

На правах рукописи



АЙМАЛЕТДИНОВ АЛЕКСАНДР МААЗОВИЧ

**РАЗРАБОТКА СПЕЦИФИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ЛЕЧЕНИЯ
ЖИВОТНЫХ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ
ПЕСТИЦИДАМИ**

16.00.04.- ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

1 2 0 1 3 2009

Казань -2009 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань)

Научный руководитель:

доктор биологических наук,

Р.М. Асланов

Официальные оппоненты:

- доктор биологических наук, профессор Конюхов Г.В.
- кандидат ветеринарных наук, доцент Муллакаева Л.А.

Ведущее учреждение: ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

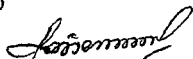
Защита состоится « 24 » февраля 2009 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г. Казань, Научный городок-2, ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

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

Автореферат разослан « 21 » февраля 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного

совета кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Охрана окружающей среды по своей значимости и масштабности представляет собой одну из наиболее актуальных задач современности. Развитие промышленности неразрывно связано с расширением круга используемых химических веществ. По данным ВОЗ значительную долю токсических экологических факторов составляют пестициды (М.А. Шахназаров, А.М. Шахназарова, М.Т. Расулов, 2008).

Фосфорорганические пестициды (ФОП) все чаще привлекают внимание в практике борьбы со всевозможными членистоногими, являющимися вредителями сельскохозяйственных культур, а также в быту для истребления мух, тараканов и других насекомых (Е.А. Антонович, А.В. Болотный, В.С. Бурый, 1988; В.К. Промоненков, В.А. Каспаров, И.С. Варшавская, 1988).

Несмотря на комплекс санитарно-гигиенических мероприятий, направленных на профилактику интоксикаций, при использовании пестицидов в сельском хозяйстве продолжают регистрировать случаи отравлений ими животных. В литературе опубликованы тысячи случаев (острых, подострых и хронических) интоксикаций (Г.М. Балан, В.А. Бабич, 1998; T. Schmia, 2003).

В настоящее время существует большое количество препаратов предназначенных для лечения острых интоксикаций ФОП. Но недостаточная эффективность общепринятых мер терапии обуславливает необходимость усовершенствования существующих и изыскание новых антидотных рецептов (А.Е. Лужников, 1999; П.С. Ганжаров, А.А. Новиков, 1979; Р.М. Асланов, 2005, 2006).

В ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» был синтезирован новый высокоэффективный холинолитик (цитрат тропинового эфира-фенилциклопентилгликолевой кислоты).

Цель и задачи исследования: Разработка антидотной рецептуры для лечения животных от отравлений ФОП и изучение ее терапевтической

эффективности. В этой связи перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Определить параметры острой токсичности холинолитка А-2 для лабораторных животных.
2. На основе холинолитика А-2 разработать антидотную рецептуру для лечения отравлений животных ФОП.
3. Изучить терапевтическую эффективность антидотной рецептуры для лабораторных и сельскохозяйственных животных.
4. Изучить гематологические, биохимические, патоморфологические, гистологические и электрокардиографические показатели лабораторных и сельскохозяйственных животных при остром отравлении ФОП и лечении антидотной рецептурой.
5. Провести ветеринарно-санитарную оценку и биологическую полноценность мяса при остром отравлении животных ФОП и лечении антидотной рецептурой.

Научная новизна. Впервые разработана новая эффективная антидотная рецептура под условным названием АЛ-5, которая защищает животных от отравлений ФОП. Получены данные по влиянию лечения антидотом на клинико-гематологические и биохимические показатели крови. Определены патоморфологические и гистологические изменения во внутренних органах и тканях животных. Показано положительное действие на сердечнососудистую и другие системы организма.

Практическая ценность работы. Выполненные исследования и полученные результаты позволили рекомендовать антидотную рецептуру АЛ-5 для лечения острых отравлений животных фосфорорганическими пестицидами. По результатам исследований разработан проект нормативной документации: технические условия и инструкция по применению, для регистрации в Россельхознадзоре.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены: на заседаниях ученого совета, на международной научной конференции «Токсикозы животных и актуальные проблемы молодняка животных» (г. Казань, 2006), на ежегодных научно-практических конференциях молодых ученых и специалистов (г. Казань, 2007, 2008), на первом съезде ветеринарных фармакологов России (г. Воронеж, 2007).

Основные положения выносимые на защиту: разработка антидотной рецептуры АЛ-5; терапевтическая эффективность антидотной рецептуры АЛ-5; влияние лечения антидотной рецептурой на организм животных.

Публикации. Основные положения диссертации изложены в 6 печатных работах, в том числе одна в рекомендованном ВАК РФ издании.

Объем и структура работы: Диссертация изложена на 148 страницах и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований (Экспериментальная часть содержит разделов), обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы и приложения. Работа включает 35 таблиц, 24 рисунка. Список литературы включает 177 источников, в том числе 29 зарубежных авторов.

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены с 2005 по 2008 г.г. в отделе токсикологии ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

В экспериментах были использованы: подопытные животные: 320 белых мышей живой массой 18-20 г, 259 белых крыс живой массой 180-200 г, 69 кроликов живой массой 2,4-3,2 кг, 29 овец породы «Прекос», живой массой 28-35 кг. На протяжении всего периода исследования опытные и контрольные группы животных находились в одинаковых зоотехнических условиях. Кормление животных осуществлялось в соответствии с зоотехническими требованиями.

Для экспериментальной затравки использовали фосфорорганические пестициды карбофос (АДВ 50%) и хлорофос (АДВ 94,7%).

Все манипуляции по введению антидотной рецептуры АЛ-5 выполняли в условиях, исключающих бактериальное инфицирование лабораторных животных. Для этого все инструменты и предметы, используемые в работе, подвергали стерилизации.

Острую токсичность препаратов определяли по методу Кербера (1931).

Эффективность холинолитиков изучали на белых мышах. Препараты растворяли в дистиллированной воде, вводили подкожно в дозах 15, 25, 35 мг/кг за 15 мин, 1, 6, 24 часа до перорального отравления абсолютно смертельной дозой ФОП. Наблюдение за животными вели ежедневно на протяжении 45 суток

Разработку антидотной рецептуры проводили на белых крысах. Тестируемые антидотные рецептуры вводили внутримышечно при развитии выраженных симптомов отравления (саливация, бронхоспазм, атаксия, судороги).

В результате проведенных экспериментов была разработана антидотная рецептура АЛ-5, которая состоит из следующих компонентов :

1. Холинолитик цитрат тропинового эфира-фенилциклопентилгликолевой кислоты да/ный под шифром А-2 – 25 мг/кг – белые кристаллы, температура плавления 160-162° С. Хорошо растворим в воде. Попадая в организм животных воздействует на центральные и периферические М- и Н-холинореактивные системы, снимая их гиперактивацию. Положительно влияет на центры дыхания, снимая при этом угнетение дыхательного центра, бронхоспазм и паралич дыхательной мускулатуры;
2. Реактиватор холинэстеразы дипироксим – 10 мг/кг слегка желтоватые кристаллы. Хорошо растворим в воде. Дефосфорилирует холинэстеразу и восстанавливает ее активность, способен деблокировать (десенсиби-

лизировать) холинорецепторы и восстанавливать их функцию, разрушать ФОП при непосредственном воздействии;

3. Седативное средство бромистый натрий – 10мг/кг– белые кристаллы. Хорошо растворим в воде. Влияет на центральную нервную систему, в основном, на тормозные процессы, усиливая и концентрируя их. При резком повышении возбудимости центральной нервной системы действует в виде разлитого торможения, усиливает восстановление работоспособности корковых клеток;

4. Общеукрепляющий препарат глюкоза – 10 мг/кг– сероватые кристаллы. Хорошо растворим в воде. Один из наиболее легко усваиваемых сахаров. В печени она соединяется с ядами и образует комплексные, менее ядовитые соединения, чем проявляет антитоксическое действие. Глюкоза через центральную нервную систему усиливает функции клеток и тканей, повышает защитные силы организма, стимулирует выработку гормонов и ферментов.

Холинолитик А-2 был синтезирован в лаборатории разработки химического синтеза ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» д.х.н., проф. Гареевым Р.Д.

Приготовленная из вышеперечисленных компонентов рецептура представляет собой жидкость соломенно-желтого цвета.

Терапевтическую эффективность вышеупомянутой рецептуры определяли на крысах, кроликах и овцах. Для этого животных подвергали отравлению карбофосом и хлорофосом, и затем при развитии клинических признаков отравления, лечили антидотом АЛ-5.

Влияние ФОП (карбофоса и хлорофоса), антидотной рецептуры АЛ-5 и лечения отравлений на организм животных оценивали путем исследования гематологических и биохимических показателей крови кроликов и овец.

В ходе экспериментов изучали клиническое состояние животных, потребление корма и воды, изменение массы и температуры тела, частоту пульса и дыхания, регистрировалась продолжительность жизни,

патологоанатомическая картина. После проведения необходимых процедур, определяемых целью и задачами эксперимента до опыта и на 1, 3, 10, 15, 20, 25, 30 сут брали кровь для исследований: путем декапитации – у крыс, из ушной вены – у кроликов, из яремной вены – у овец.

В крови животных определяли: содержание гемоглобина, общее количество эритроцитов, лейкоцитов, скорость оседания эритроцитов и лейкоформулу общепринятыми методами (Кудрявцев А.А. и соавт, 1974).

Содержание общего белка в сыворотке крови анализировали при помощи рефрактометра ИРФ-454БМ, а белковых фракций сыворотки крови фотоколориметрическим способом при помощи КФК-2.

Активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы определяли методом Райтмана при помощи набора реактивов vital diagnostics, содержание холестерина определяли энзиматическим колориметрическим методом при помощи набора реактивов vital diagnostics, глюкозы при помощи набора реактивов Глюкостар. Активность ацетилхолинэстеразы в крови и тканях изучали по методу Хестрина (1949).

Для проведения гистологических исследований у опытных животных были взяты в определенные сроки убоя кусочки органов и тканей с последующей окраской гематоксилин-эозином. Электрокардиографическое исследование проводили на приборе ЭК 1Т-03М.

Для изучения санитарно-гигиенических качеств и биологической полноценности мяса, животных перорально отравляли карбофосом в дозе 150 мг/кг, и при развитии характерных клинических признаков интоксикации вводили антидотную рецептуру АЛ-5. Убивали животных на 10-е сут опыта.

Органолептические, биохимические и бактериоскопические исследования мяса овец проводили согласно требованиям ГОСТов и Правил ветеринарно-санитарной экспертизы.

Экспериментально полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2000 (Д.А. Старик, 1996; С. Фишер и др., 1997).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Острая токсичность холинолитика А-2

Острую токсичность препарата А-2 определяли на белых мышах массой 18-20 г и крысах 180-200 г. Для этого водный раствор А-2 вводили мышам подкожно, крысам внутримышечно. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в той же дозе. Наблюдение за животными вели в течении 30 дней с момента введения препарата. При этом учитывали клиническую картину интоксикации, сроки и процент гибели животных, а у выживших – быстроту восстановления функций организма.

Опытами установлено, что среднесмертельная доза холинолитика для белых мышей равна 330 мг/кг, абсолютно-смертельная - 460 мг/кг и доза минимально-токсическая равна 200 мг/кг. А для крыс 270, 420 и 120 соответственно.

Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что холинолитик А-2 относится к среднетоксичным веществам (Л.И. Медведь, 1964).

3.2 Сравнительная оценка защитного действия холинолитиков

В условиях разработки фармакологического антидота представлялось целесообразно сравнить эффективность вновь синтезированного холинолитика А-2 с атропином.

Защитную эффективность холинолитиков изучали на 240 белых мышах массой 18-20 г. Холинолитики растворяли в дистиллированной воде, вводили подкожно А-2 в дозах равных и меньших $1/10 LD_{50}$, атропин в дозах 15, 25 и 35 мг/кг за 15 мин, 1, 6, 24 часа до отравления абсолютно-смертельной дозой хлорофоса. Наблюдение за животными вели ежедневно на протяжении 45 суток.

Опытами установлено, что лучшее защитное действие наблюдается у холинолитика А-2 в дозе 25-35 мг/кг. За 15 и 60 мин препарат обеспечивал выживаемость 100% взятых в опыт животных. Обработка за 6 часов обеспечивала выживаемость 80%, за 24 часа - 60% взятых в опыт животных.

При обработке животных атропином в дозе 35 мг/кг наилучший защитный эффект наблюдали за 15 мин до введения абсолютно-смертельной дозы хлорофоса, выживаемость составила 90%. Профилактическая обработка за 60 мин обеспечивала выживаемость 80%, за 6 часов - 60%, за 24 часа - 40% животных.

Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что холинолитик А-2 является более эффективным защитным средством, чем атропин и может быть использован для дальнейшей разработки антидотных рецептов.

3.3 Разработка антидотной рецептуры АЛ-5

Разработку комплексной антидотной рецептуры проводили на белых крысах массой 180-200 г. Для опыта использовались только клинически здоровые животные, содержащиеся в одинаковых условиях содержания и кормления.

Для разработки рецептов использовали следующие лекарственные препараты: холинолитики А-2 и атропин, реактиваторы холинэстеразы дипироксим и дизитксим, седативный препарат - бромистый натрий, нейролептик - аминазин и общеукрепляющее средство - глюкоза. Разрабатываемые антидотные рецептуры растворяли в дистиллированной воде.

Для проведения эксперимента белых крыс разделили на 12 групп по 6 животных в каждой. Крыс отравляли хлорофосом в абсолютно-смертельной дозе - 1900 мг/кг. Вводили тестируемые антидотные рецептуры внутримышечно при развитии выраженных симптомов отравления (саливация, бронхоспазм, атаксия, судороги).

Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что наиболее оптимальной и эффективной по своим терапевтическим характеристикам является рецептура, которая содержит холинолитик А-2 – 25 мг/кг, реактиватор холинэстеразы дипироксим – 10 мг/кг, седативный препарат бромистый натрий – 10 мг/кг и общеукрепляющее средство глюкозу – 10 мг/кг.

При лечении данной рецептурой клинические признаки отравления начинали исчезать через 4-8 мин после введения, восстанавливалось дыхание, прекращались судороги, через 10-15 мин крысы вставали, через 1,5-2 часа после введения антидотной рецептуры они начинали принимать корм и воду, через 3-4 часа начинали активно передвигаться. Гибель животных в ходе всего опыта зафиксирована не была.

3.4 Терапевтическая эффективность антидота АЛ-5 при отравлении кроликов абсолютно-смертельными дозами ФОП

На предыдущем этапе работы были получены положительные результаты по применению антидотной рецептуры АЛ-5 для защиты крыс от отравлений ФОП. Эти данные послужили основанием для продолжения исследований, целью которых являлась оценка эффективности применения антидотной рецептуры АЛ-5 при отравлении ФОП других животных.

Опыты проводились на кроликах породы «Серый великан» массой 2,5-3,0 кг. Животные были разделены на 4 групп по 4 животных в каждой. Группы формировались по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы и пола.

Контрольными кроликам вводили карбофос (1 гр) и хлорофос (2 гр) в абсолютно-смертельной дозе. Опытных животных подвергали отравлению карбофосом (3 гр) и хлорофосом (4 гр), и затем при развитии клинических признаков отравления, лечили антидотом АЛ-5. Водные растворы карбофоса (АДВ 50%) и хлорофоса (АДВ 94,7%) кроликам вводили внутривентрально с помощью зонда в дозах 400 и 750 мг/кг соответственно, антидот АЛ-5

вводили внутримышечно в объеме 1,5 мл. Наблюдение за опытными животными вели в течение 45 суток.

Клинические признаки интоксикации ФОП у кроликов проявлялись через 6-20 мин после введения яда. Через 10-30 мин после введения пестицида нарушалась координация движения, развивался тремор, появлялись хрипы, затруднялось дыхание, а спустя 20-40 мин начиналось обильное слюнотечение, хрипы усиливались, развивались клонические и клонико-тонические судороги. Гибель животных на фоне этих признаков наступала через 40-120 минут.

Опытным животным на фоне появления характерных клинических признаков интоксикации (бронхоспазм, атаксия, саливация, судороги) внутримышечно вводили антидот. Важно отметить, что уже через 4-8 минут после введения антидота прекращались судороги и восстанавливалось дыхание. Через 10-15 мин животные начинали передвигаться по клетке, а через 30-60 мин начинали принимать корм и воду. У одного кролика через 30 мин после введения хлорофоса отмечался рецидив судорог, наблюдались угнетение, саливация, бронхоспазм, через 3 часа после введения он пал.

Таким образом, анализируя проведенные исследования можно сделать вывод, что антидотная рецептура защищает большинство кроликов от отравлений абсолютно-смертельными дозами ФОП.

3.5 Активность ацетилхолинэстеразы в тканях кроликов отравленных ФОП и леченных АЛ-5.

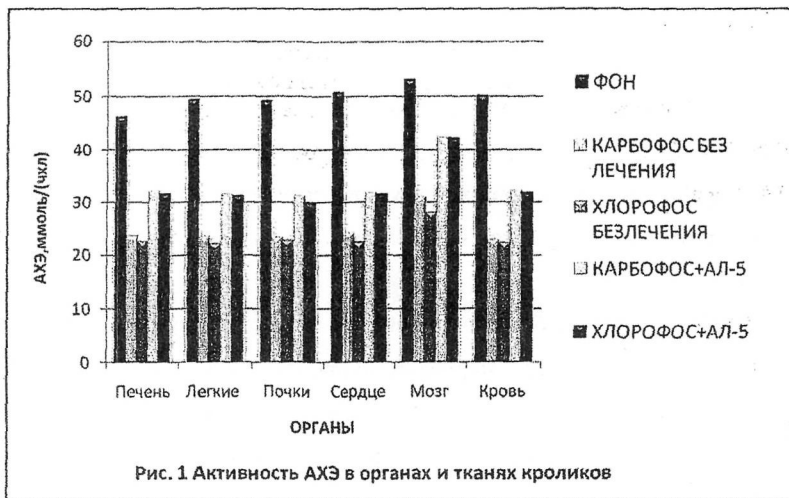
Для изучения влияния лечения отравлений ФОП антидотной рецептурой АЛ-5 на различные органы исследовали активность холинэстеразы в тканях животных.

Опыт был проведен на кроликах породы «Серый великан». Для этого было сформировано 5 групп животных по 4 в каждой. Группы

формировались по принципу аналогов с учетом живой массы, пола и возраста.

Животных первой группы отравляли карбофосом, второй группы хлорофосом в абсолютно-смертельных дозах, животных третьей и четвертой группы отравляли ФОП в тех же дозах и при развитии характерных признаков отравления лечили антидотной рецептурой.

Кроликов без лечения убивали в агональном состоянии, леченных животных через 5 часов после затравки (время исчезновения признаков интоксикации). У животных брали внутренние органы (печень, легкие, почки, кору головного мозга), и кровь, и определяли активность ацетилхолинэстеразы. Результаты представлены на рис 1.



Как видно из результатов опыта у кроликов отравленных ФОП содержание АХЭ в печени, почках, легких, сердце снизилось на 49-56%, у животных отравленных ФОП и леченных антидотной рецептурой АЛ-5 активность фермента снизилась на 31-39%.

В тканях головного мозга активность ацетилхолинэстеразы у отравленных ФОП кроликов снизилась на 42-47%. У кроликов отравленных ФОП и леченных угнетение относительно исходных значений составило 20-21%.

Активность ацетилхолинэстеразы в крови животных, отравленных ФОП, уменьшилась на 55%. У животных, отравленных ФОП и леченных, активность фермента относительно фона снизилась на 36%.

Таким образом, анализируя данные исследования можно сделать выводы, что антидотная рецептура АЛ-5 положительно влияет на активность ацетилхолинэстеразы в органах и тканях, обеспечивая тем самым их защиту от патологического воздействия ФОП.

3.6 Терапевтическая эффективность антидота АЛ-5 при отравлении овец ФОП

Антидотная рецептура АЛ-5 показала хороший терапевтический эффект при отравлении крыс и кроликов карбофосом и хлорофосом. Поэтому представилось целесообразно изучить защитную эффективность данной антидотной рецептуры на сельскохозяйственных животных в частности на овцах.

Эксперименты были проведены на овцах породы «Прекос» массой 35-40 кг. Группы были сформированы по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы и пола. Животных делили на 4 группы. Первая (2 гол) и вторая (2 гол) группы контрольные, т.е. отравления животных ФОП (карбофосом и хлорофосом проводили без лечения антидотной рецептурой) в абсолютно-смертельной дозе (LD_{100} карбофоса равна 300 мг/кг, LD_{100} хлорофоса равна 400 мг/кг), третья (3 гол) и четвертая (3 гол) группы опытные, т.е. животных, отравленных вышеуказанными пестицидами, лечили антидотной рецептурой АЛ-5. Пятая группа (3 гол) являлась биологическим контролем.

Симптомы интоксикации ФОП у контрольных овец проявились через 5-40 мин после введения яда. Отмечалось угнетение, фибриляция мышц конечностей. Через 20-70 мин у животных нарушалась координация движения, развивался тремор, появлялись легкие хрипы. Через 30-90 мин начиналось обильное слюнотечение, хрипы усиливались, развивались клонические и клонико-тонические судороги. Гибель на фоне этих признаков наступала через 60-120 мин от начала введения ФОП.

Опытным животным на фоне развития характерных клинических признаков интоксикации (бронхоспазм, атаксия, саливация, судороги) внутримышечно вводили антидотную рецептуру. Важно отметить, что уже через 4-8 мин после введения антидота прекращались судороги и восстанавливалось дыхание. Через 20-25 мин животные начинали передвигаться по клетке, а через 60-90 мин начинали принимать корм и воду.

Для определения влияния лечения антидотной рецептурой АЛ-5 при отравлении карбофосом и хлорофосом на организм сельскохозяйственных животных были изучены гематологические и биохимические параметры крови опытных овец (3 и 4 гр)

У овец отравленных ФОП и леченных антидотной рецептурой при исследовании лейкоформулы отмечали увеличение содержания сегментоядерных нейтрофилов на 3-и сут на 32-33%, на 10-е - сут на 24-29%, на 15-е сут - на 13-27%, восстановление процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов происходило на 20-е сутки. Уровень лимфоцитов на 3-и сут снизился на 25-29%, на 10-е снижение составило 20-23%, на 15-е сут - 13-15%, восстановление данного показателя происходило на 20-е сутки.

При исследовании АЛТ на 1-е сут отмечали увеличение его активности в 2,0-3,6 раза, восстановление активности АЛТ происходило на 20-25-е сут исследования.

При исследовании активности АСТ у овец, отравленных карбофосом и леченных антидотом АЛ-5, отмечали на 1-е сут повышение данного показателя в 2,1 раза, на 3-и сут увеличение составило 34%, на 10-е сут - 45%, на 15-е сут - 44%, на 20-е сут - 36%, на 25-е сут активность АСТ увеличилась на 24%, восстановление ферментативной активности происходило на 30-е сутки.

Активность АСТ у овец, отравленных хлорофосом и леченных антидотом АЛ-5, увеличилась на 1-е сут на 30%, на 3-и сут - на 33%, на 10-е сут - на 26%, на 15-е сут - на 21%.

Активность ацетилхолинэстеразы на 1-е сут снизилась на 58-63%, на 3-и сут угнетение фермента составило 42-61%, на 10-е сут 32-57%, на 15-е сут 27-48%, на 20-е сут 21-23%. На 25-30-е сут снижение активности составило 18-20%.

Таким образом, из полученных данных можно сделать выводы, что лечение овец антидотной рецептурой АЛ-5 при отравлении их ФОП защищает их от гибели и улучшает гематологические и биохимические показатели крови животных.

3.7 Исследование сердечной деятельности отравленных и леченных овец

При отравлении ФОП часто регистрируется нарушение функции сердечнососудистой системы. Для изучения процессов происходящих в сердечнососудистой системе при воздействии карбофоса и лечении антидотной рецептурой АЛ-5 проводился анализ электрокардиограммы. Эксперимент был проведен на овцах породы «Прекос» массой 25-30 кг. Животных разделили на 2 группы по 2 головы в каждой. Группы формировались по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы и пола. Первая группа являлась контрольной. Овцам данной группы вводили карбофос в средне-смертельной дозе (150 мг/кг). Животных второй группы

отравили карбофосом в той же дозе и затем при развитии клинических признаков отравления лечили антидотом АЛ-5.

При исследовании ЭКГ через 15 мин после введения яда у контрольных и опытных животных отмечалось уменьшение зубцов Р и R. Это свидетельствует о гипертрофии миокарда желудочков, повышении тонуса симпатического нерва, повышении тонуса блуждающего нерва и снижении электроактивности правого предсердия. Также наблюдалось увеличение вольтажа зубцов S и T, что говорит нам о повышении тонуса парасимпатического нерва, о нарушении обменных процессов в сердечной мышце и о гипоксическом состоянии. Также отмечалось уменьшение интервала R-R, это связано с увеличением частоты сердечных сокращений.

Через 30 мин после введения карбофоса у животных отмечалось уменьшение зубцов Р и R, и увеличение зубца Т. Интервал R-R также как и в предыдущем периоде исследования был уменьшен. Интервал QRS по сравнению с фоновым исследованием увеличился, что свидетельствует о поражении внутрижелудочковой проводниковой системы и поражении сердечной мышцы.

На 60 мин исследования наблюдается снижение вольтажа зубцов Р и увеличение зубцов S, Т. Интервал R-R также как и в предыдущем периоде исследования был уменьшен. На 60 мин опытным животным ввели антидотную рецептуру.

На 90 мин исследования у контрольных животных отмечается уменьшение зубца Р, и увеличение вольтажа зубцов S и Т. Также наблюдается снижение интервала R-R.

У опытных животных на 90 мин отмечается уменьшение зубцов Р и Q. И увеличение вольтажа зубца R.

У леченых животных при исследовании ЭКГ на 120 мин наблюдается восстановление вольтажа зубцов Р, S и Т до фонового уровня и восстановления интервала R-R.

У контрольных животных восстановление всех электрокардиографических параметров происходило через 48 часов.

Таким образом, можно сделать вывод, что лечение антидотной рецептурой АЛ-5 положительно влияет на деятельность сердечно-сосудистой системы и восстанавливает работу сердца через 2 часа после введения антидота.

3.8 Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса овец, отравленных карбофосом и леченных антидотной рецептурой АЛ-5

Опыты по изучению санитарно-гигиенических качеств и биологической полноценности мяса проведены на 4 овцах породы «Прекокс» массой 36-40 кг, разделенных по принципу аналогов на 2 группы по 2 головы в каждой.

Животных первой группы перорально отравляли карбофосом в дозе 150 мг/кг, второй группе задавали карбофос в той же дозе и при развитии характерных клинических признаков однократно вводили антидотную рецептуру АЛ-5.

Для проведения исследования мяса животных убивали на 10-е сут опыта.

Органолептические, биохимические и бактериоскопические исследования мяса овец проводили согласно требованиям ГОСТов 7269-79 и 23392-86, и Правил ветеринарно-санитарной экспертизы.

Опыты показали, что мясо леченных антидотной рецептурой АЛ-5 овец по некоторым органолептическим, биохимическим показателям (запах карбофоса, ААА, реакция с сернокислой медью) отличается от мяса отравленных карбофосом овец. При использовании антидотной рецептуры мясо полностью соответствовало требованиям «Правил ветеринарно-санитарной экспертизы» и ГОСТов.

Для изучения биологической полноценности мяса опытных животных ставили биопробу на растущих крысах самцах по росто-весовому методу.

Крысята отъемыши были разделены на 3 группы по 10 животных в каждой. Животным первой группы скормливали мясной фарш овец, отравленных карбофосом, крысятам второй группы скормливали фарш, отравленных и леченных антидотной рецептурой животных. В рацион крысят 3-й группы включали мясной фарш интактных животных. Фарш животные получали ежедневно из расчета 40 г/кг. Исследования роста-весовых показателей продолжались на протяжении 28 дней.

Из результатов исследований видно, что в группе крысят, которым скормливали фарш овец отравленных карбофосом, наблюдался падеж (50% крысят пали), прирост живой массы был менее интенсивным, живая масса по сравнению с исходной увеличился на 14,2 г.

У крысят, получавших фарш овец, леченных антидотной рецептурой АЛ-5, отмечался более интенсивный рост, прирост живой массы в данной группе составил 32,8 г. В третьей контрольной группе наблюдался наибольший по интенсивности рост, прирост живой массы составил 47,2 г.

В течение всего опыта крысята 1-ой группы были угнетены, шерсть взъерошена, наблюдался цианоз кожного покрова. Состояние крысят 2-ой группы оценивалось как удовлетворительное. Они активно передвигались по клетке, активно принимали корм и воду.

При вскрытии по окончании опыта (через 28 дней) крысят первой группы наблюдались небольшие точечные кровоизлияния в печени.

При вскрытии крысят второй группы перечисленные выше изменения не отмечались.

Таким образом, анализируя полученные данные можно сделать вывод, что лечение антидотной рецептурой АЛ-5 улучшает качество мяса овец, т.е. по ветеринарно-санитарным характеристикам оно соответствует существующим нормам.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза (LD_{50}) вновь синтезированного в ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» холинолитика А-2 (цитрат тропинового эфира фенилциклопентилгликолевой кислоты) при подкожном введении белым мышам составляет 330 мг/кг, абсолютно-смертельная - 460 мг/кг, минимально-токсическая доза равна 200 мг/кг. Для белых крыс LD_{50} при внутримышечном введении равняется 270 мг/кг, абсолютно-смертельная - 420 мг/кг, минимально-токсическая доза составляет 120 мг/кг.
2. Разработана антидотная рецептура АЛ-5, предназначенная для лечения отравлений животных ФОП, состоящая из холинолитика А-2 в дозе 25 мг/кг, реактиватора холинэстеразы дипироксима - 10 мг/кг, седативного средства бромистого натрия - 10 мг/кг и общеукрепляющего средства глюкозы - 10 мг/кг.
3. Антидотная рецептура АЛ-5 при отравлении крыс, кроликов и овец абсолютно-смертельными дозами карбофоса и хлорофоса защищает от гибели 90-100% животных.
4. Внутримышечное введение терапевтической дозы антидотной рецептуры АЛ-5 кроликам и овцам не оказывает отрицательного влияния на гематологические (количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, СОЭ) и биохимические показатели крови (количество общего белка, активность АХЭ).
5. Лечение антидотом АЛ-5 лабораторных и сельскохозяйственных животных при отравлениях карбофосом и хлорофосом ускоряет восстановление активности ацетилхолинэстеразы в крови и тканях, нормализуют сердечную деятельность и положительно влияет на гематологические и биохимические показатели крови.
6. Мясо овец при остром отравлении карбофосом в дозе LD_{50} и лечении антидотом АЛ-5 по органолептическим и биохимическим показателям соответствует ГОСТам и Правилам ветеринарно-санитарной экспертизы.

7. Гистологические изменения органов (сердце, легкие, печень, почки) овец, отравленных ФОП и леченных антидотом АЛ-5, менее выражены, чем без лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения острых отравлений животных фосфорорганическими пестицидами разработана антидотная рецептура АЛ-5 состоящая из: холинолитика А-2 в дозе 25 мг/кг, реактиватор холинэстеразы дипироксима в дозе 10 мг/кг, седативного средства бромистый натрий в дозе 10 мг/кг, общеукрепляющего средства глюкозы в дозе 10 мг/кг. Антидотную рецептуру растворяют в 1 мл воды для кроликов и в 2 мл - для овец.
2. Результаты исследований вошли в проект нормативной документации для регистрации лекарственного средства в Россельхознадзоре (инструкция по применению и ТУ).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аймалетдинов, А.М. Лечение антидотом АЛ-5 животных при отравлении хлорофосом / Р.М. Асланов, В.М. Елин, И.Г. Хайрутдинов, А.М. Аймалетдинов, М.Я. Трemasов, Р.Д. Гареев // Материалы Международной научной конфер. «Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка». 25-27 октября 2006 г. Казань.- 2006.- С. 37-40.
2. Аймалетдинов, А.М. Изучение терапевтической эффективности антидота АЛ-5 при отравлении животных хлорофосом / А.М. Аймалетдинов // Материалы Научно-практической конфер. молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы ветеринарии» – Казань, 2007.- С. 24-27.

3. Иванов, А.В. Разработка специфических средств лечения отравлений животных ФОП./ А.В. Иванов, Р.М. Асланов, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди, Р.Д. Гареев, И.Г. Хайрутдинов, **А.М. Аймалетдинов** // Материалы первого съезда ветеринарных фармакологов России. 21-23 июня 2007 года. Воронеж.- 2007.- С. 35-39.
4. **Аймалетдинов, А.М.** Изучение влияния антидота АЛ-5 на биохимические и гематологические показатели крови животных, отравленных ФОП / **А.М. Аймалетдинов** // Материалы научно-практической конфер. молодых ученых и специалистов «Достижения молодых ученых – в производство», посвященная 100-летию со дня рождения профессора Х.Х. Абдуллина – Казань, 2008.- С. 16-19.
5. Иванов, А.В. Влияние антидота АЛ-5 на биохимические и гематологические показатели животных ФОП / А.В. Иванов, **А.М. Аймалетдинов**, Р.М. Асланов // Тезисы докладов 3-го съезда токсикологов России под ред. акад. РАМН, проф. Г.Г. Онищенко и член-корр. РАМН, проф. Курляндского – М., 2008.- С. 131-133.
6. **Аймалетдинов, А.М.** Эффективность антидота АЛ-5 при отравлениях / **А.М. Аймалетдинов**, // Ветеринарный врач.- №4 – 2008.- С. 8-10.

Подписано в печать 20.01.09 Заказ № 7
Гарнитура "Times New Roman". Печать офсетная,
Бумага офсетная. Объем 1,0 п.л.

Формат 60x84 1/16. Тираж 100 экз

Отпечатано в типографии ФГУ «ФИЦРБ-ВНИВИ» (г.Казань)

Адрес 420075, г. Казань, Научный городок-2