



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 Ализاده 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

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; Нiere, 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 профилактирует 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 гг.

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 внутривентриально. 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 ЛД₅₀ 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 внутривнутрибрюшинном 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 ± 1069 мг/кг. Вариабельность смертельных доз определяли

отношением показателей ЛД₈₄ (15120 мг/кг) к ЛД₁₆ (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 (ЛД₅₀), равняется 1583,3±186,3 мг/кг. Вариабельность смертельных доз определяли отношением показателей ЛД₈₄ (2556 мг/кг) к ЛД₁₆ (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 мышах 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 ЛД₅₀ 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 ЛД₅₀.

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 ЛД₅₀, 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 В-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 ЛД₅₀ для белых мышей при внутрижелудочном введении равняется 10750 ± 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 ЛД₅₀) не оказывает отрицательное воздействие на клиническое состояние беременных белых крыс. Введение этого раствора самцам в дозе 1075 мг/кг (1/10 ЛД₅₀) 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, МПК⁵¹ 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.*