная оценка мяса кур при острой интоксикации фураданом.**

В экспериментальных условиях была проведена ветеринарно-санитарная оценка тушек кур, получавших однократно с кормом фурадан в дозе 20 мг/кг массы тела.

Результаты органолептических показателей и оценки бульона не выявили различий в качестве мяса опытных и контрольных птиц. Биохимическими исследованиями выявлен сдвиг концентрации водородных ионов мясной вытяжки опытных тушек в щелочную сторону. Другие показатели свежести (активность пероксидазы, количество летучих жирных кислот, реакция на аммиак), в опытной и контрольной группах были идентичны.

### **3.7. Способы детоксикации мяса животных, содержащего остаточные количества фурадана.**

Экспериментально, на лабораторных животных определены способы снижения содержания фурадана в мышечной ткани животных, подверженных воздействию данного пестицида.

Через 20 минут после внутрижелудочного введения фурадана в дозе 6 мг/кг, разработанным нами методом, в мышечной ткани обнаруживали 1,5 мг/кг пестицида. Данная проба служила контролем. В пробе с вымачиванием мяса, содержащего остаточные количества токсиканта, в насыщенном растворе поваренной соли (засолка) в течение 36 часов, было обнаружено снижение его содержания на 86,7%, и составляло 0,2 мг/кг. После термической обработки в воде при 100 °С, в течение двух часов, с одной сменой бульона, содержание фурадана снизилось на 92%, что составляло 0,12 мг/кг. Содержание фурадана в пробах после замораживания и вымачивания в 9%-ном растворе уксусной кислоты уменьшалось незначительно и составляло 1,4 и 1,2 мг/кг соответственно. После термической обработки при температуре воды 100 °С в течение трех часов, с двумя сменами бульона, а также после засолки на 96 часов, фурадан в пробах обнаружен не был.

### **3.8. Испытание терапевтической эффективности некоторых фармакологических средств при интоксикации фураданом.**

С целью выявления антидотной эффективности атропина сульфата, а также димедрола в сочетании с атропином, были проведены исследования на белых крысах, которым внутрижелудочно вводили раствор фурадана в виде водной суспензии. Первая группа была контрольной. Дополнительно второй группе вводили атропин в дозе 5 мг/кг, третьей атропин в дозе 15 мг/кг, четвертой атропин в дозе 5 мг/кг в сочетании с димедролом (10 мг/кг). Антидотные средства вводили внутримышечно за 20 мин до затравки. Активность препаратов характеризовали величиной индекса защиты, представленного отношением ЛД<sub>50</sub> в опытной группе к ЛД<sub>50</sub> в контроле.

При введении фурадана контрольным крысам, доза 17,5 мг/кг оказалась абсолютно смертельной (ЛД<sub>100</sub>). При введении атропина в дозе 5 мг/кг крысам второй группы, получавшим 17,5 мг/кг (ЛД<sub>100</sub>) фурадана, клинические признаки были слабовыраженными и случаев летального исхода не наблюдали, а величина индекса

защиты увеличивалась в 2,4 раза.

Эффективность атропина при данной интоксикации повышается применением его в комплексе с димедролом. В данном случае величина индекса защиты составляла 8,3. При этом отмечали, что димедрол значительно ослаблял выраженность вызываемых фураданом судорог. Также было отмечено, что комплексное применение рассматриваемых холинолитика и гистаминоблокатора повышает эффективность в большей степени, чем увеличение дозы атропина до 15 мг/кг, так как в последнем случае индекс защиты был равен 4,0.

Экспериментально определена эффективность использования бентонита в качестве адсорбента при подострой интоксикации фураданом, в дозе 0,5 мг/кг массы тела. Введенный в рацион крысам в дозе 3% от массы корма, бентонит проявлял антитоксические свойства, о чем свидетельствовало отсутствие клинико-патоморфологических и гематологических изменений у опытных животных по сравнению с интактными (таблица 5).

#### 4. ВЫВОДЫ

1. Фурадан широко применяется в сельском хозяйстве в качестве протравителя семян сахарной свеклы и, как следствие, на территории Воронежской и Липецкой областях данная интоксикация является весьма распространенной, особенно в весенне-летний период.

2. По показателям острой токсичности фурадан относится к классу сильнодействующих химических веществ ( $LD_{50}$  для крыс –  $9 \pm 0,99$  мг/кг). По кумулятивному действию пестицид относится к веществам со слабо выраженной кумуляцией ( $K_{\text{кум.}} > 5$ ). При этом он обладает выраженным эмбриотоксическим и тератогенным действием.

3. Клиническая картина острой интоксикации фураданом характеризуется сложным симптомокомплексом центральных нервнопаралитических и мускариноподобных эффектов. Характерно сверхострое течение со сменой фазы возбуждения, фазой торможения. Смерть наступает в течении первых часов от паралича дыхательного центра и асфиксии.

4. Патоморфологические изменения при остром отравлении фураданом характеризуются выраженными расстройствами гемодинамики, деструктивными изменениями всех внутренних органов и головного мозга, причем на первое место выступают явления полнокровия печени и отека легких.

5. При острой интоксикации фураданом отмечаются, гипергликемия, повышение уровня мочевины и активности АсАТ, что свидетельствует о нарушении функции печени, почек и миокарда.

6. Острое отравление фураданом приводит к повышению активности холинэстеразы сыворотки крови через 3 часа после введения фурадана животным, в дальнейшем наблюдается достоверное снижение активности данного фермента в течение 6 суток.

7. Подострая интоксикация фураданом характеризуется снижением в крови общего белка, мочевины, глюкозы, повышением активности АсАТ, что указывает на нарушение синтетической функции печени.

8. Остаточные количества фурадана обнаруживаются в печени и мышечной ткани лабораторных животных в течение 6 суток после поступления его в организм. В результате термической обработки мяса, содержащего остаточные количества пестицида, при температуре воды 100 °С в течение трех часов, с двумя сменами бульона, а также после засолки на 96 часов, фурадан в пробах не обнаруживается. Следовательно, возможно использование мяса вынужденно убитых животных при отравлении фураданом, после соответствующих способах его обработки, при этом обязательным является определение остаточных количеств фурадана в мясной продукции.

9. Антидотом при отравлении фураданом является атропина сульфат, эффективность которого повышается при совместном введении с димедролом. В качестве адсорбента рекомендуются бентониты. Профилактическая работа должна основываться на строгом соблюдении санитарных правил по хранению, транспортировке и применению пестицида.

## **5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Для диагностики отравлений фураданом учитывать анамнестические данные и использовать разработанный нами метод определения фурадана в органах и тканях животных.

2. В качестве антидота при отравлении фураданом применять атропин в комплексе с димедролом.

3. Для профилактики отравлений фураданом не допускать контакта сельскохозяйственных животных и птицы с ядохимикатом, улучшив контроль за хранением и транспортировкой обработанных пестицидом семян.

## 6. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Часовников М.В. Распространение, клинические и патанатомические признаки отравления животных фураданом.// Матер. межд. научно-практич. конф.: Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях.- Воронеж, 2002.- С. 621-622.

2. Часовников М.В. Биохимические показатели крови белых крыс при экспериментальном остром отравлении фураданом // Матер. межд. научно-практич. конф.: Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях.- Воронеж, 2002.- С. 620-621.

3. Гребенщиков А.В. Морфологическая характеристика острого отравления белых крыс фураданом в эксперименте / А.В. Гребенщиков, М.В. Часовников, А.Н. Подъяблонский // Матер. межд. научно-практич. конф.: Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях.- Воронеж, 2002.- С. 201-202.

4. Часовников М.В. Диагностика отравлений животных фураданом // Инф. листок / Воронежский ЦНТИ.- Воронеж, 2003.- ИЛ № 42-076-00.- 2с.

5. Аргунов М.Н. Проблема обеспечения безопасного кормления мелких домашних животных / М.Н. Аргунов, М.В. Часовников, И.А. Найко // Матер. первой региональной конф. практикующих вет. врачей: «Болезни мелких домашних животных», г. Воронеж, 2003.- С.49-50.

6. Аргунов М.Н. Санитарно-лабораторный мониторинг остатков вредных веществ в продуктах животноводства / М.Н. Аргунов, И.В. Жуков, М.В. Часовников и др. // Матер. межд. научно-технич. конф.: Современные технологии переработки животноводческого сырья в обеспечении здорового питания: наука, образование и производство, г. Воронеж, 2003г.- 424-427.

На правах рукописи

**ЧАСОВНИКОВ Максим Валериевич**

**КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИЯ  
ПЕСТИЦИДА ФУРАДАН**

**16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией**

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Воронеж – 2003

Формат 60x84 1/16

Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman.

П.л. 1,0 Тираж 100 экз. Заказ № 2065.

Отпечатано в типографии

ООО «Формат», г. Воронеж, Московский пр-т, 36-а

2003-A  

---

17701

17701