

На правах рукописи

МИХАЛЕВА ЕЛЕНА ВАЛЕРЬЕВНА



**ВЕТЕРИНАРНО- САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ОПИСТОРХОЗНОЙ РЫБЫ
И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПРЕПАРАТА SAUSSUREA
AMARA ПРИ ОПИСТОРХОЗЕ СОБАК**

16.00.06 - ветеринарная санитария, экология, зоогигиена
и ветеринарно- санитарная экспертиза

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань 2005

Работа выполнена в Казахском государственном университете
им. С. Сейфуллина

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Майканов Балгабай Садепович

Научный консультант: кандидат медицинских наук
Башева Динагуль Аяпбековна

Официальные оппоненты:

- доктор биологических наук, профессор
Фролов Виктор Петрович
- доктор ветеринарных наук,
Новиков Валерий Александрович

Ведущая организация: **Институт ветеринарной медицины
ФГОУ ВПО «Омского государственного
аграрного университета»**

Защита состоится « ____ » _____ 2006г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 при ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» (420074, г. Казань, ул. Сибирский тракт,35)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»

Автореферат разослан « ____ » _____ 2005г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
профессор



М.С. Ежкова

2006-4
29089

2262742

3

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Описторхоз в Казахстане – одна из проблем краевой патологии ряда областей. Актуальность проблемы возрастает в связи с миграцией населения в эндемичные очаги этого заболевания. Для успешной борьбы с описторхозом важное значение имеет выявление распространенности инвазии на территории бассейнов рек Обь, Иртыш, Иргиз, Тургай, Нура и Ишим (Горшков А.И., 1987, Кательников Г.А., 1991).

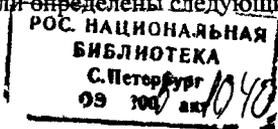
В последние годы большое внимание медицинских и ветеринарных специалистов привлекают лекарственные растения, а также препараты, созданные на их основе, способные не только эффективно воздействовать при патологии, но и существенно повышать защитные силы организма. В отличие от синтетических препаратов, которые для организма являются чужеродными, применение лекарственных растительных средств, содержащих необходимые компоненты в соотношениях, оптимально сбалансированных в процессе биоценоза животных и растений, следует рассматривать как наиболее физиологичный метод нормализации гомеостаза животных. (Канаев А.И., 1985)

Современный арсенал лекарственных средств, используемых для лечения больных при описторхозе, включает препараты различных химических классов, в частности, флоксил и празиквантел. Однако недостаточная эффективность, большая токсичность, возникновение побочных реакций и осложнений при их применении указывают на необходимость совершенствования лечебных мероприятий при этой инвазии. В настоящее время актуальность поиска обусловлена также неблагоприятной экологической обстановкой, влиянием химических и медикаментозных воздействий на организм животных, что привело к снижению иммунитета и защитной функции гепатобилиарной системы. Широкое распространение описторхоза среди животных и людей диктует необходимость создания нетоксичного препарата, обладающего комплексным фармакологическим действием, не только противопаразитарным но и противовоспалительным, желчегонным и спазмолитическим. (Рабинович М.И. 1998, Краснов Е.А., 1994, Байтенов М.С., 1986)

Среди огромного разнообразия лекарственных растений значительный интерес в этом плане представляет род *Saussurea*, ряд видов которого широко используется в народной медицине и ветеринарии в качестве антигельминтика и для лечения заболеваний печени, почек, желудочно-кишечного тракта.

Цель и задачи исследования. Целью научных исследований явилось изучение распространения описторхоза рыбы в водоемах Ақмолинской области Республики Казахстан, клинико - лабораторных аспектов диагностики экспериментального описторхоза собак и методов эффективной фармакотерапии больных.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:



- дать ветеринарно-санитарную оценку пораженной описторхозом рыбы в водоемах Акмолинской области Республики Казахстан;
- изучить общетоксикологическое действие настойки *Saussurea amara* в эксперименте на лабораторных животных;
- определить дозозависимость противоописторхозного действия настойки *Saussurea amara* в эксперименте на собаках и сирийских хомяках;
- изучить клинические изменения при описторхозе собак;
- исследовать противоописторхозную активность настойки *Saussurea amara* в сравнении с синтетическим препаратом дронцитом.

Научная новизна работы. Установлена степень зараженности рыбы метацеркариями *Opisthorchis felineus* в водоемах Акмолинской области и дана ветеринарно-санитарная оценка пораженной рыбы.

Впервые изучено токсическое действие настойки *Saussurea amara* и определены эффективные лечебные дозы препарата на экспериментальной модели описторхоза лабораторных животных.

Уточнены и конкретизированы региональные особенности клинических, биохимических, гематологических и морфологических изменений в организме при описторхозе собак.

Впервые проведен сравнительный анализ противоописторхозной активности настойки *Saussurea amara* в сравнении с дронцитом.

Практическое значение. Полученные данные об эндемичности и большой распространенности описторхоза животных в Акмолинской области Республики Казахстан, а также высокой фармакологической эффективности настойки *Saussurea amara* послужили основой для разработки «Рекомендаций по лечению описторхоза собак». Проведенные клинические и лабораторные исследования позволили обосновать перспективность применения настойки *Saussurea amara* для лечения собак при описторхозе. Дано методическое обоснование ветеринарно-санитарной оценки пораженной рыбы, методов ее обезвреживания и последующего применения в качестве продукта питания или технического сырья.

Основные положения диссертации, выдвигаемые на защиту:

- ветеринарно-санитарная оценка рыбы, пораженной метацеркариями *Opisthorchis felineus* в водоемах Акмолинской области Республики Казахстан;
- клинико-лабораторный статус собак при описторхозе в эксперименте;
- противоописторхозная активность настойки *Saussurea amara* в сравнении с дронцитом при лечении собак, больных описторхозом.

Реализация результатов исследования. Основные положения и практические предложения, вытекающие из результатов выполненных исследований, доложены, обсуждены и одобрены на заседании ученого совета Каз. ГАТУ им. С. Сейфуллина (2005), на научных конференциях Каз.ГАТУ им. С. Сейфуллина (2002-2004), втором международном ветеринарном конгрессе (Алматы, 2003), 1-ой Всесоюзной конференции по иммунологии (Сочи – 2003).

Они используются в рыболовецких хозяйствах Акмолинской области Республики Казахстан по ветеринарно- санитарной оценке пораженной рыбы.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 работ и 1 рекомендация.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложения. Работа содержит 29 таблиц, 17 рисунков, 185 библиографических источников, в том числе 13 иностранных.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы исследования

Исследование и ветеринарно- санитарную оценку рыбы Акмолинской области пораженных метацеркариями *Opisthorchis felineus*, воспроизведение экспериментального описторхоза у собак, изучение клинико-лабораторных аспектов животных при описторхозе проводились в период с 2002 по 2004 гг. Исследование рыбы проводили в лаборатории кафедры «Ветеринарной санитарии и сертификации продуктов животноводства» Казахского государственного агротехнического университета им. С. Сейфуллина, а также в лаборатории ветсанэкспертизы Центрального рынка г. Астана.

Воспроизведение экспериментальной модели описторхоза у собак проводили в клинике Казахского государственного агротехнического университета им. С. Сейфуллина. Кроме того, нам оказана помощь при гематологических, биохимических исследованиях крови экспериментальных животных в клинко - диагностических лабораториях Республиканской клинической больницы и медицинском центре «ЛЕГИАРТИС». Гистологическое исследование внутренних органов экспериментальных животных проводили в лаборатории областного патоморфологического центра г. Астаны и на кафедре ветеринарной санитарии и сертификации продуктов животноводства Каз.ГАТУ им. С. Сейфуллина.

Материалом для наших исследований служили рыбы семейства карповых, беспородные щенята в возрасте 2 месяца и сирийские хомячки. Всего в наших экспериментах было использовано 2669 проб рыб (язь -645, карась - 414, карп - 313, плотва- 298, красноперка - 569, лещ -131 , окунь -189, сазан -110), 85 беспородных щенков и сирийские хомячки в количестве 100 животных.

Результаты исследований

Ветеринарно-санитарная оценка рыбы водоемов Акмолинской области Республики Казахстан пораженных метацеркариями *Opisthorchis felineus*.

Основными реками Акмолинской области являются Ишим и его крупные притоки: Колутон, Аршалы, Жабай, Терисаккан, Нура, Куланотпес, Оленты, Селеты и ее притоки (Акмырза, Кедей), кроме рек на территории области

насчитывается около 4000 озер. Из общего числа озер 94% приходится на долю пресных, среди них преобладают (более 90%) озер с площадью зеркала до 1 км². Хозяйственное значение имеет небольшая часть: 327 озера служат источником обводнения пастбищ, 9 – источником орошения, 157 используются для промыслового лова рыбы. Наиболее крупными и значительными в производственно- хозяйственном отношении являются: озеро Майбалык, общая площадь 2106 га, озеро Узунколь – 1000га и озеро Жарлыколь – 1500 га. В настоящее время по данным областной ветеринарной лаборатории неблагополучными по описторхозу считаются водоемы Коргалжинского района и в частности Биртабан – Шалкарской системы озер, а также озеро Садырбай, кроме низовья рек Нуры и Ишима.

В разные годы, по исследованиям областной и республиканской ветеринарных лабораторий, встречались, самые разнообразные заболевания рыб, наиболее часто встречаемые и повторяемые из года в год диплостомоз и описторхоз.

Проводя анализ можно сказать, что в течение 10 лет (с 1994 по 2004 годы) была обследована рыба из 11 озер Акмолинской области. За этот период обнаружено неоднократное инвазирование рыбы в различные годы во всех озерах. Наибольшая экстенсивность инвазии озерной рыбы отмечено за последние годы (1999г - 36,3% от общего числа озер, в которых обитала зараженная рыба, 2003г.- 27,3 % и в 2004г -45,3%).

Чаще всего встречались такие инвазии, как описторхоз, лигулез, диплостомоз, филометроидоз, а также необходимо отметить наличие ассоциативных инвазий. Как видно из таблицы 1 в озере Барлыколь при исследовании рыбы карась было выявлено наличие лигулезной и диплостоматозной инвазии, а в озерах Акколь и Шоптыколь описторхозной и филометроидозной инвазии сазана, в озере Шалкар в рыбах лещ, язь, карась были выявлены описторхоз и диплостоматоз. Как видно из проведенных исследований наиболее распространенным и регулярно повторяющимся из года в год является гельминтозное заболевание рыбы описторхоз.

С 2001 по 2004 нами было использовано 2669 проб рыб (язь -645, карась - 414, карп -313, плотва- 298, красноперка - 569, лещ -131, окунь -189, сазан 110), доставленных из озер Жарлыколь, Узунколь, Коктал, Есей, Шалкар, Жаныбек-Шалкар Акмолинской области, а также с Центрального рынка г. Астаны.

При исследовании на паразитарные заболевания нами было установлено: описторхоз в 1496 исследуемых пробах, микроспоридиоз -54 ; диплостоматоз -84; помфорнихоз- 40; лигулез- 71.

Микроспоридиоз был обнаружен в карасе из озер Коржинколь, Саумалколь Егендыкольского района.

Описторхоз обнаружен в рыбе язь из озер Каражар Коктал, Есей, Шалкар, Жаныбек - Шалкар Коргалжинского района, в озере Шопкон Аршалинского района исследовали рыбу лещ.

Диплостомоз и помфорнихоз, филометроидоз были выявлены в рыбах, сазан, карп, карась, окунь приобретенных на Центральном рынке г. Астаны.

Таблица 2. Гельминтозные заболевания рыб

Болезни рыб	Виды рыб	Всего происследовано	В.т. заражено
микроспоридиоз	карась	78	54
описторхоз	язь	779	753
	каarp	226	190
	карась	420	299
	сазан	218	103
	лещ	173	151
диплостомоз	окунь	345	52
	карась	56	32
помфорнихоз	каarp	96	40
лигулез	карась	178	43
	каarp	100	28
ИТОГО		2669	1745

Нами была происследована рыба различных видов с 14 озер и отобранная с центрального рынка города Астаны, где выявлена экстенсивность и интенсивность описторхозной инвазии. В некоторых озерах экстенсивность инвазии в определенных видах рыбы составляла 98,0% при интенсивности инвазии 1-25 экземпляров. Наиболее инвазированной рыбой является язь, красноперка, чебак. В озере Шолак красноперка инвазирована на 90,6 % при интенсивности 1-5 экземпляра, язь инвазирован на 83,3% при интенсивности 1-60 экземпляров, в озере Биртабан язь на 90,3% при интенсивности 1-69 экземпляров, чебак на 80,5%, ИИ 1-18 экземпляров.

При исследовании рыбы разных озер Акмолинской области, нами установлено наибольшее выявление описторхозной и других инвазии в озерах Шолак, Биртабан, Кумды-Коль, Шолкар. Так, например: в озере Шолак встречалась такие инвазии как описторхоз (ЭИ 54,5%, ИИ1-60экз.), микроспоридиоз (ЭИ 13%, ИИ 1-7 экз.), лигулез (ЭИ 9%, ИИ 1-8экз.), диплостомоз (ЭИ 23,5%, ИИ 1-5 экз.)

В озере Биртабан во время наших исследований были выявлены такие инвазии как филометроидоз ЭИ на момент исследований составила 15% при ИИ 1-3 экземпляра, лигулез составила ЭИ 25%, ИИ- 1-4 экземпляра, на долю описторхоза 60% при ИИ 1- 25 экземпляров.

Также отображены показатели экстенсивности и интенсивности описторхоза и других инвазии в озере Кумды-Коль. В озере Кумды-Коль нами были установлены экстенсивность описторхозной инвазии составила 57%, диплостомоз 23%, филометроидоз 15% и лигулез 5%, при интенсивности инвазии 1-46, 1- 20, 1-5, 1-3 экземпляра соответственно.

Таблица 1. Анализ заболеваемости рыбы по данным областной и республиканской ветеринарных лабораторий водоемов Акмолинской области за период с 1994-2004г.

Параметры	Название озер										
	Коктал	Есей	Майбалык	Шолак	Барлыкколь	Узунколь	Шалкар	Акколь	Шоптыколь	Биртабан	Султанкелды
Заболевание	Диплостомоз	Описторхоз	Диплостомоз	Описторхоз	Лигулез, диплостомоз	Диплостоматоз	Описторхоз, диплостомоз	Описторхоз, филометроидоз	Описторхоз, филометроидоз	Описторхоз	Описторхоз
Виды рыбы	Язь	Язь, чебак, лещ	Окунь	Язь	Карась	Карась, лещ, окунь, карась	Лещ, язь, карась	Сазан	Сазан	Язь, лещ, линь	Язь, чебак, лещ, линь
Год регистрации	2004	1999 2001 2002 2003	1995 2003	1994 1999 2001 2003	1995 1998 2003	1995	1996 2000 2004	1996 1999 2001	1997 1999 2004	1999 2001 2004	2004

В озере Шолкар нами было установлено две сопутствующие инвазии диплостомоз (ЭИ 20%, ИИ 1-7 экз.) и описторхоз (ЭИ 80%, ИИ 1-63 экз.).

Таким образом, на основании проведенных исследований можно констатировать, что у исследованных рыб в озерах Коргалжино- Нуринского бассейна превалирует описторхоз.

Нами проведены органолептические и физико-химические исследования рыб, пораженных описторхозом.

Как видно из таблицы 3 при органолептическом исследовании наблюдались изменения в рыбах карась, карп, язь, сазан.

Карась при органолептическом исследовании был сомнительного качества, слизь мутная, липкая с кисловатым запахом, чешуя тусклая, легко выдергивается, состояние глаз и рта также показало, что рыбы сомнительного качества. Жабры у карася слабо-серого цвета, слизь мутная, запах кислый, жаберные крышки приоткрыты, показатели состояния внутренних органов, мышечной ткани и удельного веса в воде подтверждают сомнительное качество карася.

Исследуемая нами рыба плотва, красноперка, чебак показала что она является свежей поскольку все показатели при органолептическом исследовании соответствовали доброкачественности рыбы.

В рыбах карп, язь и сазан было установлено: слизь грязно-серого цвета, липкая, с кисловатым, а у язя и сазана с гнилостным запахом, чешуя тусклая, произвольно выпадает, глаза глубоко впалые, роговица глаз мутная, рот открыт, жабры грязно-зеленого цвета, слизь на жабрах мутная с гнилостным запахом. Внутренние органы, мышечная ткань и удельный вес в воде подтверждают недоброкачественность рыбы.

При проведении физико-химических исследований рыбы пораженной метацеркариями *Opisthorchis felineus* и другими гельминтозами нами было установлено, что рыба с отклонениями по органолептическим показателям имела ряд изменений от доброкачественности и при физико-химических исследованиях. Нами было установлено, в карпе рН составил 7,5, при бактериоскопии было обнаружено 63 диплококка в поле зрения микроскопа, реакция на аммиак положительная, присутствует сероводород, редуцтазная проба также говорит о недоброкачественности рыбы. Подобные изменения наблюдались у язя, сазана. Карась также имел ряд отклонений которые свидетельствовали о сомнительной свежести рыбы. Таким образом, из вышесказанного следует, что рыба отловленная из озер Акмолинской области Республики Казахстан зараженная метацеркариями *Opisthorchis felineus* приводит к снижению резистентности организма рыб и быстрой ее порче.

Таблица 3. Органолептические признаки рыбы при гельминтозах

№	Вид рыбы	n	Слизь	Чешуя	Глаза	Рот	Жабры	Внутренние органы	Мышцы	Удельный вес в воде
1.	Карась	30	Мутная, липкая, с кисловатым запахом	Тусклая легко выдергивается	Впалые. роговица тусклая	Приоткрыт	Слабо-серого цвета, слизь мутная, запах кислый, жаберные крышки приоткрыты	Брюшко вздуто. Кишечник вздут Желтое окрашивание внутренних органов. Почки, печень размягчены.	Рыба слабо сгибается. Мышцы легко отделяются от костей и разделяются на отдельные волокна	Не тонет, при поружении в воду, всплывает
2	Плотва Красноперка Чебак	23 57 28	Обильная прозрачная без постороннего запаха	Гладкая, блестящая, с трудом выдергивается	Выпуклые чистые, роговица прозрачная	Сомкнут	Ярко-красного цвета, слизь тягучая и прозрачная	Брюшко не вздуто хорошо различимы внутренние органы	Упругие. рыбы не сгибается. Мышечная тк. с трудом отделяется от костей.	Тонет
3	Карп	35	Грязно-серого цв. липкая с кисловатым запахом	Тусклая, произвольно выпадает	Глубоко впалые, роговица мутная	Открыт	Грязно-зеленого цвета, слизь мутная, запах гнилостный	Брюшко сильно вздуто. Внутренние органы плохо различимы (лизис)	Рыба легко сгибается. Мышечная ткань расплывается	Плавает на поверхности, брюшком вверх
4	Язь Сазан	66 26	Грязно-серого цв. липкая с гнилостным запахом	Тусклая, произвольно выпадает	Глубоко впалые, роговица мутная	Открыт	Грязно-зеленого цвета, слизь мутная, запах гнилостный	Брюшко разорвано. Внутренние органы плохо различимы (лизис)	Рыба легко сгибается. Мышечная ткань расплывается	Плавает на поверхности, брюшком вверх

Таблица 4. Физико- химические показатели рыбы при гельминтозах

№	Вид рыбы	n	Бактериоскопия (в поле зрения микроскопа)	Аммиак по Эберу	pH	Сероводород	Пероксидаза	Редуктазная проба
1	Карась	30	30 диплококков	Отрицательная	7,0±0,8	буро-коричневый	-	Обесцвечивается через 35 мин.
2	плотва	23	10 диплококков	Отрицательная	6,6±0,4	Не окрасился	++	Через 50 часа
3	Карп	35	63 диплококков	Положительная	7,5±0,8	Темно-коричневый	-	Через 40 мин
4	Язь	66	10 диплококков	Отрицательная	6,8±1,1	Не окрасился	+	Через 2,5 часа
5	Лещ	15	Единичные диплококки	Отрицательная	6,5±0,5	Не окрасился	+++	Через 2,5 часа
6	Окунь	22	Единичные диплококки	Отрицательная	6,5±0,9	Не окрасился	+++	Через 2,5 часа
7	Красноперка	57	Единичные диплококки	Отрицательная	6,5±0,4	Не окрасился	+++	Через 2,5 часа
8	Чебак	28	10 диплококков	Отрицательная	6,7±0,9	Не окрасился	+	Через 2,5 часа
9	Сазан	26	Более 60 диплококков	Положительная	7,1±1,1	Темно-коричневый	-	Через 25 мин.

Изучение фармакологических свойств настойки Saussurea amara

Определение летальных доз: при пероральном введении хомякам в эксперименте согласно методическим рекомендациям были использованы дозы:

285 мг/кг – максимальная доза для выявления предлагаемой токсичности

100 мг/кг – малая, близкая к предполагаемой терапевтической дозе

168 мг/кг – промежуточная доза (средняя геометрическая доза между высокой и низкой дозами – корень квадратный из произведения высокой и низкой доз), после чего методом более точного математического расчета по Прозоровскому-Фрумину были получены следующие результаты.

$$LD_{84} = (5,99 - 5,84 + 4,27 \cdot 275) / 4,27 = 275 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{50} = (5,0 - 5,25 + 1 \cdot 210) / 1 = 210 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{16} = (4,01 - 4,16 + 1,35 \cdot 145) / 1,35 = 145 \text{ мг/кг}$$

Таким образом, пробит-анализ Прозоровского-Фрумина позволяет с большой точностью определить летальные дозы настойки, при вычислении, которого установлено, что минимальная летальная доза у хомяков составляет 145 мг/кг.

Острая токсичность.

После установления минимальной летальной дозы на хомяках, которая составила 145 мг/кг, мы приступили к изучению острой токсичности. Дозовый режим – 140 мг/кг, 100 мг/кг, 70 мг/кг, в последующем для конкретизации токсических доз был применен пробит-анализ Прозоровского-Фрумина $Tox D_{84} + 140$ мг/кг, $Tox D_{50} = 100$ мг/кг, $Tox D_{16} = 70$ мг/кг.

Исследование влияния на организм настойки Saussurea amara проводили по следующим показателям: интегральные показатели (выживаемости, осмотр, прирост массы тела, общее поведение, потребление воды и пищи), общий анализ крови. При исследовании лейкоцитарной формулы крови выявлено, что на 7 сутки в динамике происходит нарастание лейкоцитоза, так в опытной группе №1 увеличивается количество лейкоцитов в 1,5 раза в сравнении с интактной группой ($p < 0,05$), в опытной группе №2 в 1,4 раза по отношению к интактным животным ($p < 0,05$), в опытных группах № 3 и 4 динамика незначительна, между опытными группами динамика также незначительна. В показателях сегментоядерных клеток динамика также нарастает: в опытной группе № 1 увеличение показателей в 2 раза в сравнении с интактной группой ($p < 0,001$) и в 1,6 раза по отношению к опытной группе № 4 ($p < 0,001$) и в 1,4 раз с опытной группой №3 ($p < 0,001$). И на 7 сутки появляется в опытных группах № 1 и №2, что немаловажно, токсическая зернистость. Это говорит о том, что данная доза уже на 7 сутки является токсической дозой для организма.

Хроническая токсичность.

Хомякам вводили дозы от 90 мг/кг до 70 мг/кг включительно.

Введение доз настойки Saussurea amara экспериментальным животным в хроническом опыте токсичности смертельных случаев не зафиксировано и не отмечалось грубых изменений.

Влияние настойки Saussurea amara на координацию движений проводили в тесте «горизонтальная проволока», через 1 час после введения данной настойки

тестировали в течение 2 суток. В норме животные (хомяки) цеплялись передними лапками за проволоку за 1-2 сек., подтягивались и старались зацепиться задними лапками. Регистрировалось количество животных в каждой группе, зацепившихся за проволоку хотя бы одной задней конечностью.

Для исследования горизонтальной, вертикальной и исследовательской активности у животных проводили тест «открытое поле». Критериями являлось число пересеченных квадратов 9 (горизонтальная активность); число вертикальных вставаний на задние лапки (вертикальная активность); число заглядываний в отверстия (исследовательская активность). Поведение животных наблюдали ежедневно по 3 мин. В течение 5 дней через 15 минут после введения настойки *Saussurea amara* по количеству пересеченных квадратов, числу вставаний на задние лапки и числу заглядываний.

При исследовании хронической токсичности на хомяках мы получили следующие результаты: наблюдалась положительная тенденция уменьшения массы тела к 30 суткам, максимально приближаясь к первоначальным показателям в сравнении с 14 сутками, когда происходит повышение массы тела практически в 1,5 – 2 раза ($p < 0,05$) по отношению к 7 суткам.

По данным лейкоцитарной формулы крови можно сделать определенное заключение, что при длительном введении высоких доз (80 мг/кг и 70 мг/кг) отмечается токсическое воздействие данной настойки на организм хомяков, а введение относительно минимальной дозы - 60мг/кг) даже длительно не вызывает особо грубых изменений.

В исследовании координации движений у хомяков при введении настойки *Saussurea amara* не было отмечено изменений в координации движений. При исследовании поведенческих реакций у хомяков было выявлено, что пероральное введение настойки растения *Saussurea amara* в соответствующих дозах вызывает активность поведенческих реакций, установлено, что хомяки пересекли наибольшее количество квадратов и большее число заглядываний в отверстия, но меньшее количество вертикальных вставаний на лапки.

У хомяков выявлена следующая тенденция дозовой токсичности: максимальная токсическая доза – 140 мг/кг, а минимальная токсическая доза – 70 мг /кг, поэтому для исследования дозозависимости противоописторхозного эффекта необходимо взять дозы – 50 мг/кг, 10 мг/кг и 5 мг/кг.

Определения дозозависимости противоописторхозной активности настойки *Saussurea amara* в экстракте.

Для выявления и исследования дозозависимости противоописторхозного действия нового растительного вещества, а именно настойки *Saussurea amara* была воспроизведена экспериментальная модель хронического описторхоза на хомяках и на собаках.

После проведения исследования данного нового вещества, на доклиническом этапе (токсическая оценка) на хомяках, при котором было выявлено, что минимальная токсическая доза – 70 мг/кг, является не летальной и не вызывает грубых токсических изменений в организме животных.

Поэтому для проведения исследования противоописторхозного действия данной настойки были взяты дозы: 50мг/ кг, 10 мг/кг и 5 мг/кг для хомяков и

для собак, основываясь на дозы хомяков был сделан перерасчет доз. Для собак оптимальной дозой является 100 мг/кг.

После перорального введения хомякам и собакам метацеркариев описторхиса на 30 - 35 день были выявлены клинические проявления описторхоза: у 65% (26 хомяков) животных было облысение волосяного покрова и появления шелушения кожи ($p < 0,05$), у 25 (10 хомяков) животных обнаружено достоверное повышение массы тела у 10% (4 хомяка) при наблюдении отмечалась адинамия и агрессивность. Почти такая же картина наблюдается и у собак.

Показатели общего состояния у собак, зараженных *Opisthorchis felineus*

Для изучения клинических проявлений описторхозной инвазии в серии экспериментов на 85 беспородных щенках. Была изучена динамика показателя общего состояния.

Общее состояние животных до воспроизведения им описторхозной инвазии оценивалось в 0 баллов.

Первые клинические проявления наблюдались спустя 1,5 месяца после заражения. Когда в клинике нами было установлено, наличие всех вышеизложенных синдромов и показатель общего состояния животных опытной №1 группы составил $1,8 \pm 0,10$ баллов. Увеличение данного показателя объясняется тем, что к этому сроку личинка проникает через проток в желчные ходы печени, где достигает половой зрелости. По утверждению некоторых ученых Г.И. Дикова, М.С. Сабаншева, М.Ж. Сулейменова - личинка во время миграции по организму травмирует стенки желудочно - кишечного тракта, желчные ходы печени, кроме этого изменяются функции органов и систем. На третий месяц у животных опытной №1 ПОС увеличился до $24,25 \pm 0,63$ баллов, что соответствовало средней степени тяжести течения описторхозной инвазии. В этот период у многих животных нарастали признаки интоксикации, что сопровождалось понижением аппетита. У всех животных отмечена потеря массы тела, из них у 30% - до 5% от исходных данных. Увеличилось количество гипоактивных животных, что составило 50% от общего числа собак. Температура тела держалась в пределах $38,58 \pm 0,76^{\circ}\text{C}$. Впервые с момента заражения у животных наблюдался синдром поражения желудочно-кишечного тракта, который проявлялся в виде появления жидкого кала, постепенно переходящего в полное отсутствие его. Испражнения были водянистые, с неприятным запахом и иногда с примесью крови и слизи. У 12% собак наблюдалась однократная рвота съеденной пищей, желчью. Число животных, у которых наблюдался аллергический синдром (покраснение, выпадение волос, зуд) составило 25%.

На шестой месяц ПОС в исследуемой группе животных достиг максимальных значений и составил $32,46 \pm 0,67$ баллов, что соответствовало тяжелой степени состояния. В данный период времени был зарегистрирован синдром интоксикации. Зарегистрированы наивысшие цифры температурной реакции - $40,09 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$. Поведенческая реакция была различной от угнетенной (животные прятались в подстилку) до возбужденной (животные метались по вольеру, прыгали на сетку, кусали друг друга). Наблюдалось резкое снижение

аппетита. Потеря массы тела у 21,4% животных составила более 8%, у 79,6% животных – до 10%. Кроме синдрома интоксикации также наблюдался синдром поражения желудочно – кишечного тракта, консистенция каловых масс была различной (водянистой с патологическими примесями: крови, слизи) и твердой. В 50% случаев отмечался аллергический синдром, сильный зуд до образования расчесов кожи в области хребта, хвоста и ушей.

На 9 месяц показатели общего состояния животных снизились до $27,71 \pm 0,84$ баллов, что в 1,2 раза было ниже, в сравнении с 6-м месяцем ($P < 0,001$). Данный факт свидетельствует о положительной динамике описторхозной инвазии.

На 12-й месяц в исследуемой группе животных ПОС составил $18,61 \pm 2,82$ баллов, что в 1,4 раза было ниже показателей 9-го месяца ($P < 0,01$) Это также свидетельствовало о средней степени тяжести состояния животных.

Таким образом, течение описторхозной инвазии у собак можно разделить на три периода: острый период описторхозной инвазии, который включал период начала клинических проявлений (1,5 - 3 месяца) после заражения животных; хронический период (6-9 месяцев) и период спада клинических проявлений (12 месяцев).

Противогельминтная активность *Saussurea amara* при заражении собак описторхозом.

Для выявления противоописторхозной активности настойки *Saussurea amara* и токсической дозы нами были проведены экспериментальные исследования *in vivo* и *in vitro*.

После заражения на 30-35 сутки нами был проведен контроль копроскопией, в дальнейшем после вскрытия определяли число описторхов в печени, желчных протоках и желчном пузыре.

При исследовании фекалий на наличие яиц гельминта было установлено, что зараженность опытных групп составила 98 % по каждой группе животных. При макроскопическом исследовании было выявлено, что расположение внутренних органов правильно и нет грубых патологических изменений органокомплекса.

Для исследования противоописторхозной эффективности из заражённых собак извлекались половозрелые особи. Их помещали с помощью пинцета на предметное стекло, наносили по одной капле на половозрелую мариту и наблюдали под микроскопе МБИ – 15 (7x15). При этом было выявлено, что раствор активной настойки *Saussurea amara* проникает через кутикулу половозрелой трематоды и происходит нарушение целостности мембраны. Таким образом, происходило нарушение подвижности трематоды, а затем гибель самой трематоды.

При введении животным больных описторхозом доз 100 мг/кг, 80 мг/кг и 50 мг/кг противоописторхозный эффект был выявлен на 10 –15 –21 день, то есть при копроскопии в анализе кала не было обнаружено яиц гельминтов. А так же при макроскопическом контроле органов дегельминтизированных животных не было выявлено трематод, что свидетельствовало о наличии

положительного противоописторхозного действия данной настойки, также в крови не обнаруживалось патологических изменений.

При исследовании интенс-эффективности (%) было выявлено, что доза 300 мг/кг непрямая активность равна 86%, при дозе 250 мг/кг – 50%, при дозе 150 мг/кг – 16% эти дозы являются токсичными, а при дозе 100 мг/кг эффективность составила 80%, при дозе 80мг/кг интекс-эффективности составил 45% и 50мг/кг – 40% можно констатировать, что раствор активной настойки *Saussurea amara* в соответствующих дозах обладает высокой противоописторхозной активностью.

Сравнительная характеристика лабораторных показателей при описторхозе собак

Основной задачей данного этапа наших исследований являлась комплексная оценка функционального состояния печени с изучением особенностей поражения гепатобилиарной системы у экспериментальных собак, зараженных описторхозом в ранние и отдаленные сроки после антигельминтной терапии. С этой целью у экспериментальных животных всех четырех групп в течение года, после заражения описторхозом изучали гемограмму, исследовали кровь на белок и биохимические показатели.

Сравнительный анализ гемограммы показал положительную динамику патологических процессов, происходящих в организме животных, зараженных описторхозом, благодаря антигельминтной терапии. Причем оба препарата показали одинаковую динамику в течение всего срока эксперимента.

Для более глубокого анализа происходящих в зараженном организме патологических процессов нами было произведено исследование в сыворотке крови активных ферментов и концентрации метаболитов, обмен которых регулируется печенью.

Выделение комплекса изменений биохимических показателей печени, сопровождающихся развитием описторхоза в динамике необходимо для подтверждения эффективности средств, используемых для лечения данного паразитоза.

Динамика изменения печеночных проб (АЛТ, АСТ, ГГТП) носила во всех этапах исследования разноречивый характер. В то же время индекс АСТ/АЛТ более красноречиво указывал на имеющуюся динамику увеличения холестатических нарушений в опытной №1 группе, где он после 3 месяцев застоя резко возрастает к 1 году в 9 раз. В то же время в обеих опытных № 2, №3 группах леченных животных этот индекс хотя и повышался во все этапы эксперимента, но имел более мягкую постепенную динамику.

Индекс ГГТП/АСТ в контрольной группе так же изменялся скачкообразно, также впрочем, как и в опытной группе, получавшей дронцит. В то же время у животных, пролеченных настойку *Saussurea amara*, ко второму месяцу эксперимента он стабилизировался и уже в дальнейшем не изменялся.

Таким образом, значение индексов де Ритиса в группе животных, пролеченных настойкой *Saussurea amara* имел более стабильную динамику. А если учесть, что эти индексы характеризуют хроническое проявление холестатических нарушений, можно утверждать, что через год после лечения

соскореет имевшиеся явления холестаза достоверно снижаются. Это подтверждается и динамикой изменения показателей холестерина и билирубина.

Что касается тимоловой пробы и активности ЛДГ, то через год, несмотря на различную динамику после начала эксперимента, во всех экспериментальных группах эти показатели уравнились и не носили информативного характера.

Уровень креатинина во всех экспериментальных группах, имел динамику роста в течение всего эксперимента. К году в опытной №1 и в опытных №2, №3 группах превышал показатель контрольной группы. Что позволило сделать вывод о том, что оба применяемых препарата не способствовали улучшению выделительной функции почек.

Исследование показателей белковых фракций в крови собак через 1 и 3 месяца после начала эксперимента в опытной №1 группе животных никаких изменений не выявило, все показатели в эти сроки не отличались от показателей контрольной группы. В опытной группе, получавшей настойку *Saussurea amara*, ко второму месяцу выявлено снижение уровня гамма-глобулинов в 1,8 раз и повышение уровня альбуминов в 1,3 раза. В то же время в группе, получавшей дронцит, ко второму месяцу исследования наблюдается повышение уровня всех фракций белков, кроме гамма-глобулинов.

Таким образом, комплексная оценка функционального состояния печени, проводимая нами на экспериментальных собаках, позволила сделать вывод о тех, изменениях биохимических показателей крови, которые имели место в эксперименте у опытных №1 группы животных, не получавших антигельминтную терапию. Их можно сгруппировать в два синдрома: холестаз и воспаление.

Как известно, к развитию синдрома холестаза приводит нарушение моторной функции желчного пузыря и сфинктерного аппарата желчевыводящих путей. Расстройство печеночно-кишечной циркуляции приводит к застою желчи и к изменению ее функционально-химических и бактериостатических свойств. Следствием этого является поступление в кровь некоторых составных частей желчи, которые вызывают увеличение таких показателей, как билирубин и холестерин.

В нашем эксперименте с моделированием описторхоза у собак, как видим, наблюдалась именно такая картина биохимических показателей. При этом динамический рост этих показателей в течение года говорит о хронизации явлений холестаза у не леченных животных. Лечение больных собак дронцитом мало способствовало устранению данного синдрома. В то время как дегельминтизация настойкой *Saussurea amara* уже через месяц снижала активность ферментов и нормализовала показатели холестаза к году.

Поэтому можно говорить о том, что препарат растительного происхождения способствует не только активной дегельминтизации при описторхозе, но и снижает явления холестаза. В основе двигательных нарушений желчевыделительной системы, обуславливающей развитие холестаза, лежит механическое раздражение ветвей парасимпатической и симпатической

нервной системы из-за скопления в желчных ходах гельминтов, их яиц, слизи и слущенного эпителия, что само по себе препятствует оттоку желчи. Активная дегельминтизация, вызванная настойкой *Saussurea amara*, а также антиоксидантные свойства составных компонентов препарата приводят к выраженному снижению явлений холестаза, а значит намного снижают риск хронизации процесса.

Таким образом, по результатам биохимических показателей крови экспериментальных животных, зараженных описторхозом, в основе антигельминтной активности настойки *Saussurea amara* лежит антихолестатическая и противовоспалительная активность, обусловленная сложным составом препарата.

Патологические изменения в органах.

В ходе исследований нами было установлено: в печени больных, не получавших лечение животных, при макроскопии наблюдалось увеличение объема органа, напряжение капсулы, края органа притупленные, на разрезе слабо выражена дольчатая структура. Цвет органа варьирует от серо-коричневого до коричневого цвета с желтым оттенком.

При гистологических исследованиях нами было установлено развитие зернистой дистрофии, ядро плохо просматриваются, в периферии долек печени отмечается средней величины и мелкие вакуоли, в протоплазме гепатоцитов отмечается деструкция печеночных балок и некрозы. В некоторых случаях отмечалась атрофия печеночных балок, гепатоциты сморщенные, межлочечковая соединительная ткань отечная, строма рыхлая. Печеночные клетки диформированы, ядра в состоянии пикноза, центральные вены расширены заполнены кровью, в некоторых случаях наблюдалась периваскулярная инфильтрация, отек стромы кровеносных сосудов, в других долях центральные вены сдавлены, особенно это отмечается в долях с признаками зернистой дистрофии.

В триадах сосуды, спавшие кроме того в отдельных долях, отмечали усиленную пролиферацию с размножением лимфоцитов и гистиоцитов. В отдельных случаях нами были отмечены признаки некробиоза в гепатоцитах.

Купферовые клетки не просматриваются.

Одновременно в желчном пузыре отмечали признаки разраста соединительной ткани и гиперплазию.

При макроскопическом осмотре желчного пузыря было обнаружены: десквамация ворсинок, уплощение эпителиальных ворсин, в строме слизистой и подслизистой оболочек очаговое воспаление. При микроскопии почек был зафиксирован желчный пигмент в просвете канальцев почки.

У животных, зараженных описторхозом и не получавших лечение и у животных, которые получали при лечении настойку *Saussurea amara*, изменений в почках не наблюдалось, а у животных получавших Дронцит при изучении микроскопической картины почек было установлено пролиферативное изменение, которое выражено экссудативными и альтеративными процессами.

Серозный экссудат в небольших количествах наблюдался между канальцами в просвете клубочковых капсул, вызывая в интерстициальной соединительной ткани отек и слабую инфильтрацию лейкоцитами. Проплифация нами была отмечена в виде клеточного скопления вокруг сосудов, около клубочков и между канальцами, что привело к отодвиганию канальцев друг от друга, сдавливая их.

Макроскопически почки увеличены, капсула с них снимается легко. На поверхности были замечены различной величины округлой формы белые пятна. Очаги поражения несколько выступают под поверхность и резко ограничены от окружающей ткани. На разрезе имеют кругловатую форму, поверхность разреза влажная, ровная и напоминает саркоматозную ткань. Ткань почки, расположенная между пятнами, бледная, что свидетельствует о развитии острого нефрита.

ВЫВОДЫ

1. В Акмолинской области Республики Казахстан наибольшую опасность по описторхозу рыбы представляют озера Шолак (ЭИ – 86,9% ИИ 1-60 экземпляров) Биртабан (ЭИ 81,2% ИИ 1-169), Жарлыкколь (ЭИ 74,8 ИИ 1-25), Шалкар (ЭИ – 65,7% ИИ –1-63 экз.).
2. Из рыб семейства карповых наиболее восприимчивы к заражению метацеркариями *Opisthorchis felineus* (%): язь – 98, чебак – 89, красноперка – 86, что при ветеринарно- санитарной оценке рыбы служило основанием для определения ее дальнейшего использования в качестве продукта питания или технического сырья.
3. При изучении дозозависимости противоописторхозной активности настойки растения *Saussurea amara* установлены эффективные дозы для хомяков от 10 мг/кг до 50мг/кг. для собак от 80 до 100мг/кг массы животного.
4. При исследовании противоописторхозной активности настойки *Saussurea amara* в сравнении с дронцитом установлено, что настойка *Saussurea amara* более перспективна для лечения больных, так как она обладает наиболее высокой противоописторхозной активностью и является наименее опасной для организма.
5. При экспериментальном описторхозе собак выявлены синдромы интоксикации, расстройства желудочно-кишечного тракта, аллергенности, нарушения гепатобилиарной системы.
6. Патоморфологические изменения у собак при экспериментальном описторхозе проявлялись гепатопатологией, в виде зернистой дистрофии и деструкции гепатоцитов, атрофии и дисконфлексии печеночных балок, утолщением стенки желчного пузыря в связи с разрастанием и фиброгизацией соединительной ткани; подострым катаральным гастритом, паренхиматозной дистрофией почек и миокарда.

7. Гематологическими и биохимическими исследованиями крови у собак при описторхозе установлено: возрастание СОЭ, увеличение количества лейкоцитов, эозинофилия и лимфоцитоз, повышение содержания билирубина, холестерина при увеличении показателей аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, гипопротейнемия и гипоальбуминемия.
8. Применение настойки *Saussurea amara* в сравнении с дронцитом ускоряет излечение больных описторхозом в течении 10 дней без побочных осложнений, что на 25 дней меньше, чем при использовании дронцита.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения собак при описторхозе рекомендуем применять настойку *Saussurea amara* в течение 10 дней в дозе 100 мг/кг массы животного.
2. Не допускать скармливания сырой рыбы собакам.
3. В качестве дополнительного теста в постановке диагноза на описторхоз у собак ветеринарным врачам необходимо обращать внимание на основные клинические симптомы болезни: интоксикацию, воспаление желудочно-кишечного тракта, аллергические проявления, гепатопатологию.
4. В Акмолинской области необходимо провести ветеринарную паспортизацию пресных водоемов.
5. Рекомендовать природоохранным организациям разработку программ по профилактике загрязнения пресноводных водоемов *Opisthorchis felineus*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Михалева Е.В. Результаты исследования рыб семейства карповых на описторхоз в водоемах Акмолинской области. /Михалева Е.В. // Вестник науки Казахского аграрного университета им. С. Сейфуллина Т. III, № 8. Астана, 2003 – С. 124-127.
2. Кажемуратов А.А. Гельминтозные болезни рыб в северном регионе Акмолинской области. / Кажемуратов А.А., Михалева Е.В.// Вестник науки Казахского аграрного университета им. С. Сейфуллина Т III, № 9. Астана, 2003 – С.102-108.
3. Михалева Е.В. Клинико-гематологические показатели собак при экспериментальном описторхозе. /Михалева Е.В. // Второй международный ветеринарный конгресс. Алматы, 2003. С. 225-229.
4. Михалева Е.В. Биохимические аспекты противопаразитарной эффективности биологически – активной субстанции растительного сырья Казахстана. /Михалева Е.В., Майканов Б.С., Баетшева Д.А. // Сборник научных трудов. Т III. Воронеж, 2004. С. 50-55.

5. Михалева Е.В. Клинико-иммунологические исследования при описторхозе у собак. /Михалева Е.В. // Диагностика, лечение и профилактика болезней животного. Сборник научных трудов. Т III. Воронеж, 2004. С. 82-86.
6. Майканов Б.С. Фитотерапия экспериментального описторхоза собак. / Майканов Б.С., Михалева Е.В., Мушанова З.Е. // Вестник № 4 Семипалатинского государственного университета им. Шакарима. Семей, 2004. С.94-98.
7. Михалева Е.В. Клинико- иммунологические показатели при описторхозе собак. /Михалева Е.В. // Сборник научных трудов факультета ветеринарной медицины. Т III Воронеж, 2004. С. 87-93.
8. Баетшева Д.А. Изучение биохимических показателей функции печени у экспериментальных хомячков, зараженных описторхозом на фоне антигельминтной терапии, различными препаратами. / Баетшева Д.А., Михалева Е.В., Мухамбетов Д.Д., Левина И.А. // Вестник Южно - Казахстанской медицинской академии № 3 (23), Шымкент, 2005. С.89-91.
9. Михалева Е.В. Рекомендации по лечению описторхоза собак. / Михалева Е.В., Майканов Б.С. // Астана, 2005.-С.9.

*Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 08.12.2005 г. Усл. п.л 1,0.
Заказ № К-3820. Тираж 100 экз. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*



№ 25989

РНБ Русский фонд

2006-4

29689