



На правах рукописи

Шабалина Елена Васильевна

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
КСИМЕДОНГИДРОХЛОРИДА И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ  
ЭЙМЕРИОЗЕ КРОЛИКОВ**

16.00.04. – ветеринарная фармакология с токсикологией

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань – 2009

20 ЯНВ 2009

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана».

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор  
**Лутфуллин Минсагит Хайруллович**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор  
**Новиков Валерий Александрович**  
доктор биологических наук  
**Гасанов Ализде Солтан оглы**

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия» (г. Чебоксары).

Защита состоится « 10 » февраля 2009 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д – 220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (ФГУ «ФЦТРБ – ВНИВИ» 420075, г. Казань, Научный городок – 2, тел. (843) 239-53-33, fax 239-71-31).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ФЦТРБ - ВНИВИ» (г. Казань).

Автореферат опубликован на официальном сайте учреждения [www.fguvnivi.narod.ru](http://www.fguvnivi.narod.ru)

Автореферат разослан « 9 » января 2009 года.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Эймериоз среди сельскохозяйственных животных распространен как в зарубежных странах (А. Lineburg, 1987; А.А. Kasim, 1987; Hiere, 1993), так и в Российской Федерации (Е.Л. Ушакова, В.А. Стрельчик, 2002; О.Е. Мазур, 2003 и др.). По данным исследований М.Х. Лутфуллина, М.Д. Корнишиной, Ю.Н. Шиляевой (2003) и др. эймериоз кроликов широко распространен и в зерохозяйствах РТ.

Химиотерапия в настоящее время действенная и экономически результативная мера борьбы с эймериозом животных и птиц. Для химиопрофилактики и лечения эймериоза кроликов предложен ряд препаратов, обладающих антиэймериозной активностью: химкокцид, салиномицин, нитрофурановые, сульфаниламидные препараты, и др. (С.А. Плешаков, С.В. Ларионов, 1997; Е.Н. Гришко, 2003). Однако большинство рекомендуемых препаратов и методов лечения по разным причинам не удовлетворяют современным требованиям практической ветеринарии.

Изучение иммунологических аспектов терапии гельминтозов животных позволило выявить отрицательное влияние некоторых антгельминтных препаратов на реакции клеточного и гуморального иммунитета. В связи с этим приобрела актуальность разработка комплексного подхода к лечению гельминтозов на основе сочетанного применения иммуноактивных и антгельминтных препаратов с целью ослабления или устранения нежелательных побочных эффектов антгельминтиков на иммунную систему, повышения терапевтической эффективности лечения и иммунологических потенциалов, снижения вероятности возникновения рецидивов заболевания (О.И. Мамыкова, 1990; Э.Х. Даугалиева, В.В. Филиппов, 1994; С.Е. Ремизова, 2005).

Одним из средств способных оказывать лечебно – профилактическое действие при эймериозе кроликов может быть ксимедонгидрохлорид. В медицинской и ветеринарной литературе ксимедон оказался эффективным при лечении многих болезней. А сведения о ксимедонгидрохлориде отсутствуют.

Цель и задачи исследований. Цель исследований – провести фармако-токсикологическую оценку ксимедонгидрохлорида и

изучить его лечебно-профилактическую эффективность при эймериозе кроликов.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить параметры острой и субхронической токсичности ксимедонгидрохлорида;
- изучить местное действие на кожу и слизистые оболочки, а так же отдаленные последствия действия ксимедонгидрохлорида;
- изучить гематологические и иммунологические показатели у лабораторных животных в зависимости от дозы, кратности и способа введения ксимедонгидрохлорида;
- исследовать профилактическую эффективность ксимедонгидрохлорида при экспериментальном эймериозе кроликов;
- определить влияние ксимедонгидрохлорида на эндогенное развитие эймерий.

Научная новизна. Впервые определены параметры токсичности ксимедонгидрохлорида. Доказано отсутствие в рекомендуемых дозах раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки.

Установлены доза, кратность и способ применения ксимедонгидрохлорида, вызывающие повышение уровня содержания эритроцитов, гемоглобина, Т- и В-лимфоцитов в крови у здоровых лабораторных животных.

Впервые установлено, что введение ксимедонгидрохлорида кроликам профилаксирует их от заражения эймериозом. Введение этого препарата совместно с фуразолидоном по разработанной схеме подавляет процесс шизогонии и гаметогонии и тем самым предотвращает заражение внешней среды ооцистами эймерий.

Практическая ценность.

Изучен и предложен препарат ксимедонгидрохлорид, не обладающий токсичностью, раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки, не оказывающий отрицательного воздействия на функции репродуктивной системы самцов. Препарат целесообразно использовать для профилактики эймериоза кроликов в дозе 30 мг/кг двукратно с интервалом в 7 дней, а для лечения животных, зараженных ооцистами эймерий, применять ксимедонгидрохлорид в той же дозе совместно с фуразолидоном (доза 20 мг/кг) двумя пятидневными курсами с интервалом 3 дня.

### Внедрение результатов исследований.

Материалы диссертации вошли в методические рекомендации: «Диагностика, лечение и профилактика эймериоза кроликов», одобренные методической комиссией, а также Ученым Советом ФГОУ ВПО КГАВМ 28 февраля 2007 года.

Получен патент на изобретение № 2322235 «Способ профилактики и лечения эймериоза животных и птиц». (Зарегистрирован 20 апреля 2008 г., срок действия патента истекает 23 июня 2026 г.).

На основании проведенных исследований составлено временное наставление по применению ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов, которое утверждено в установленном порядке Главным управлением ветеринарии КМ РТ 17.10.07.

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены и обсуждены на: третьей международной конференции, посвященной современному состоянию и перспективам развития ветеринарных биопрепаратов (Алма-Ата, 2006); итоговой научной конференции Казанского научного центра Российской академии наук (Казань, 2006); всероссийской научно-практической конференции (Казань, 2006); всероссийской научно-практической конференции по актуальным проблемам агропромышленного комплекса (Казань, 2007); международной научно-практической конференции, посвященной 135-летию академии (Казань, 2008); на расширенном заседании профессорско-преподавательского состава кафедр фармакологии и токсикологии, паразитологии и радиобиологии, эпизоотологии, патологической анатомии и гистологии, общей и частной хирургии (Казань, 2008).

Публикация. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе три в рецензированных ВАК РФ изданиях.

### Основные положения, выносимые на защиту:

- токсикологическая оценка ксимедонгидрохлорида;
- влияние ксимедонгидрохлорида на гематологические и иммунологические показатели у лабораторных животных в зависимости от дозы, кратности и способа введения препарата;
- лечебно – профилактическая эффективность ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 153 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 7 диаграммами, 24

таблицами. Включает ведение, обзор литературы, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические предложения и приложение. Список литературы включает 234 источника, в том числе 35 иностранных авторов.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Материалы и методы

Работа выполнена на кафедре паразитологии и радиобиологии, ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана» с 2004 по 2008 г.

Экспериментальная часть работы выполнена в лабораторных условиях на белых мышах, белых крысах и кроликах.

В работе использовали гидрохлорид 2-окси-4,6-диметилперимидин (ксимедонгидрохлорид). Представляет собой кристаллическое вещество желтоватого цвета, без запаха, хорошо растворим в воде, в разведенной соляной кислоте, растворах едких щелочей, в хлороформе, трудно растворим в ацетоне, нерастворим в бензине, толуоле, диэтиловом эфире.

Острую токсичность ксимедонгидрохлорида изучали на 84 мышах массой 20 - 25 г. Соединение вводили однократно в различных дозах внутрижелудочно и внутрибрюшинно. Расчеты параметров острой токсичности осуществляли по Керберу (1963).

Кумулятивные свойства ксимедонгидрохлорида изучали по методу «субхронической токсичности» на 28 белых мышах. Животным ежедневно вводили препарат в дозе  $1/10$  ЛД<sub>50</sub> в желудок в возрастающих дозах. Расчет коэффициента кумуляции производили по формуле, предложенной Каганом и Станкевичем (1970).

Определение раздражающих свойств препарата на кожу и слизистые оболочки проводили согласно методическим указаниям (1985).

Эмбриотоксическое действие изучали на 27 самках и 12 самцах белых крыс согласно «Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986).

На 16 кроликах изучали гематологические показатели при разных способах введения ксимедонгидрохлорида (алиментарный, подкожный и внутримышечный).

Так же изучали гематологические и иммунологические показатели у белых крыс после двукратного внутривентрикулярного введения ксимедонгидрохлорида в дозах 20, 30 и 40 мг/кг. Для этого использовали 60 белых крыс, массой 100 - 130 г. Кровь для исследования брали до и через 7, 15 и 30 дней после повторного введения препаратов.

На 30 кроликах изучали профилактическую эффективность ксимедонгидрохлорида, ксимедона, тимогена, иммунала и левамизола.

Через 14 дней после введения препаратов опытных кроликов инвазировали смешанной культурой спорулированных ооцист эймерий (*Eimeria stiedae*, *E. magna*, *E. perforans*, *E. media*, *E. intestinalis* и др.).

На 30 кроликах, экспериментально зараженных ооцистами эймерий, изучали лечебную эффективность ксимедонгидрохлорида, ксимедона и фуразолидона в отдельности, а так же при совместном их применении.

Для оценки эффективности препаратов пользовались тремя критериями интенсивности инвазии (ИИ), интенсивности (ИЭ) и экстенсивности (ЭЭ).

Фекалии на наличие ооцист кокцидий исследовали по Фюллеборну и модифицированным методом.

Содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов лейкоцитарную формулу, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли общепринятыми методами.

Т-лимфоциты определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Wybran et al., 1972). В-лимфоциты выявляли реакцией комплементарного розеткообразования с эритроцитами барана, образующими иммунные комплексы с противозэритроцитарными антителами и комплементом по Е.Ф. Чернушенко, Л.С. Косоговой (1981).

Статистическую обработку цифрового материала осуществляли на компьютере с использованием программного обеспечения Microsoft Office 2003. Достоверность устанавливали по методу Стьюдента – Фишера (И.А. Плохинский, 1970).

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Определение параметров острой токсичности ксимедонгидрохлорида**

Нами изучена токсичность ксимедонгидрохлорида при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введениях белым мышам.

В опыте при внутрижелудочном введении были использованы 42 белые мыши обоего пола с живой массой 20 – 25 г.

Исследуемое вещество в виде водной суспензии вводили однократно в желудок при помощи зонда. Белым мышам шести опытных групп препарат вводили из расчета 3000 мг/кг, 6000 мг/кг, 9000 мг/кг, 12000 мг/кг, 15000 мг/кг, 18000 мг/кг. Контрольная группа получала 0,6 мл дистиллированной воды. Животных допускали к корму не раньше, чем через 3 часа после введения препарата. Водой не ограничивали.

Ксимедонгидрохлорид после однократного внутрижелудочного введения в дозе 3000 мг/кг не вызывал у мышей изменений в поведении и общем состоянии.

После введения мышам препарата в дозе 6000 мг/кг, животные проявляли беспокойство, потирали лапами мордочки, выгибали спину. Одна мышь погибла через 48 часов после введения препарата.

Препарат в дозе 9000 мг/кг вызвал у животных двигательную активность (в течение 2 – 3 минут), наблюдалась усиленная саливация, учащение дыхания, через 20 – 30 минут возбужденное состояние сменялось угнетением. Две мыши погибли на 4 день.

В дозе 12000 мг/кг препарат оказывал на животных более выраженное действие, чем 9000 мг/кг. Уже через 10 минут возбуждение сменялось угнетением, мыши забивались в угол, сидели сгорбившись, через 20 минут снова стали активны. Четыре мыши погибли в течение первых двух суток.

После введения препарата в дозе 15000 мг/кг на 3 – 7 день из группы погибли 5 мышей. При вскрытии погибших мышей отмечали в кишечнике накопление газов, полнокровие сердца, легких, печени и головного мозга.

При введении препарата в дозе 18000 мг/кг отмечалось общее угнетение, животные теряли подвижность, не реагировали на звук, свет и болевые раздражители, смерть наступала через 10-45 минут.

Проведенными расчетами установлено, доза ксимедонгидрохлорида, вызывающая гибель 50% подопытных животных при внутрижелудочном введении ( $LD_{50}$ ), равняется  $10750 \pm 1069$  мг/кг. Вариабельность смертельных доз определяли

отношением показателей  $LD_{84}$  (15120 мг/кг) к  $LD_{16}$  (4960 мг/кг). В опыте при внутрижелудочном введении этот показатель равен 3,05.

Согласно ГОСТ 12. 1. 007 – 76. ксимедонгидрохлорид относится к веществам IV класса токсичности.

Острую токсичность при внутрибрюшинном применении изучали на 42 беспородных белых мышах обоего пола с живой массой 18 – 24 г.

Белым мышам шести опытных групп исследуемое вещество, растворенное в воде для инъекций, вводили внутрибрюшинно, однократно в дозах 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг, 3000 мг/кг.

Однократное внутрибрюшинное введение исследуемого препарата в дозе 500 мг/кг не вызывало у мышей изменений в поведении и общем состоянии животных. Эту дозу мы определили как максимально переносимую.

После введения мышам препарата в дозе 1000 мг/кг животные проявляли беспокойство, выгибали спину, осторожно передвигались по клетке. В течение первых 2 суток пали 2 мыши.

В дозе 1500 мг/кг и 2000 мг/кг препарат оказывал на животных более выраженное действие, чем 1000 мг/кг.

После введения мышам препарата в дозе 2500 мг/кг, отмечалось угнетение, отказ от корма и воды, взъерошенность шерстного покрова, снижение реакции на внешние раздражители, спустя 1 – 2 часа после введения препарата отмечалось нарушение координации движения. Гибель 5 мышей наступала в течение первых 2-х часов.

При введении препарата в дозе 3000 мг/кг отмечалось угнетенное состояние, снижение тактильной и болевой чувствительности, гибель всех мышей наступала через 10-25 минут.

Проведенными расчетами установлено, доза ксимедонгидрохлорида, вызывающая гибель 50% подопытных животных при внутрибрюшинном введении ( $LD_{50}$ ), равняется  $1583,3 \pm 186,3$  мг/кг. Вариабельность смертельных доз определяли отношением показателей  $LD_{84}$  (2556 мг/кг) к  $LD_{16}$  (842 мг/кг), который составил 3,03.

### 3.2. Определение кумулятивных свойств ксимедонгидрохлорида

Выявление эффекта кумуляции при внутрижелудочном введении проводили по методу субхронической токсичности на 28 мышцах обоего пола с живой массой 18 – 22 г.

Исследуемое вещество в виде водной суспензии вводили мышам внутрижелудочно при помощи зонда в течение тридцати дней. Первоначальная ежедневная доза была 1075 мг/кг, что составляет 1/10 часть от однократной ЛД<sub>50</sub> при внутреннем введении. Контрольным животным вводили такое же количество дистиллированной воды. Затем каждые последующие 4 суток дозу препарата увеличивали в 1,5 раза.

После введения исследуемого вещества мыши проявляли беспокойство, пытались зарыться в подстилку. Признаки токсического отравления стали проявляться на восьмые сутки после первоначального введения препарата, когда вводимая доза была 1612,5 мг/кг, а суммарная доза – 10750 мг/кг. В последующие дни мыши были угнетены, шерсть взъерошена, аппетит снижен, повышенная жажда, цианоз слизистых оболочек, диарея.

Первая мышь пала через 10 дней с начала опыта, получив суммарную дозу 13168,8 мг/кг, а последняя мышь пала на 30 день, получив суммарную дозу 175076,6 мг/кг.

Установлено, что коэффициент кумуляции при внутрижелудочном введении равен 8,3.

Согласно классификации Л.И. Медведя (1986) ксимедонгидрохлорид относится к веществам со слабовыраженной кумуляцией.

### **3.3. Местное действие ксимедонгидрохлорида на кожу и слизистые**

Местное действие ксимедонгидрохлорида изучали на 33 кроликах живой массой 2,5 – 3 кг.

Нами изучено действие 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1 %, 2%, 5% и 10% водного раствора ксимедонгидрохлорида. Приготовленный препарат наносили в объеме 2 мл однократно на ранее выстриженный участок кожи у кроликов. На параллельный участок кожи наносили такой же объем дистиллированной воды.

О раздражающем действии препарата судили визуально по изменениям, возникающим на месте аппликации (гиперемия, появление отека, утолщение кожной складки, некроз, расчесы).

Наблюдение за животными вели в течение первых 6 часов после аппликации, затем 1 раз в день в течение 10 суток.

Установлено, что ксимедонгидрохлорид в виде 10 % водного раствора оказал незначительное раздражающее действие на кожу. В течение первых 2 часов после нанесения препарата у животных наблюдали бледно – розовую кожу по всему участку. Препарат 0,1 - 5% концентрации не оказывал раздражающего действия на кожу кроликов.

За период исследований функциональных и морфологических нарушений кожи не отмечено.

Действие ксимедонгидрохлорида на слизистые оболочки глаз изучено на 12 кроликах весом 2,5 – 3 кг. Животным опытных групп на конъюнктиву правого глаза закапывали по две капли 0,1%, 0,2%, 0,5% и 1% водного раствора ксимедонгидрохлорида, а левого – дистиллированной воды. Состояние животных оценивали через 5, 30, 60 минут после нанесения препарата и ежедневно в течение 10 дней. При этом обращали внимание на состояние оболочки глаза, слезоточивость, отечность, гиперемиию.

Установлено, что 0,1 – 0,5% водные растворы ксимедонгидрохлорида за период исследований не вызывали функциональных и морфологических изменений. После введения 1% водного раствора на конъюнктиву глаза кроликов отмечали незначительное слезотечение, которое прекращалось через 15 минут после введения препарата.

### **3.4. Изучение эмбриотоксического действия ксимедонгидрохлорида**

Влияние ксимедонгидрохлорида на эмбриогенез изучали на 18 половозрелых крысах самках, разделенных на 3 равные группы. Каждую группу разделили на 2 подгруппы (опытную и контрольную), по 3 головы в каждой. Вечером самок подсаживали к самцам, и на следующий день утром исследовали мазок из их влагалища. День обнаружения спермиев в мазке учитывали как первый день беременности. С этого дня опытным животным (по 3 крысы в каждой группе) в течение 15 дней задавали внутривенно водный раствор ксимедонгидрохлорида в дозе 537,5 мг/кг, что составляет 1/20 часть от однократной ЛД<sub>50</sub>.

Эмбриотоксическое действие устанавливали после эктаназии самок крыс первых 2-х групп. Первую группу умерщвляли на 10-й день беременности, а вторую на 20-й день беременности. Вскрывали брюшную полость, вырезали матку, переносили в чашку Петри с физиологическим раствором. Вскрывали рога матки, подсчитывали количество плодов, обследовали слизистую матки, отмечая места имплантации. Вынимали плоды, освобождая от оболочек. В яичниках подсчитывали количество желтых тел беременности. Третью группу оставляли до родов.

Анализ проведенных исследований показал, что многократное внутрижелудочное введение ксимедонгидрохлорида в дозе 537,5 мг/кг уменьшает среднее количество родившихся плодов и среднее количество желтых тел на одну самку.

Клиническое состояние беременных белых крыс в опытной и контрольной группах не различалось между собой. После родов кормление и уход за потомством самками белых крыс были одинаковыми.

Оценка влияния на оплодотворяющую способность проведена на самцах крыс после ежедневного внутрижелудочного введения ксимедонгидрохлорида в дозе 1075 мг/кг, что составляет 1/10 часть от однократной ЛД<sub>50</sub>, на протяжении 60 дней и последующего спаривания с интактными животными. В опыте использовали 6 самцов, которых по истечению 60 дней подсаживали к 9 интактным самкам. Животных разделили на 3 группы, по 3 крысы в каждой. Вечером самок подсаживали к самцам и на следующий день утром исследовали мазок их влагалища. День обнаружения спермиев в мазке у крыс учитывали как первый день беременности.

Анализ проведенных исследований показал, что многократное введение водного раствора ксимедонгидрохлорида самцам в дозе 1075 мг/кг на протяжении 60 дней и последующего спаривания с интактными самками не оказывает влияния на воспроизводительную функцию самцов.

Масса и размер плодов в опытных и контрольных группах на 10 и 20 дни внутриутробного развития и после рождения были одинаковыми. При осмотре половых органов самок и самцов видимых изменений не обнаружено. Потомство всех групп развивалось без видимых изменений и сохранность приплода в течение 20 дней была 100%.

### **3.5. Гематологические показатели у кроликов при разных способах введения ксимедонгидрохлорида**

Исследования проводили на 16 кроликах, разделенных на 4 равные группы. Ксимедонгидрохлорид вводили в дозе 30 мг/кг двукратно с интервалом в 7 дней. Животным 1-ой группы задавали препарат внутрь, 2-ой группы – подкожно и 3-ей – внутримышечно. Кролики 4-ой группы служили в качестве контроля.

Кровь брали из краевой вены ушной раковины до и через 7, 10, 15 и 30 дней после введения препарата и определяли уровень содержания эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, СОЭ, а также выводили лейкограмму.

Установлено, что двукратное с интервалом в 7 дней алиментарное введение ксимедонгидрохлорида кроликам в дозе 30 мг/кг на 15 день вызывает увеличение уровня содержания эритроцитов на 14%, гемоглобина - 16,1% и лимфоцитов - 20,3%, против контрольной группы. При подкожном и внутримышечном введении ксимедонгидрохлорида у животных отмечали незначительные изменения СОЭ, уровня содержания эритроцитов, лейкоцитов гемоглобина и лейкограммы.

### **3.6. Гематологические и иммунологические показатели у белых крыс при одно- и двукратном алиментарном введении ксимедонгидрохлорида**

Опыты по изучению влияния ксимедонгидрохлорида при одно- и двукратном введении проводили на 18 белых беспородных крысах массой 100 – 110 г, разделенных на 3 группы. Крысам 1 группы ксимедонгидрохлорид вводили внутрижелудочно однократно в дозе 30 мг/кг, а животным 2 группы – двукратно в той же дозе с интервалом в 7 дней. Крысы 3 группы служили контролем, им вводили дистиллированную воду.

При гематологическом исследовании крови животных на 15 день после введения препаратов было отмечено увеличение эритроцитов в 1 и 2 группах на 4,8 и 11,4%, а гемоглобина на 6,7 и 11,3% соответственно. Через 30 дней от начала опыта содержание гемоглобина и эритроцитов в крови животных опытных групп по-прежнему было выше по сравнению с таковыми у животных контрольной группы. Количество лимфоцитов у крыс 1 и 2 групп на

15 день после введения ксимедонгидрохлорида превышал этот показатель у животных контрольной группы на 5,4 и 13,5%, а к 30 дню на 4,1 и 15,3% соответственно.

T- лимфоциты на 15 день после исследования превышали таковые контрольных животных в 1-ой группе на 4,9, во второй - 11,9%, а B-лимфоциты на 4,5 и 11,1% соответственно. Аналогичная закономерность наблюдалась у животных и на 30 сутки исследования.

Установили, что двукратное введение ксимедонгидрохлорида с интервалом в 7 дней в дозе 30 мг на кг оказывает более стимулирующее влияние на гемопоэз и естественную резистентность белых крыс, чем однократное введение ксимедонгидрохлорида в той же дозе.

### **3.7. Влияние разных доз ксимедонгидрохлорида на гематологические и иммунологические показатели у здоровых крыс**

В опытах использованы 60 белых крыс в возрасте 2 месяца, массой 110 – 120 г, разделенные на 4 группы. Ксимедонгидрохлорид вводили внутрь двукратно, с интервалом в 7 дней. Животные первой группы получали препарат в дозе 20 мг на кг массы, 2-ой - 30 мг на кг, 3-ей – 40 мг на кг массы. Животные четвертой группы служили контролем и им вводили внутрь по 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида. Перед постановкой опыта и через 7, 15 и 30 дней после повторного введения ксимедонгидрохлорида из каждой группы умерщвляли по 3 крысы.

Установлено, что через 7 дней после повторного введения ксимедонгидрохлорида уровень содержания эритроцитов у животных первой, второй и третьей групп увеличился на 5,7, 6,0 и 7,3% соответственно. Уровень гемоглобина после введения препарата в этих группах повысился на 12,6, 16,02 и 15,5% по сравнению с контрольной группой.

Через 15 и 30 дней после повторного введения препаратов уровень содержания эритроцитов и гемоглобина по-прежнему было достоверно выше по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

В структуре лейкограммы повысилось число лимфоцитов на 7 день после однократного введения в 1-й группе на 12,9%, во 2-й - 14,8%, в 3 – 15,6%. На 7 день после двукратного введения этот

показатель составил  $79,8 \pm 0,23$ ,  $82,3 \pm 1,16$  и  $82,9 \pm 0,16$  % соответственно, против  $64,1 \pm 0,3\%$  в контрольной группе. Спустя 30 дней от начала опыта количество лимфоцитов увеличилось в опытных группах по сравнению с контролем на 17,4, 21 и 21,2%, за счет числа сегментоядерных нейтрофилов. Установленные изменения в крови достоверны.

У крыс 1, 2 и 3 групп отмечалось достоверное увеличение уровня Т – лимфоцитов. На 7 день после повторного введения препаратов этот показатель составил  $59,1 \pm 4,13$ ,  $66,7 \pm 1,4$  и  $66,9 \pm 3,05\%$  соответственно, против  $57,5 \pm 2,13\%$  у контрольных. В-лимфоциты так же увеличились и их количество, после введения ксимедонгидрохлорида в дозе 20 мг/кг равнялось  $12,87 \pm 0,8$ , 30 мг/кг –  $13,91 \pm 2,03$ , 40 мг/кг –  $14,2 \pm 0,11\%$ . У животных контрольной группы изменений в картине крови обнаружено не было.

Через 15 и 30 дней после повторного введения препаратов число Т- и В- лимфоцитов по-прежнему было достоверно выше по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

Ксимедонгидрохлорид при двукратном введении с интервалом в 7 дней в дозах 30 и 40 мг на кг оказывает более стимулирующее влияние на гемопоэз и естественную резистентность белых крыс, чем доза 20 мг на кг.

### **3.8. Профилактическая эффективность различных иммуностимуляторов при эймериозе кроликов**

Испытание профилактической эффективности различных стимуляторов проводили на 30 кроликах, разделенных на 6 равных групп. Животным 1 группы вводили ксимедонгидрохлорид, 2 группы – ксимедон. Препараты вводили внутрь в дозе 30 мг/кг двукратно с интервалом в 7 дней. Кроликам третьей группы вводили тимоген в дозе 30 мг/кг внутримышечно, двукратно с интервалом в 7 дней. Кроликам 4 группы задавали внутрь иммунал в дозе 0,25 г/кг, животным 5 группы - левамизол – 7 мг/кг. Кролики 6 группы служили контролем.

Установили, что введение в организм кроликов ксимедонгидрохлорида до экспериментального заражения ооцистами эймерий предотвратило заражение на 7 день 100% животных, на 15-ый, 30-ый и 45-ый дни – 80% кроликов соответственно. Аналогичные данные получены и при применении ксимедона. Профилактическая

эффективность тимогена и левамизола была ниже, чем ксимедона и ксимедонгидрохлорида. При применении иммунала кролики при исследовании на 7, 15, 30 и 45 дни были заражены на 100%.

В этом опыте так же определяли гематологические и иммунологические показатели (за исключением групп, которым вводили левамизол и иммунал).

На 7 день после повторного введения препаратов содержание эритроцитов у животных первой и второй групп увеличилось на 13,9 и 16,2%, а гемоглобина на 16,2 и 18,5% соответственно по сравнению с животными группы контроля. Введение тимогена способствовало повышению эритроцитов на 4,2%, а гемоглобина – 4%.

В этот период у животных первой, второй и третьей групп произошло увеличение лимфоцитов на 9,1, 9,8 и 3,6% соответственно.

Отмечено, так же увеличение Т- и В-лимфоцитов, достигающий своего пика так же на 7 день после повторного введения препаратов. Эти показатели были более выражены у животных 1 и 2 групп.

В период после заражения у животных 1 и 2 групп гематологические показатели изменялись незначительно и на 30 день они находились на уровне таковых у интактных животных. У кроликов контрольной группы к концу опыта содержание эритроцитов и гемоглобина были ниже, а лейкоцитов выше уровня этих показателей интактных кроликов.

### **3.9. Влияние ксимедонгидрохлорида на эндогенное развитие эймерий**

На 30 экспериментально зараженных ооцистами эймерий кроликах, разделенных на 6 групп, изучали лечебную эффективность различных препаратов.

Животным 1 группы вводили ксимедонгидрохлорид в дозе 30 мг/кг массы тела внутрь двукратно с интервалом в 7 дней. Кроликам 2 группы назначали препараты по следующей схеме: 1 день – ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг + фуразолидон 20 мг/кг; 2 – 5 дни - фуразолидон 20 мг/кг; 6 день – интервал; 7 день – ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг; 8 день – интервал; 9 – 13 дни - фуразолидон 20 мг/кг.

Животные третьей группы получали ксимедон в дозе 30 мг/кг внутрь двукратно с интервалом в 7 дней. Кроликам четвертой группы давали одновременно ксимедон и фуразолидон по схеме, описанной

для второй группы. Кролики 5 - ой группы получали только фуразолидон (20 мг/кг) двумя пятидневными курсами с интервалом в три дня. Животные 6 - ой группы служили контролем и обработку их против эймериоза не проводили.

Исследования показали, что ксимедонгидрохлорид и ксимедон при двукратном с интервалом в 7 дней алиментарном применении показывают слабую (максимум 57,8%) кокцидиостатическую эффективность в течение 30 дней. При совместном введении этих препаратов с фуразолидоном, эффективность увеличивается до 100%, а продолжительность лечебного действия до 60 дней (срок наблюдения), в то время как эффективность фуразолидона на 30 день лечения составила только 60,6%, а на 45-ый и 60-ый день положительный эффект отсутствовал.

Перед лечением у кроликов, зараженных эймериозом, уровень содержания эритроцитов и гемоглобина были ниже таковых у здоровых животных.

В результате лечения на 30 день у кроликов второй и четвертой групп эти показатели повысились до уровня фоновых, а в остальных группах они были ниже уровня таковых у здоровых животных. Уровень лейкоцитов во второй и четвертой группах перед лечением был выше таковых у здоровых животных и нормализовались уже на 15 день после лечения.

В результате определения СОЭ установили, что перед лечением у зараженных ооцистами эймерий животных всех групп этот показатель был выше, чем у здоровых кроликов. На 15 день уровень СОЭ в опытных группах начал снижаться, причем во второй и четвертой группе этот показатель приблизился к фоновым. В 1, 3, 5 и 6 группах СОЭ был выше, чем у здоровых.

У животных, зараженных эймериозом (перед лечением), количество лимфоцитов было ниже, чем у здоровых кроликов. На 10 день после лечения в 1, 2, 3 и 4 группах произошло повышение этого показателя на 2,1; 8,5; 4,5; и 15,6% соответственно.

Уровень эозинофилов во 2 и 4 группах оставался на уровне показателей здоровых животных во все сроки исследования. В контрольной группе показатель был выше уровня здоровых животных до конца опыта на 26 – 48%.

У кроликов, зараженных эймериозом, количество Т-лимфоцитов перед лечением колебалось от  $34,2 \pm 0,21$  до  $36,4 \pm 0,2\%$ .

Через 15 дней после введения препаратов произошло увеличение Т-лимфоцитов, особенно во 2 и 4 группах. К концу лечения в 1, 2, 3 и 4 группах Т- лимфоциты оставались по прежнему на высоком уровне и колебались от  $49,5 \pm 0,2$  до  $54,0 \pm 0,4$ , в пятой же группе произошло снижение до  $35,1 \pm 0,02\%$ .

Результаты исследования В-лимфоцитов показали, что у кроликов контрольной (не леченой) группы в течение 30 суток происходит снижение этого показателя с  $29 \pm 0,02$  до  $26,1 \pm 0,01\%$ . Во второй и четвертой группах В- лимфоциты в процессе лечения были выше, чем в остальных группах и к концу лечения составили  $31,9 \pm 0,3$  и  $31,5 \pm 0,8\%$  соответственно против  $26,1 \pm 0,01$  в контроле.

#### **4. Производственные испытания профилактической и лечебной эффективности ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов**

##### **4.1. Профилактическая эффективность ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов**

Опыты проводили в агрофирме «Берсутский» Мамадышского района РТ на 48 кроликах 1 – 5 месячного возраста пород Белый великан и Серебристая. Животных подбирали по принципу аналогов и разделили их на 6 групп, по 8 кроликов в каждой.

Перед началом опытов пробы фекалий от кроликов исследовали на наличие ооцист кокцидий. Установлено, что количество ооцист в фекалиях животных колебалось от 0 до 18 ооцист в поле зрения микроскопа.

Животным опытных групп (1, 3 и 5) вводили ксимедонгидрохлорид внутрь в дозе 30 мг/кг двукратно с интервалом в 7 дней. Кролики 2, 4 и 6 групп служили контролем, и препарат им не вводили.

Установили, что в пробах фекалий у кроликов первой группы (1 – 2 месячного возраста) на 7-ой день содержание ооцист эймерий составило  $9 \pm 0,6$ , на 10 –  $12 \pm 0,72$ , на 15 –  $8 \pm 1,01$ . При этом экстенсивность инвазии в эти дни составила 50,0, 62,5 и 87,5% соответственно. В последующие дни ооцист в пробах не обнаружили.

У кроликов 3 и 5 опытных групп ооцисты эймерий не были обнаружены во все сроки исследований.

Животные контрольных групп (2, 4 и 6) были заражены эймериозом на 100 %. Количество ооцист колебалось от  $19 \pm 0,5$  до  $191 \pm 3,9$  ооцист.

Таким образом, исследования показали, что ксимедонгидрохлорид обладает профилактической эффективностью при эймериозе кроликов.

Так же проводили взвешивания животных. Установили, что привесы у кроликов 1 - 2 месячного возраста опытной группы на 15 день опыта были выше на 84, 0 г, на 30 день на 315 г и на 60 день на 440,0 г по сравнению с кроликами 2-ой контрольной группы.

У опытных животных 3 и 4 групп, возраст которых перед введением препарата составлял 2 - 3 и 3 - 4 мес. соответственно, также были установлены более высокие привесы, чем у контрольных животных.

#### 4.2. Лечебная эффективность ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов

Лечебную эффективность ксимедонгидрохлорида проводили в агрофирме «Берсутский» на 48 кроликах 1 - 5 месячного возраста. Перед началом производственных опытов животных подбирали по принципу аналогов (т.е. имеющих одинаковый возраст, сходные клинические признаки и степень инвазии) и разделили их на 6 групп, из которых 7 опытных и 1 контрольная (по 8 кроликов в каждой).

Животным опытных групп назначали препараты по следующей схеме: 1 день - ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг + фуразолидон 20 мг/кг; 2-5 дни - фуразолидон 20 мг/кг; 6 день - интервал; 7 день - ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг; 8 день - интервал; 9 - 13 дни - фуразолидон 20 мг/кг. Препараты задавали с кормом групповым методом.

Контрольным животным препарат не вводили.

При проведении опыта учитывали клиническое состояние животных, количество ооцист в поле зрения микроскопа до и через 7, 10, 15, 30 и 60 дней после лечения.

Установили, что до лечения все кролики (100%) были заражены эймериозом. Количество ооцист в поле зрения микроскопа колебалось от  $94 \pm 2,1$  до  $118 \pm 2,01$  ооцист эймерий.

Через 7 дней после лечения интенсивность инвазии у кроликов подопытных групп значительно снизилась, а у контрольных отмечали незначительное увеличение. Так, интенсивность в первой группе на 10 день лечения составила 63,3%, во второй - 89,8%, в третьей - 50,0%, в четвертой - 81,9%, в пятой 64%. На 15 день в опытных группах интенсивность инвазии продолжала снижаться и

колебалась от  $4 \pm 0,01$  до  $18 \pm 0,16$  ооцист эймерий, а в контрольной группе, где лечение животных не проводили ИИ составила  $192 \pm 3,7$  ооцист.

На 30 и 60 дни исследований установлено, что в 5-ти опытных группах ИЭ и ЭЭ составили 100%.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что ксимедонгидрохлорид при двукратном с интервалом 7 дней введении совместно с фуразолидоном двумя пятидневными курсами с интервалом 3 дня подавляет эндогенное развитие эймерий и оказывает продолжительное кокцидиостатическое действие.

## ВЫВОДЫ

1. Ксимедонгидрохлорид относится веществам IV класса опасности (ГОСТ 12. 1. 007 – 76). Его ЛД<sub>50</sub> для белых мышей при внутрижелудочном введении равняется  $10750 \pm 1069$  мг/кг, при внутрибрюшинном –  $1583,3 \pm 186,3$  мг/кг. Коэффициент кумуляции ксимедонгидрохлорида при внутрижелудочном применении равен 8,3.

2. При наружном применении ксимедонгидрохлорид в концентрации до 5% не оказывает раздражающего действия на кожу, а в концентрациях до 0,5% препарата - на слизистые оболочки глаза кроликов.

3. Ксимедонгидрохлорид при ежедневном внутреннем введении в течение 15 дней в дозе 537,5 мг/кг (1/20 ЛД<sub>50</sub>) не оказывает отрицательное воздействие на клиническое состояние беременных белых крыс. Введение этого раствора самцам в дозе 1075 мг/кг (1/10 ЛД<sub>50</sub>) на протяжении 60 дней не оказывает влияния на воспроизводительную функцию.

4. Ксимедонгидрохлорид при двукратном пероральном введении крысам в дозах 20, 30 и 40 мг/кг с интервалом в 7 - 15 дней оказывает стимулирующее действие на рост и развитие, вызывает увеличение уровня содержания эритроцитов на 12%, лейкоцитов – 24,2% и гемоглобина на 15%, а так же содержания Т- (17,8%) и В-лимфоцитов (9,1%), которое более выражено при дозах 30 и 40 мг/кг. Экономически целесообразной является доза 30 мг/кг.

5. Профилактическая эффективность ксимедонгидрохлорида и ксимедона при эймериозе кроликов составляет 80 – 100%, тимогена – 20%, левамизола 60 – 80% и иммунала – 40%.

6. Заражение здоровых кроликов спорулированными ооцистами эймерий после предварительного введения ксимедонгидрохлорида или ксимедона снижает патогенное влияние ооцист эймерий на организм кроликов, вследствие этого происходят изменения в картине крови в пределах физиологической нормы.

7. Экспериментальное заражение кроликов ооцистами эймерий в дозе 20 тысяч ооцист на 1 кг массы тела вызывает снижение содержания эритроцитов на 37%, лимфоцитов на 22% и гемоглобина на 20,8%, при одновременном увеличении лейкоцитов на 42,5%, эозинофилов на 35,5% и ускорение СОЭ на 60,8%.

8. Введение ксимедонгидрохлорида вместе с фуразолидоном кроликам, зараженным ооцистами эймерий, по схеме: 1 день – ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг + фуразолидон 20 мг/кг; 2 - 5 дни - фуразолидон 20 мг/кг; 7 день - ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг; 9 -13 дни - фуразолидон 20 мг/кг является эффективным. Экстенсивность (ЭЭ) этих препаратов при совместном их применении составляет - 100%.

9. При одновременном введении ксимедонгидрохлорида или ксимедона с фуразолидоном кроликам, зараженным ооцистами эймерий, показатели крови восстанавливаются на 15 день лечения и продолжают оставаться в пределах физиологической нормы до 60 дней (срок наблюдения).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Для профилактики эймериоза кроликов предложен ксимедонгидрохлорид, который рекомендуется вводить в дозе 30 мг/кг двукратно с интервалом 7 дней.

2. Для лечения кроликов больных эймериозом рекомендуется вводить ксимедонгидрохлорид вместе с фуразолидоном по схеме: 1 день – ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг + фуразолидон 20 мг/кг; 2 - 5 дни – фуразолидон - 20 мг/кг; 6 день – интервал; 7 день - ксимедонгидрохлорид 30 мг/кг; 8 день – интервал; 9 - 13 дни - фуразолидон - 20 мг/кг.

3. Материалы диссертации вошли в методические рекомендации: «Диагностика, лечение и профилактика эймериоза кроликов», одобренные методической комиссией, а также Ученым Советом ФГОУ ВПО КГАВМ 28 февраля 2007 года.

4. Получен патент на изобретение № 2322235 «Способ профилактики и лечения эймериоза животных и птиц». (Зарегистрирован 20 апреля 2008 г., срок действия патента истекает 23 июня 2026 г.).

5. Разработано временное наставление по применению ксимедонгидрохлорида при эймериозе кроликов, которое утверждено в установленном порядке ГУВ КМ РТ 17.10.07.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шабалина, Е.В. Влияние ксимедонгидрохлорида на гематологические показатели у здоровых крыс / Е.В. Шабалина, М.Х. Лутфуллин, С.Г. Фаттахов [и др.] // Ученые записки КГАВМ. – Т.190. – Казань. – 2005. С. 152-157.
2. Лутфуллин, М.Х. Динамика гематологических и иммунологических показателей больных эймериозом кроликов при разных способах лечения / М.Х. Лутфуллин, Е.В. Шабалина, С.Г. Фаттахов [и др.] // Матер. 3 межд. конф., посвящен. сост. и перспект. развития вет. биопрепаратов. – Алма-Ата. – 2006. – С. 438-440.
3. Лутфуллин, М.Х. Профилактическая эффективность различных иммуностимуляторов при эймериозе кроликов / М.Х. Лутфуллин, Е.В. Шабалина, С.Г. Фаттахов [и др.] // Ветеринарный врач. - №3. – 2006. – С. 27-29.
4. Шабалина, Е.В. Динамика гематологических показателей у кроликов после введения различных иммуномодуляторов. / Е.В. Шабалина, М.Х. Лутфуллин, С.Г. Фаттахов [и др.] // Ветеринарный врач. - №3. – 2006. – С. 23-26.
5. Пат. 2322235 С1, РФ, МПК<sup>51</sup> А61К 31/00 / Способ профилактики и лечения эймериоза животных и птиц. Заявка 2006122649/13 от 23.06.2006. / В.С. Резник, С.Г. Фаттахов, М.Х. Лутфуллин, Е.В. Шабалина.
6. Шабалина, Е.В. Гематологические показатели у кроликов при разных способах введения препарата КС-1 / Е.В. Шабалина, М.Х. Лутфуллин // Матер. Всеросс. науч. - практической конф. - Казань. – 2006. – С. 65-66.
7. Шабалина, Е.В. Определение острой токсичности ксимедонгидрохлорида / Е.В. Шабалина, Т. В. Гарипов, М.Х.

- Лутфуллин // Матер. Всеросс. науч. - практической конф. - Казань. – 2007. – С. 44 – 45.
8. Лутфуллин, М.Х. Оценка острой и субхронической токсичности ксимедонгидрохлорида / М.Х. Лутфуллин, Т.В. Гарипов, Е.В. Шабалина // Российский паразитологический журнал. - №2. – 2008. – С. 80 – 83.
9. Лутфуллин, М.Х. Профилактика и лечение эймериоза кроликов / М.Х. Лутфуллин, Е.В. Шабалина // Ученые записки КГАВМ. – Т. 192. – Казань. – 2008. – С. 110-113.

*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 08.01.2009г. Усл. п.л 1,4  
Заказ № К-6629. Тираж 100 экз. Формат 60x84 1/16.  
Бумага офсетная. Печать - ризография.*