

На правах рукописи



БОЙКО ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕОНИКОТИНОИДОВ, РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ
И ЛЕЧЕБНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
ЖИВОТНЫХ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией;

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук



005554039

30 ОКТ 2014

Троицк – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

**Научные
консультанты:**

доктор ветеринарных наук, профессор
Герунова Людмила Карповна
доктор ветеринарных наук, профессор
Герунов Владимир Иванович

**Официальные
оппоненты:**

Гарипов Талгат Валирахманович
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», кафедра
физиологии, заведующий

Рахматуллин Эмиль Касымович
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная
сельскохозяйственная академия имени
П.А. Столыпина», лаборатория клинической
фармакологии и лекарственной токсикологии,
заведующий

Дроздова Людмила Ивановна
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВПО «Уральский государственный аграрный
университет», кафедра анатомии и гистологии,
заведующая

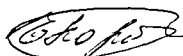
Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская академия
ветеринарной медицины»

Защита состоится 08 октября 2014г. в 9³⁰ часов на заседании
диссертационного совета Д 220.066.01 при ФГБОУ ВПО «Уральская
государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 457100,
Челябинская область, г. Троицк, ул. Гагарина, 13, тел. 8 (35163) 2-48-88; факс 8
(35163) 2-04-72; E-mail: tv_i_t@mail.ru, официальный сайт: www.usavm.ac.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО
«Уральская государственная академия ветеринарной медицины» и на
официальном сайте <http://www.usavm.ac.ru/content/nauka/dissertacionnyesovety/dissertaciya-i-avtoreferat-boyko-tatyany-vladimirovny.htm>.

Автореферат разослан 10 октября 2014г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Борисенко Елена Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Химический метод защиты растений, животных и человека является наиболее эффективным и экономически оправданным способом контроля численности вредителей в растениеводстве, животноводстве и санитарии (В.А. Захаренко, 2012; В.И. Долженко, В.А. Захаренко, 2013; В.В. Михайликова, Н.С. Стребкова, Д.Н. Говоров, А.В. Живых, 2013). В Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов Российской Федерации (2013) внесено более тысячи пестицидных препаратов, из которых около 200 препаратов составляют инсекто-акарициды на основе 53 действующих веществ. До 2000 года в структуре мирового производства инсектицидов 80% занимали фосфорорганические соединения, пиретроиды и карбаматы. Необходимость преодоления резистентности, экономические и экологические причины привели к созданию в начале 90-х годов препаратов с новым механизмом действия – неоникотиноидов, которые уже зарегистрированы в 89 странах и разрешены к использованию для 60 видов полезных культур (К. Mori, 1992; I. Yamamoto, 1993; О.Ю. Еремина, Ю.В. Лопатина, 2009; В.И. Долженко, 2009; Д.Н. Говоров, А.В. Живых, Е.В. Бородин, 2013 и др.). Список разрешенных к применению инсектицидов этой группы в Российской Федерации включает более 30 препаративных форм на основе пяти действующих веществ: имидаклоприда, тиаклоприда, тиаметоксама, ацетамиприда и клотианидина. Для расширения спектра инсектицидного действия неоникотиноиды комбинируют с синтетическими пиретроидами, авермектинами и фенилпиразолами.

Увеличение объемов производства и использования новых групп химических средств защиты растений, активное внедрение их в практическое животноводство и ветеринарию при высоком экономическом потенциале препаратов повышает риск воздействия их остатков на организм животных и человека (А.В. Иванов, 2007; В.А. Захаренко, 2009 и др.).

В связи с этим разработка принципов диагностики отравлений животных неоникотиноидами, определение патогенеза интоксикации и потенциальной опасности пестицидов для будущих поколений, установление особенностей накопления и распределения остатков препаратов в органах и тканях животных, а также поиск наиболее эффективных средств терапии и профилактики отравлений являются актуальными задачами современной ветеринарной токсикологии.

Степень разработанности проблемы. Неоникотиноиды изучены с позиции эффективности применения в растениеводстве, ветеринарии и санитарии, установлен механизм их инсектицидного действия (К. Mori, 1992; I. Yamamoto, 1993; К. Matsuda, 2001; А.Ф. Гримов, 2003; О.Ю. Еремина, Ю.В. Лопатина, 2005; О.Ю. Еремина, Ю.В. Лопатина, 2009; В.И. Долженко, 2009; А.К. Jones, 2010). Токсикологическая характеристика неоникотиноидов представлена в соответствии с требованиями, предусмотренными

регистрационными испытаниями пестицидов, при этом определена токсичность действующих веществ, а не их препаративных форм (Л.В. Ермолова, Н.Г. Проданчук, П.Г. Жминько и др., 2004). Отсутствие методов обнаружения остатков неоникотиноидов в биологических объектах, критериев диагностики и средств антидотной терапии при отравлениях не позволяет своевременно и точно поставить диагноз на отравление животных имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими пестицидами, оценить их потенциальную опасность, а также контролировать содержание их остатков в продуктах питания животного происхождения. Отсутствие сведений о патогенезе интоксикации затрудняет разработку эффективных лечебных и профилактических мероприятий при отравлении животных неоникотиноидами.

В связи с этим дальнейшее изучение токсикологической характеристики неоникотиноидов, разработка диагностических, лечебных и профилактических мероприятий при отравлении животных представляют актуальную проблему для ветеринарной медицины.

Цель и задачи исследования. *Цель работы* – установить клинко-токсикологические параметры неоникотиноидов и разработать методы диагностики и лечения животных при отравлении.

Для достижения поставленной цели были определены следующие *задачи*:

- определить клинко-токсикологическую характеристику Конфидора Экстра® и Калипсо® (параметры токсичности, токсикокинетику и токсикодинамику, отдаленные эффекты действия);
- разработать методы клинической, лабораторной и посмертной диагностики отравлений животных неоникотиноидами и установить патогенетически значимые изменения в организме животных;
- доказать эффективность средств патогенетической терапии при остром отравлении имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими пестицидами;
- экспериментально обосновать возможность использования озон/NO- газовой смеси и низкочастотного ультразвука для детоксикации воды, содержащей остатки неоникотиноидов;
- оценить влияние имидаклопридсодержащих препаратов на организм животных при использовании в производственных условиях для обработки кормовых культур и животноводческих помещений;
- разработать методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Диагностика, лечение и профилактика отравлений животных неоникотиноидами».

Предмет и объект исследования. Объектом исследования являлись белые беспородные лабораторные крысы, кролики, петушки породы Белый леггорн, свиньи. Предмет исследования – токсикологическая характеристика Конфидора экстра® и Калипсо®, разработка методов диагностики, лечения и профилактики при отравлении животных неоникотиноидами.

Научная новизна результатов исследования. В отличие от проведенных ранее исследований неоникотиноидов (Л.В. Ермолова, Н.Г. Проданчук, П.Г. Жминько и др., 2004) получены новые данные об

иммунотоксическом, нейротоксическом, эмбриотоксическом и тератогенном действии нитрозо- и цианосодержащих препаратов данной группы. Обоснована потенциальная опасность длительного скормливания животным кормов, обработанных в период вегетации культур имидаклопридсодержащими пестицидами. Разработаны клинические, патоморфологические и лабораторные критерии диагностики острого и хронического отравлений животных и птиц неоникотиноидами. Установлено, что патогенетически значимыми признаками интоксикации являются атония желудочно-кишечного тракта, тахикардия, диспноэ и судороги. Патоморфологическая картина острого отравления характеризуется застойной гиперемией печени, почек и селезенки, острым расширением желудка и слепой кишки; при хроническом отравлении имидаклопридсодержащими пестицидами отмечается гидропическая дистрофия печени и почек, при отравлении цианосодержащими неоникотиноидами – зернистая дистрофия, лейкоцитарная инфильтрация и разрастание соединительной ткани.

Доказана способность имидаклоприда и тиаклоприда проникать через гематоплацентарный и гематоэнцефалический барьеры у млекопитающих и накапливаться в тканях эмбрионов и плодов. Экспериментально обосновано эмбриотоксическое и тератогенное действие неоникотиноидов, подтверждено негативное влияние пестицидов на рост и развитие потомства с увеличением постнатальной смертности и развитием у крысят синдрома «эмоциональной тревожности».

Разработаны методы определения остаточных количеств имидаклоприда и тиаклоприда в биологических объектах. Новизна полученных данных подтверждена патентами: «Способ определения имидаклоприда в биологических объектах с использованием тонкослойной хроматографии» (Патент RU 2467323); «Способ определения имидаклоприда в биологических объектах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии» (Патент RU 2484458), положительным решением о выдаче патента на изобретение «Способ определения тиаклоприда в биологических объектах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии» по заявке № 2012143258/15(069410).

В экспериментальных условиях доказано положительное влияние унитиола в сочетании с диазепамом на клинический статус животных при остром отравлении неоникотиноидами. Так, при отравлении Конфидором экстра® и Калипсо® последовательное введение унитиола и диазепама повышает показатель выживаемости животных до 75-80% ($P<0,05$), снижает концентрацию имидаклоприда в крови на 70% ($P<0,05$) и тиаклоприда – на 50% ($P<0,05$). Новизна результатов, полученных в данной серии опытов, подтверждена патентом на изобретение «Способ лечения острых отравлений животных неоникотиноидными инсектицидами» (Патент RU 2505298).

Установлена высокая детоксицирующая активность озон/ NO -содержащей газовой смеси и низкочастотного ультразвука в отношении неоникотиноидов. Поедание птиц водными растворами Конфидора экстра® и Калипсо®,

предварительно обработанными озон/NO-содержащей газовой смесью и низкочастотным ультразвуком, приводит к снижению концентрации пестицидов в организме по сравнению с группой птиц, получавших тот же раствор без обработки.

Теоретическая значимость работы. Установлены клинико-токсикологические параметры инсектицидов новой группы – неоникотиноидов, чем обусловлен вклад в развитие токсикологии пестицидов. Результаты исследований позволили уточнить патогенез отравлений препаратами данной группы, что является теоретической основой для разработки принципов диагностики, лечения и профилактики отравлений животных. Результаты научных исследований включены в коллективные монографии «Наука сегодня: теория, практика, инновации» (Ростов-на-Дону, 2014) и «Актуальные вопросы медицинских морфологических дисциплин» (Новосибирск, 2014).

Практическая значимость состоит в разработке принципов диагностики острого и хронического отравлений животных и птиц имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими неоникотиноидами. Разработанные методы определения имидаклоприда и тиаклоприда в органах и тканях животных повышают эффективность диагностических мероприятий, а также позволяют осуществлять контроль за содержанием их остаточных количеств в продукции животного происхождения. Материалы исследований представляют определенную ценность для оптимизации гигиенических регламентов применения Конфидора экстра® и Калипсо®. Выявленные эмбриотоксические и тератогенные эффекты неоникотиноидов необходимо учитывать при интенсивном использовании пестицидов в растениеводстве, животноводстве и ветеринарной медицине. Установленные особенности накопления и распределения имидаклоприда и тиаклоприда в организме животных и птиц позволяют определить органы-депо препаратов и обосновать выбор проб для химико-токсикологического анализа. Положительное влияние унитиола и диазепама на состояние животных при остром отравлении имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими препаратами позволяет рекомендовать их в качестве средств патогенетической и симптоматической терапии. Доказано, что сочетанное введение унитиола в дозе 0,025 г/кг и диазепама в дозе 0,5 мг/кг способствует ускорению биотрансформации пестицидов, приводит к снижению концентрации их остаточных количеств в организме и повышает выживаемость животных до 75-80 %. Экспериментально установлена высокая детоксицирующая активность озон/NO-содержащей газовой смеси в сочетании с низкочастотным ультразвуком при обработке воды, содержащей остаточные количества неоникотиноидов.

На основании полученных результатов изданы методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Диагностика, лечение и профилактика отравлений животных неоникотиноидами», которые одобрены на секции «Патология, фармакология и терапия» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол №3 от 08.07.2013 г.), а также учебное пособие «Токсикология пестицидов», которое допущено Учебно-методическим

объединением высших учебных заведений Российской Федерации по образованию в области зоотехнии и ветеринарии в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки (специальности) 111801 – Ветеринария (квалификация (степень) «специалист») (2013). Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций и проведении практических занятий по ветеринарной токсикологии и патологической анатомии в ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А.Столыпина.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией по следующим пунктам: 9. Изучение токсичности пестицидов, токсических элементов, микотоксинов, полибромированных бифенилов, хлордоксинов и других опасных загрязнителей окружающей среды и объектов ветеринарного надзора; 11. Изучение эмбриотоксического, тератогенного, мутагенного, аллергенного и канцерогенного действия лекарственных веществ и опасных химических загрязнителей объектов ветеринарного надзора; 12. Разработка методов диагностики, профилактики и антидотной терапии при отравлении животных пестицидами, токсичными элементами и другими опасными химическими веществами; 13. Разработка методов определения лекарственных веществ, пестицидов, токсичных элементов, микотоксинов, фитотоксинов и других опасных химических веществ в кормах, воде, органах и тканях животных, продуктах питания.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных по следующим пунктам: 1. Общие и теоретические аспекты ветеринарной нозологии и патологии; 2. Вопросы клинической ветеринарии, принципы, методы и технологии обследования, общей, специальной и инструментальной диагностики болезней животных, частная синдроматика (кардио-, нейро-, гепато-, нефропатология, желудочно-кишечные, респираторные, репродуктивные расстройства); 3. Этиология и патогенез незаразных болезней, патологических и стрессовых состояний, патология обмена веществ у животных; 9. Структура и функции клеток, тканей и органов животных, взаимосвязь функциональных, структурных и гистохимических изменений в норме и патологии.

Апробация и реализация результатов научных исследований.

Апробация. Основные результаты исследований доложены на международной научно-практической конференции «Ветеринарная медицина – теория, практика, обучение», Санкт-Петербург, 2010; международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающего организатора Сибирской ветеринарной науки А.В. Копырина «Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных», Омск, 2010; международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных

условиях», Омск, 2010; III и IV съездах фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации», Санкт-Петербург, 2011; Москва, 2013; Московском международном ветеринарном конгрессе, Москва, 2011; международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной ветеринарии», посвященной 65-летию ветеринарной науки Кубани, Краснодар, 2011; X международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии», Новосибирск, 2011; II всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Ученые Урала и Сибири – развитию отечественной фармации: инновационных лекарственных средств», Новосибирск, 2011; международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ, Омск, 2011; 2-ом международном конгрессе «Эффективные и безопасные лекарственные средства», Санкт-Петербург, 2012; международной научно-практической конференции «Аграрная наука – основа успешного развития АПК и сохранения экосистем», Волгоград, 2012; международной научно-практической интернет-конференции «Современные тенденции в ветеринарной медицине», Ставрополь, 2012; фармакологической научной конференции, посвященной 90-летию академика М.И. Рабиновича, Троицк, 2012; VIII международной научно-технической конференции «Динамика систем, механизмов и машин», Омск, 2012; научной интернет-конференции «Актуальные проблемы ветеринарии», Новосибирск, 2012; международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в ветеринарии, биологии и экологии», Троицк, 2013; международной научно-практической конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, доктора ветеринарных наук, профессора Э.Ф. Ложкина «Ветеринарная патология и экология млекопитающих», Караваево, 2013; Всероссийской научно-практической конференции «Современные научно-практические достижения в ветеринарии», Киров, 2013; на международной научно-практической интернет-конференции «Научный поиск – животноводству России», Ставрополь, 2013; международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в ветеринарии, биологии и экологии», Троицк, 2013; Втором международном научно-техническом форуме «Реализация государственной программы развития сельского хозяйства и регулирование рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия: инновации, проблемы, перспективы», посвященном 95-летию ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А.Столыпина, Омск, 2013; III международном конгрессе ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», Санкт-Петербург, 2014.

Реализация. Основные результаты научно-исследовательской работы внедрены в ОАО «Омский бекон» Омского района Омской области и учебный процесс ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А.Столыпина.

Публикация результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 48 научных работ, в том числе 19 из них – в журналах,

рекомендованных ВАК, 3 патента, методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы, учебное пособие «Токсикология пестицидов», 2 монографии.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Конфидор экстра[®] относится к среднетоксичным, Калипсо[®] – к высокотоксичным соединениям с отдаленным неблагоприятным действием на организм животных.
2. При отравлении животных имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими препаратами ведущими синдромами являются центральный холинергический, экстрапирамидный, периферический никотиноподобный, периферический адренергический. Показатели крови и патоморфологические изменения в органах и тканях указывают на снижение неспецифической резистентности и развитие морфофункциональных изменений в паренхиматозных органах с нарушением моторно-эвакуаторной функции желудочно-кишечного тракта.
3. Наиболее эффективными средствами патогенетической терапии при остром отравлении неоникотиноидами являются унитиол и диазепам. Обработка питьевой воды, содержащей остатки неоникотиноидов, озон/NO-содержащей газовой смесью и низкочастотным ультразвуком уменьшает накопление пестицидов в организме животных.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 345 страницах компьютерного текста и включает разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы, практические рекомендации. Работа иллюстрирована 46 таблицами, 167 рисунками. Список литературы состоит из 347 источников, в том числе иностранных авторов – 131.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

Тема диссертации является самостоятельным разделом государственной плановой научно-исследовательской работы № 01.2.00103080 «Фармако-токсикологическая оценка новых лекарственных средств и пестицидов». Основная часть экспериментальной работы выполнена в лаборатории кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А.Столыпина. Отдельные серии экспериментов проведены на опытных полях Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства, БУ «Омская областная ветеринарная лаборатория», Академическом центре лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии, а также в ООО «Комплекс «Омский бекон» Омской области.

В экспериментальной работе использовали препараты компании Байер КропСайенс АГ (Германия): Конфидор экстра[®] (д.в. имидаклоприд, 700 г/л) и

Калипсо® (д.в. тиаклоприд, 480 г/л), а также Квик Байт® (д.в. имидаклоприд, 10 г/л) (организация-производитель завод «Kwizda Agro GmbH»/«Квизда Агро ГмбХ», Австрия). Выбор препаратов был обусловлен особенностями химического строения соединений. Имидаклоприд является представителем нитрозосодержащих, а тиаклоприд – представителем цианосодержащих неоникотиноидов.

Эксперименты проводили на половозрелых беспородных белых крысах, кроликах, птицах, собаках, свиньях. Содержание, кормление и уход за животными, выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с рекомендациями Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (2003). Схема исследований представлена на рисунке 1.

Параметры токсичности Конфидора экстра® и Калипсо® для лабораторных животных определяли методом наименьших квадратов (Л.К. Герунова, Л.З. Шрайбер, 1999). Коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$) рассчитывали по Ю.С. Кагану и В.В. Станкевичу (1970). Гематологические, биохимические и иммунологические исследования проводили через 1 и 7 суток после однократного введения препаратов в токсических дозах, а также через три месяца при изучении хронической токсичности пестицидов. Морфологические показатели крови определяли на гематологическом анализаторе Exel-22, биохимические показатели сыворотки крови – на биохимическом анализаторе-автомате «Konelab 20» с использованием реагентов фирмы «Humap», Германия.

Для определения поглотительной активности лейкоцитов периферической крови (ФАЛ) использовали в качестве тест-системы неокрашенные частицы латекса (А.Н. Медведев, 1991). Функциональную активность нейтрофилов оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) по методике М.Е. Виксмана, А.Н. Маянского в модификации И.Г. Герасимова, Д.Ю. Игнатова (И.И. Долгушин, О.В. Бухарин, 2001). Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли путем их осаждения в полиэтиленгликоле 7% концентрации (V. Hashkova, 1978). Для изучения гуморального иммунного ответа (АОК) после воздействия пестицидов использовали методику A.J. Cunningham (1965), описанную в книге И.И. Долгушина, О.В. Бухарина (2001). Активность миелопероксидазы определяли по методу Грэхема-Кнолля в реакции с бензидином (В.В. Меньшиков, 1987). Аллергизирующие свойства пестицидов изучали путем накожной аппликации и инстилляций на конъюнктиву кролика; для определения ГЗТ использовали феномен изменения массы конечностей белых крыс (СП 3.3.2.561-96, <http://zakon.law7.ru/legal2/se4/pravo4471/>).

Ориентировочно-исследовательскую и защитно-оборонительную поведенческие реакции крыс оценивали в тесте «Открытое поле» (Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон, 1991).

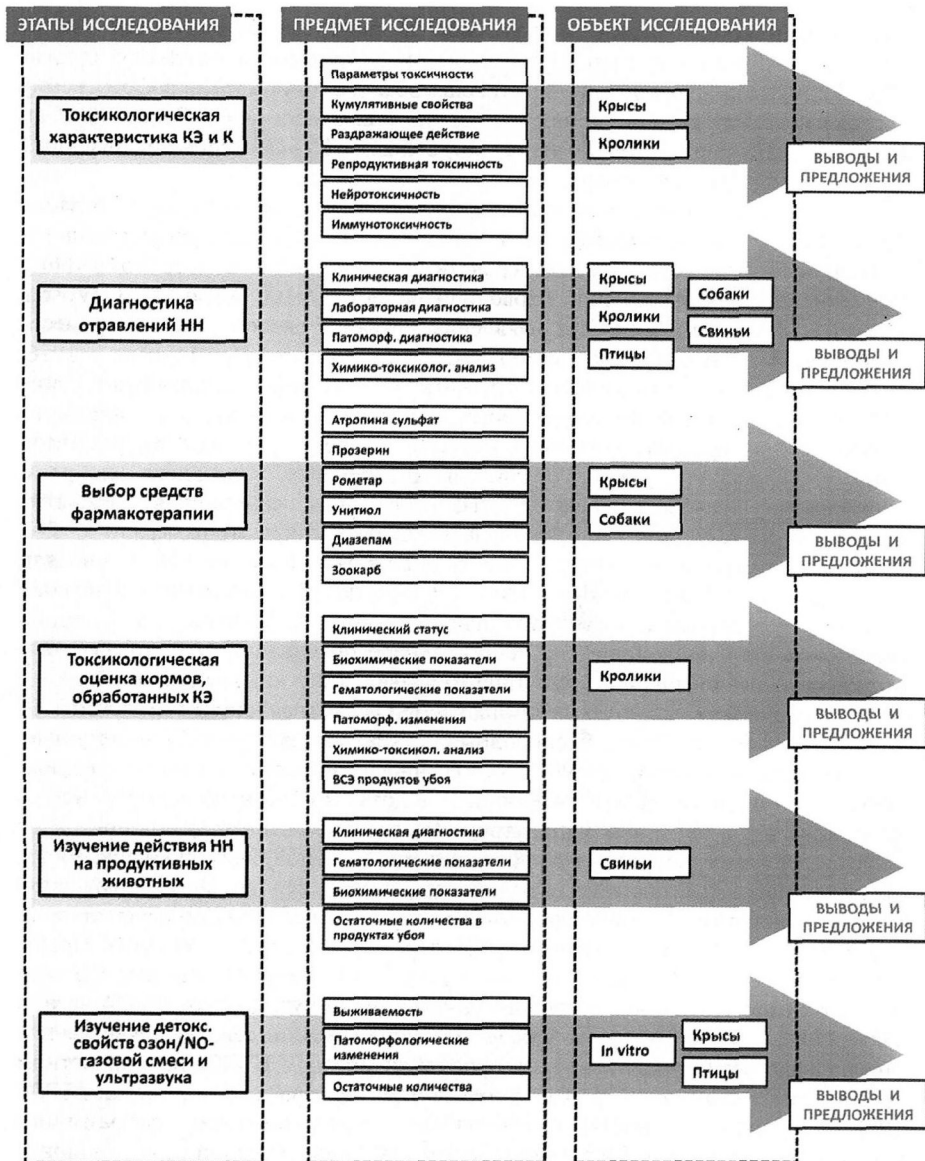


Рисунок 1 – Схема исследований.

Для гистологического исследования органы и ткани фиксировали в 4%-ном нейтральном растворе формальдегида, обезживали в спиртах

восходящей концентрации и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм получали на ротационном микротоме LaboCut 4055 (фирма Slee, Германия), окрашивали гематоксилином и эозином. Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили на микроскопе Axio Scope 40 (Carl Zeiss) и Axio Star (Carl Zeiss) с встроенным TV-адаптером и цифровой видеокамерой Carl Zeiss Imager, A1.

Изучение репродуктивной токсичности проводили согласно Методическим рекомендациям по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств (<http://www.law.rufox.ru/9/5163.htm>). Изучение внутренних органов проводили по методу J.G. Wilson (J.G. Wilson, 1965; Р.У. Хабриев, 2005). Для выявления аномалий скелета плода и процесса окостенения использовали метод А.В. Dawson (А.В. Dawson, 1926; Р.У. Хабриев, 2005). Постнатальное развитие потомства F1 оценивали в течение первого месяца жизни по числу живых и мертвых новорожденных, динамике массы тела и краниокаудального размера, общему физическому развитию (срокам отлипания ушей, появления первичного волосяного покрова, прорезывания резцов, открытия глаз, опускания семенников, открытия влагалища). Массу тела и краниокаудальный размер крысят измеряли на 2-е, 10-е, 20-е и 30-е сутки, определяли среднюю величину помета, вычисляли выживаемость с 0 по 5-й дни жизни и с 6-го по 30-й дни жизни. Изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания проводили в тестах «переворачивание на плоскости», «отрицательный геотаксис», «избегание обрыва», «маятниковый рефлекс».

Особенности накопления имидаклоприда и тиаклоприда в органах и тканях изучали на белых беспородных крысах-самцах (n=121) и петушках породы белый леггорн (n=90) 4-х-месячного возраста, которым вводили препараты Конфидор экстра® и Калипсо® в дозах по 100 мг/кг перорально и в дозе 40 мг/кг в зоб однократно утром. Взятие биологического материала от крыс (содержимое желудка, двенадцатиперстной, слепой, прямой кишок, кровь, брыжеечные лимфатические узлы, печень, почки, сердце, легкие, головной мозг, мышечная ткань, кожа с волосяным покровом и семенники) осуществляли через 30 минут, 1, 3, 6, 12 часов, а также через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 суток. Пробы органов и тканей петушков (кровь, мускульный желудок, сердце, белая и красная мышечная ткань) исследовали через 30 минут, 1, 3, 6, 12, 24 часа, а также на 4, 7 и 10 сутки после введения пестицидов. Количественное определение исследуемых веществ проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Хромос-ЖХ 301» с детектором спектрофотометрическим UVV 104M. Обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения «Хромос». Диапазон определяемых концентраций имидаклоприда и тиаклоприда составлял от 0,0002-0,001 мг/мл. Предел допустимых значений погрешности результатов измерения (m), выполняемых по данной методике, не превышает 5%. Для Конфидора Экстра® и Калипсо® были определены и рассчитаны следующие параметры токсикокинетики: T_{max}– время достижения максимальной концентрации (мин; ч); C_{max}–величина максимальной

концентрации (мг/кг); AUC_{0-t} – площадь под токсикокинетической кривой «концентрация-время» (мг·ч (или мин. в зависимости от ед. измерения T_{max})/мл); C_{max}/AUC_{0-t} – относительная скорость всасывания (мин⁻¹). Для оценки интенсивности проникновения пестицидов в ткани использовали показатель тканевой доступности (ft), определяемый отношением значения площади под токсикокинетической кривой в ткани (AUC_t) к соответствующей величине в плазме крови (AUC_p). Величину C_{max} и время ее достижения оценивали внемоделным способом как наибольшее из измеренных значений концентрации токсического вещества. Площадь под токсикокинетической кривой «концентрация-время» (AUC_{0-t}) рассчитывали при помощи метода трапеций.

Остатки имидаклоприда в пшенице, обработанной в период вегетации Конфидором экстра[®], определяли в лаборатории анализа кормов ФГБУ «Центр агрохимической службы «Омский» методом ТСХ согласно МУ по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде (2001).

Ветеринарно-санитарную оценку мяса кроликов проводили согласно Правилам ветеринарного осмотра убойных животных, ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов (1983). При ветеринарно-санитарной оценке тушек кроликов использовали ГОСТ 27747-88 «Мясо кроликов. Технические условия» (<http://standartgost.ru>); ГОСТ 20235.2-74 «Мясо кроликов. Методы анализа» (<http://vsegost.com/Catalog/17/17131.shtml>) и ГОСТ 20235.0-74 «Мясо кроликов. Методы отбора образцов. Органолептические методы определения свежести» (<http://vsegost.com/Catalog/36/36617.shtml>).

Статистическая обработка результатов исследований. Обработку цифрового материала проводили при помощи программы STATISTICA 8,0 («StatSoft», USA). Для описания массива данных, соответствующих нормальному распределению, использовали значения средней (M) и ошибки среднего (m), которые представляли как $M \pm m$. При этом для сравнения показателей до и после воздействия применяли t -критерий Стьюдента для зависимых выборок, при межгрупповых сравнениях использовали t -критерий Стьюдента для независимых выборок. В случае несоответствия имеющихся данных нормальному распределению использовали значения медианы (Me) и интерквартильной широты (P_{25} ; P_{75}), а межгрупповое сравнение выполняли при помощи непараметрического U -теста Манна-Уитни. Во всех сравниваемых случаях различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.2. Определение параметров токсичности Конфидора экстра[®] и Калипсо[®].

Установлено, что Конфидор экстра[®] в дозе 1100 мг/кг массы вызывает 100%-ную гибель животных в течение 4-х дней, доза 50 мг/кг массы является максимально переносимой, вызывающей токсический эффект без летального исхода. LD_{50} Конфидора экстра[®] составляет 536 мг/кг, $LD_{0}=50$ мг/кг, $LD_{16}=44$ мг/кг, $LD_{84}=1321$ мг/кг, $LD_{100}=1627$ мг/кг. Согласно гигиенической

классификации пестицидов (Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спину, 1986), Конфидор экстра® относится к среднетоксичным соединениям.

Калипсо® в дозах 50, 70, 100, 125 мг/кг массы не вызывает летальности у крыс. Доза 140 мг/кг вызывает гибель 75% животных, доза 150 мг/кг и выше – 100%-ную гибель крыс в течение первых двух суток. Доза 125 мг/кг является максимально переносимой. Расчетным путем установлено, что ЛД₅₀ Калипсо® для крыс составляет 128 мг/кг, ЛД₀=70 мг/кг, ЛД₁₆=86 мг/кг, ЛД₈₄=185 мг/кг, ЛД₁₀₀=230 мг/кг, что позволяет отнести Калипсо® к высокотоксичным соединениям.

В экспериментах на крысах и кроликах раздражающее, аллергизирующее и сенсибилизирующее действие не установлено.

2.3. Иммунотоксическое действие Конфидора экстра® и Калипсо®

Результаты исследований свидетельствуют о сохранении фагоцитирующей способности клеток при действии Конфидора экстра® и Калипсо® в дозах по 1/10 ЛД₅₀ через сутки и неделю после их перорального введения. Через неделю после введения препаратов наблюдали снижение показателей НСТ-теста на 23% ($P_{m-u}=0,04$) и 24% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно. Добавление активатора реакции не влияло на результат. Снижение показателей индуцированного НСТ-теста на 42% ($P_{m-u}=0,012$) и 44% ($P_{m-u}=0,012$) указывает на недостаточность фагоцитоза. В реакции бласттрансформации лимфоцитов отмечено достоверное увеличение показателя на 22% ($P_{m-u}=0,04$) и 33% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно. Установлено достоверное повышение активности миелопероксидазы, АОК и ЦИК во все периоды наблюдения. У крыс, интоксигированных Конфидором экстра® в дозе 1/10 ЛД₅₀, уровень ЦИК был выше, чем в контрольной группе, более чем в 2 раза ($P_{m-u}=0,012$); у крыс, интоксигированных Калипсо® в той же дозе, через 24 часа и 7 суток повышение показателя составило 74% ($P_{m-u}=0,012$) и в 1,2 раза ($P_{m-u}=0,012$) соответственно.

При хроническом отравлении крыс Конфидором экстра® в дозах по 1/10 (1-я опытная группа) и 1/100 ЛД₅₀ (2-я опытная группа) через три месяца установлено снижение ФИ на 21,4% ($P_{m-u}=0,012$) и 11,6% ($P_{m-u}=0,036$), ФЧ – на 11% ($P_{m-u}=0,047$) и 9% ($P_{m-u}=0,117$); показателя НСТ-теста – на 29,8% ($P_{m-u}=0,012$) и 8,8% ($P_{m-u}=0,143$) соответственно, при этом стимуляция нейтрофилов не способствует повышению данного показателя. Уровень ЦИК повышен в 1-й опытной группе на 56% ($P_{m-u}=0,012$).

Хроническая интоксикация Калипсо® в дозах по 1/10 (3-я опытная группа) и 1/100 ЛД₅₀ (4-я опытная группа) в течение трех месяцев вызывает снижение ФИ на 25% ($P_{m-u}=0,012$) у крыс 3-й опытной группы и показателя стимулированного НСТ-теста в обеих опытных группах на 32% ($P_{m-u}=0,012$) и 23,4% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно. Достоверное повышение ЦИК в 2,4 раза по сравнению с показателем контрольной группы отмечали у крыс 3-й опытной группы ($P_{m-u}=0,012$). У этих же животных установлено снижение активности миелопероксидазы.

2.3. Оценка поведения крыс в тесте «Открытое поле» при хронической интоксикации Конфидором Экстра® и Калипсо®

Результаты теста «Открытое поле» свидетельствуют о том, что при хронической интоксикации крыс Конфидором экстра® в дозе 1/10 ЛД₅₀ горизонтальная двигательная активность снижена в 5 раз ($P_{m-u}=0,007$), вертикальная – в 9 раз ($P_{m-u}=0,01$), при введении Калипсо® в дозе 1/10 ЛД₅₀ – в 3,6 раза ($P_{m-u}=0,003$) и в 2,5 раза соответственно ($P_{m-u}=0,028$) по сравнению с контрольными значениями. В меньшей степени была снижена двигательная активность у животных, получавших пестициды в дозах по 1/100 ЛД₅₀.

О степени тревожности животных опытных групп судили по времени нахождения их в центре и времени замирания. Увеличение времени нахождения в центре отмечали у крыс, получавших Конфидор экстра® в дозе 1/10 ЛД₅₀, на 64% ($P_{m-u}=0,05$), а в дозе 1/100 ЛД₅₀ – более чем в 2 раза ($P_{m-u}=0,037$). Аналогичные результаты получены при исследовании крыс, интоксцированных Калипсо®. Время замирания увеличилось у крыс, интоксцированных Конфидором экстра® в дозе 1/10 ЛД₅₀, в 7 раз ($P_{m-u}=0,001$), 1/100 ЛД₅₀ – на 85% ($P_{m-u}=0,04$), Калипсо® в дозах 1/10 ЛД₅₀ и 1/100 ЛД₅₀ – более чем в 6 ($P_{m-u}=0,001$) и 1,8 раз ($P_{m-u}=0,005$) соответственно. Время, затраченное на груминг, у крыс опытных групп в 2 раза ($P_{m-u}=0,001$) превышало показатель животных контрольной группы.

2.4. Репродуктивная токсичность имидаклоприд- и тиаклопридсодержащих неоникотиноидов

Самкам на 5-й (период имплантации) или 15-й (период фетогенеза) дни беременности однократно в форме хлебного болюса скармливали Конфидор экстра® и Калипсо® в дозах по 100 мг/кг массы. Через час в крови, яичниках и плацентах самок, а также тканях эмбрионов или плодов определяли остаточные количества имидаклоприда и тиаклоприда методом ТСХ. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Для оценки пренатального развития потомства крыс при интоксикации Конфидором экстра® и Калипсо® было сформировано 9 групп крыс по 10 голов в каждой. Самкам опытных групп с установленным сроком беременности один раз в день перорально вводили пестициды в дозах по 1/10 ЛД₅₀ (Конфидор экстра® в дозе 54 мг/кг; Калипсо® в дозе 13 мг/кг массы) с 1-го по 4-й дни беременности (доимплантационный период, 1-я и 2-я опытные группы), с 7-го по 10-й дни беременности (период органогенеза, 3-я и 4-я опытные группы), с 16-го по 18-й дни беременности (период фетогенеза, 5-я и 6-я опытные группы). Самкам 7-й и 8-й опытных групп на протяжении всего периода беременности перорально один раз в день вводили пестициды в дозах по 1/100 ЛД₅₀. Самки контрольных групп по тем же схемам получали воду водопроводную.

Таблица 1 – Накопление имидаклоприда и тиаклоприда в тканях эмбрионов, плодов и органах репродукции самок при интоксикации Конфидором Экстра® и Калипсо®, М±m (n=5)

Пробы	Имидаклоприд, мг/кг		Тиаклоприд, мг/кг	
	5-й день беременности	15-й день беременности	5-й день беременности	15-й день беременности
Кровь беременных самок	15,9±1,5	11,9±0,5	12,6±1,2	14,2±0,8
Матка	32,7±1,1	34,0±0,9	29,6±2,5	28,8±1,4
Яичники	19,0±0,9	47,7±5,6	25,8±1,7	43,1±3,9
Плацента	44,9±2,5	13,3±0,6	49,0±2,8	14,3±1,1
Плодное яйцо	22,3±0,9	Не определяли	21,8±1,4	Не определяли
Эмбрионы	56,9±1,7	Не определяли	53,2±3,8	Не определяли
Головной мозг плодов	Не определяли	13,4±0,8	Не определяли	11,7±0,9
Печень плодов	Не определяли	13,3±0,6	Не определяли	11,4±0,8

У самок 7-й и 8-й опытных групп регистрировали самопроизвольные аборт, как правило, на 15-18-е сутки беременности. У крыс, интоксцированных четырехкратно с 1-го по 4-й дни беременности Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах по 1/10 ЛД₅₀ установлено снижение количества желтых тел беременности на 25% (P=0,03) и 31% (P=0,06), мест имплантации – на 59% (P=0,001) и 47% (P=0,006) (табл. 2).

Таблица 2 – Показатели эмбриогенеза у крыс при пероральном введении Конфидора Экстра® и Калипсо® в критические периоды беременности

Показатель	К, n=40	1/10 ЛД ₅₀ на 1,2,3,4 дни беремен., n=10		1/10 ЛД ₅₀ на 8,9,10,11 дни беремен., n=10		1/10 ЛД ₅₀ на 15,16,17,18 дни беремен., n=10		1/100 ЛД ₅₀ всю беремен., n=15	
		Кл	Кф	Кл	Кф	Кл	Кф	Кл	Кф
Кол-во желтых тел, М±m	8,8±0,6	6,6±0,6*	6,0±0,6	8,0±0,4	7,6±0,7	7,1±0,6	6,6±0,5	9,7±0,7	10,5±0,9
Кол-во мест имплантации, М±m	8,8±0,6	3,6±0,5*	4,7±0,7	8,0±0,4	7,4±0,7	7,1±0,6	6,4±0,5	9,1±0,7	9,3±0,6
Всего плодов по группе, гол	76	22	24	52	56	55	58	74	45
Кол-во плодов на одну самку, М±m	8,5±0,8	2,2±0,6*	2,4±0,7*	5,2±0,8	5,6±0,8	5,7±1,1	5,7±0,8	5,3±0,9	4,6±1,5
Общая эмбриональная смертность, %	3	67	60	35	26	20	14	45	56
Предимплант. гибель, %	3	67	60	35	26	20	14	35	45
Постимплант. гибель, %	0	0	0	0	0	0	0	1,3	2,2
Показатель внутриутробной выживаемости, %	97	33	40	65	74	80	86	55	50
Коэфф. индуц. гибели эмбрионов	0	70	59	32	24	17	11	43	55
Масса плодов, г М±m	5,0±0,1	4,2±0,1	4,2±0,2	4,3±0,1	4,1±0,3	4,4±0,1	4,7±0,7	4,9±0,1	3,8±0,6
Длина плодов, см М±m	5,1±0,1	3,9±0,1*	4,1±0,4	4,0±0,2*	4,2±0,3	4,3±0,1	4,5±0,6	4,5±0,1	4,3±0,4
Масса плаценты, г, М±m	4,8±0,9	3,3±0,3	4,0±0,4	4,0±0,7	3,9±0,6	4,0±1,1	4,0±0,9	5,2±0,6	4,6±0,9

Примечание: * – P<0,05 по отношению к контрольной группе.

Количество плодов на одну самку в этих группах снизилось в 3,9 и 3,5 раза соответственно, при этом все плоды были живыми. Общая эмбриональная смертность была высокой во всех опытных группах.

При внешнем осмотре 20-ти-дневных плодов самок опытных групп регистрировали случаи анемии и кифоза. Наибольшее количество случаев патологии отмечали при ежедневной интоксикации самок испытуемыми пестицидами на протяжении всей беременности. В результате исследования скелета плодов опытных групп по методу A.B. Dawson были установлены случаи кальциноза кожи и появление очагов кальцификации в хрящевой ткани. При обследовании плодов по методу J.G. Wilson у трех плодов из 26-ти (12%), самки которых на протяжении всей беременности получали Конфидор экстра® в дозе 1/100 ЛД₅₀, были обнаружены анофтальм и кровоизлияния в вещество головного мозга (рис. 1, 2). Кровоизлияния регистрировали также у плодов, самки которых на протяжении всей беременности получали Калипсо® в дозе 1/10 ЛД₅₀.



Рисунок 1 – 20-ти-дневные плоды, полученные от самки, интоксичированной в течение всей беременности Конфидором Экстра® в дозе 1/100 ЛД₅₀. Кальцификаты в коже. Окраска скелета по методу A. B. Dawson (1926).

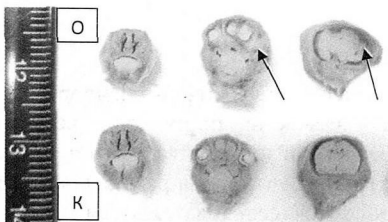


Рисунок 2 – Анофтальм и кровоизлияния в вещество головного мозга у плода (О) от самки, которая на протяжении всей беременности получала Конфидор экстра® в дозе 1/100 ЛД₅₀. Окраска плодов по методу J.G. Wilson (1965). К – контроль.

Для оценки постнатального развития потомства крыс при интоксикации Конфидором экстра® и Калипсо® самкам беспородных белых крыс (n=20) вводили перорально пестициды в дозах по 1/100 ЛД₅₀ один раз в сутки с 6-го дня беременности ежедневно до рождения крысят.

Процесс родов у самок контрольной и опытных групп протекал без осложнений. Отсутствие материнского инстинкта регистрировали у нескольких самок опытных групп. Новорожденные у них были разбросаны по клетке, малоподвижны, сосательный рефлекс отсутствовал, гибель потомства регистрировали в течение 3-5 суток после рождения. У двух крысят опытной группы, самки которых на протяжении беременности были интоксичированы Калипсо®, отмечали подкожные гематомы в области лопаток (рис. 3). Регистрировали случаи рождения крысят с моно- и параличием грудных конечностей. В группе самок, интоксичированных Конфидором экстра® в дозе 1/100 ЛД₅₀, рождались крысята с желтушным окрашиванием кожи, они резко отставали в росте и развитии. В этой же группе наблюдали случай рождения крысенка с выраженным искривлением позвоночного столба (кифоз) и моноплегией левой грудной конечности (рис. 4). При этом крысенок был

активен, но отставал в росте и развитии. При исследовании костной системы по методу А. В. Dawson (1926) было обнаружено окрашивание хрящевой ткани ализарином, что указывает на наличие очага окостенения.

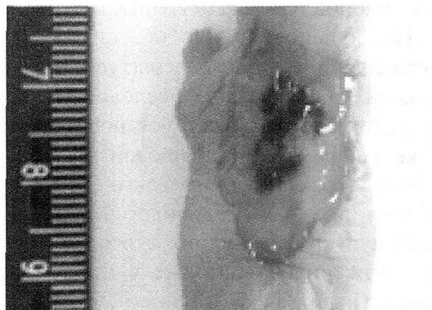


Рисунок 3 – Подкожная гематома у 2-х-дневного крысенка, рожденного от самки, интоксичированной в течение всей беременности Калипсо® в дозе 1/100 ЛД₅₀.

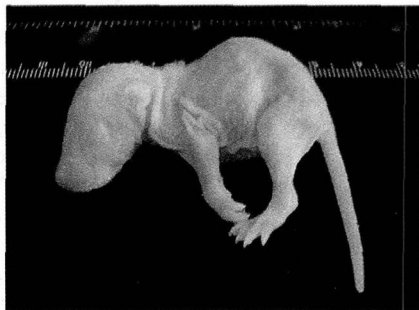


Рисунок 4 – Крысенок в возрасте 7-ми дней, рожденный от самки, интоксичированной на протяжении всей беременности Конфидором экстра® в дозе 1/100 ЛД₅₀. Кифоз и паралич грудных конечностей.

Пероральное введение Конфидора экстра® и Калипсо® в дозах по 1/100 ЛД₅₀ в организм самок на протяжении всей беременности приводит к снижению жизнеспособности потомства. Через два месяца масса тела крысят обеих опытных групп почти в два раза была ниже контрольных значений. Показатели ориентировочно-исследовательской реакции потомства в этот же период свидетельствуют о формировании «синдрома эмоциональной тревожности» (увеличение времени нахождения в центре, снижение двигательной активности, увеличение времени замирания, увеличение актов груминга).

2.5. Накопление и распределение Конфидора экстра® и Калипсо® в организме животных и птиц

При однократном пероральном введении Конфидора Экстра® и Калипсо® в дозах по 100 мг/кг через 30 минут максимальное их количество находится в желудке, при этом количество тиаклоприда в пробе было в 4 раза меньше, чем имидаклоприда. В это же время высокие пики концентрации имидаклоприда отмечали в содержимом двенадцатиперстной кишки, селезенке и коже с волосатым покровом (табл.3.).

Через час после введения Калипсо® максимальные концентрации тиаклоприда регистрировали в содержимом двенадцатиперстной кишки и крови. Наибольшее накопление пестицидов в органах и тканях наблюдали через 3, 6 и 12 часов. Максимальный пик имидаклоприда через 3 часа отмечали в крови, легких, печени, а тиаклоприда – в семенниках, сердце, почках, коже с волосатым покровом, мышечной ткани, головном мозге и содержимом прямой кишки.

Таблица 3 – Некоторые показатели токсикокинетики Конфидора Экстра® и Калипсо® у крыс (дозы по 100 мг/кг), n=5

Пробы биологического материала	T _{max}		C _{max} , мг/кг	
	Кф	Кл	Кф	Кл
Содержимое желудка	30 мин	30 мин	6674,9±67,1	2251,8±15,9
Содержимое двенадцатиперстной кишки	30 мин	1 ч	50,9±1,7	67,1±0,3
Содержимое слепой кишки	12 ч	6 ч	37,6±0,7	16,4±0,6
Содержимое прямой кишки	12 ч	3 час	10,7±0,6	10,6±0,6
Кровь	3 ч	1 ч	32,9±0,7	10,5±0,2
Брыжеечные лимфоузлы	12 ч	6 ч	18,0±0,7	30,3±0,8
Селезенка	30 мин	6 ч	61,9±2,3	11,8±0,7
Печень	3 ч	6 ч	20,5±0,9	29,3±1,2
Почки	12 ч	3 ч	19,9±0,6	19,9±0,3
Легкие	3 ч	6 ч	25,8±0,8	12,7±0,4
Сердце	6 ч	3 ч	16,7±0,3	26,4±0,2
Головной мозг	12 ч	3 ч	23,1±0,7	10,7±0,2
Мышечная ткань	12 ч	3 ч	19,5±1,4	16,5±0,3
Семенники	12 ч	3 ч	14,7±0,9	48,1±0,3
Кожа с волосяным покровом	30 мин	3 ч	57,1±4,5	18,9±0,3

Примечание. T_{max} – время наступления максимальной концентрации; C_{max} – максимальная концентрация имидаклоприда и тиаклоприда в органах и тканях крыс при однократном пероральном введении Конфидора Экстра® и Калипсо® в дозах по 100 мг/кг.

Через 6 часов после перорального введения Калипсо® максимальные количества тиаклоприда отмечали в брыжеечных лимфатических узлах, далее по убывающей – в печени, содержимом слепой кишки, легких и селезенке. Через 12 часов высокие пики концентрации регистрировали только при интоксикации Конфидором экстра®.

Преимущественное выведение имидаклоприда происходит через 3 суток, однако в крови и печени его остатки обнаруживаются через 30 суток. Преимущественное выведение тиаклоприда происходит в течение 7 суток.

У птиц по уровню накопления пестицидов органы и ткани располагаются в следующем порядке: при введении Конфидора экстра® – кровь (56%) → мышца белая (10%) = печень (10%) → мышца красная (9%) → мускульный желудок (8%) → сердце (7%); при введении Калипсо® – кровь (28%) → мускульный желудок (21%) → мышца белая (19%) → мышца красная (12%) → сердце (11%) → печень (9%). Выведение имидаклоприда и тиаклоприда из организма птиц происходит в течение 4-х и 10-и суток соответственно.

2.6. Клиническая диагностика острого и хронического отравлений животных Конфидором экстра® и Калипсо®

Первые симптомы острой интоксикации появляются через 5-10 минут после введения токсических доз пестицидов и характеризуются легким угнетением, мышечной слабостью, сонливостью, почесыванием боков

(парестезией), транзиторной атонией кишечника. Летальные дозы пестицидов вызывают нарушение координации, атаксию, сонливость, блефароспазм, увеличение объема живота, напряжение брюшной стенки и болезненность, атонию кишечника, повышение рефлекторной возбудимости, диспноэ и тахикардию, периодически возникающий тремор в области головы, груди и задней части туловища, клонико-тонические судороги. Гибель наблюдали в течение первых двух суток. У птиц острое отравление Конфидором экстра® и Калипсо® характеризуется прогрессирующим развитием атаксии и блефароспазмом, мелким периодическим тремором мышц хвоста и крыльев, судорогами мышц шеи. При снижении температуры тела до $37,5 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$ птицы впадали в глубокую седацию, не реагировали на внешние раздражители и в течение 1-3 суток после отравления погибали. У собак при пероральном введении Конфидора экстра® и Калипсо® в дозах 20, 30 и 40 мг/кг отмечали двигательное возбуждение, периодический тремор мышц грудных и тазовых конечностей. Рвоты, саливации, диареи у собак не наблюдали. Тремор проходил через 10-16 часов после интоксикации. Через 2-3 суток у животных и птиц, перенесших острую интоксикацию препаратами, происходит восстановление моторно-эвакуаторной функции желудка и кишечника, повышенная возбудимость сохраняется в течение недели. При отравлении животных неоникотиноидами отмечали следующие синдромы:

- *центральный холинергический*, характеризующийся сонливостью, нарушением координации движений, общей слабостью, дыхательной недостаточностью, комой;
- *экстрапирамидный*, характеризующийся тремором, ригидностью мышц туловища и конечностей, клонико-тоническими судорогами;
- *периферический никотиноподобный*, проявляющийся миофибрилляциями, мышечной слабостью, повышением (малые дозы) или понижением (токсические дозы) артериального давления, миалгией, блефароспазмом;
- *периферический адренергический*, характеризующийся тахикардией, атонией желудка и кишечника.

Хроническое отравление крыс Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ в течение трех месяцев характеризуется нарушением пищеварения (размягчение и осветление каловых болосов) и моче-выделительной функции (феномен подтекания мочи), а также формированием тревожно-депрессивного синдрома (оценка в тесте «Открытое поле»). Регистрировали случаи гнойной пневмонии и некроза тканей хвоста.

2.7. Лабораторная диагностика острого и хронического отравлений животных Конфидором экстра® и Калипсо®

Крысам 1-й и 2-й опытных групп однократно утром скармливали хлебный болос, содержащий Конфидор экстра® в дозе 54 мг/кг (1/10 ЛД₅₀), животным 3-й и 4-й опытных групп – хлебный болос, содержащий Калипсо® в

дозе 13 мг/кг (1/10 ЛД₅₀). Животные двух контрольных групп получали хлебный боллос без пестицидов (5-я и 6-я контрольные группы). Взятие крови проводили через 24 часа (1-я и 3-я опытные группы) и 7 суток (2-я и 4-я опытные группы) из яремной вены под эфирным наркозом.

Через сутки после интоксикации Конфидором экстра® отмечали нейтрофильный лейкоцитоз на фоне лимфопении, эозинопении и моноцитопении, снижение количества эритроцитов на 14% ($P<0,05$), гемоглобина – на 12% ($P<0,05$) по сравнению с показателями контрольной группы. Через сутки количество тромбоцитов было повышено в 1,3 раза ($P<0,05$). Через 7 суток у животных регистрировали относительный лимфоцитоз, моноцитоз, эозинопению, эритропению.

Через 24 часа после введения Калипсо® отмечали снижение количества лейкоцитов в 1,9, лимфоцитов – в 2,2 раза, моноцитов – в 6 раз, эозинофилов – более, чем в 10 раз по сравнению с показателями контрольной группы животных. Лейкограммы указывали на относительную нейтрофилию, моноцитопению и эозинопению. Через 7 суток у животных этой группы регистрировали повышение количества лимфоцитов на 22% ($P<0,05$), моноцитов – в 2 раза ($P<0,05$), тромбоцитов – на 4% ($P<0,05$) на фоне снижения количества эритроцитов на 18% ($P<0,05$).

При ежедневном введении Конфидора экстра® в дозах 54 и 5,4 мг/кг в течение трех месяцев установлено снижение количества лейкоцитов в крови на 30% и 22% соответственно, снижение количества гемоглобина на 6% ($P=0,094$) и 9% ($P=0,012$) соответственно. Тромбоцитопения выражена у крыс 2-й опытной группы (снижение на 9%, $P=0,021$).

Ежедневное поступление Калипсо® в организм крыс в течение 3-х месяцев приводит к лейкоцитопении и гипохромной анемии.

Через сутки после однократного перорального введения Конфидора экстра® в дозе 54 мг/кг массы в сыворотке крови крыс регистрировали достоверное повышение общего билирубина на 77% ($P_{m-u}=0,012$), АЛТ – на 60% ($P_{m-u}=0,012$), ГГТ, ЩФ и показателя тимоловой пробы – в 2 раза по сравнению с контрольными данными ($P_{m-u}=0,036$; $P_{m-u}=0,012$; $P_{m-u}=0,012$ соответственно). Концентрация креатинина в сыворотке крови повысилась на 23% ($P_{m-u}=0,047$), мочевины – на 28% ($P_{m-u}=0,09$). Через неделю после однократного перорального введения Конфидора экстра® в дозе 54 мг/кг повышенными остаются показатели общего билирубина на 67% ($P_{m-u}=0,012$), АЛТ – на 55% ($P_{m-u}=0,06$), что свидетельствует о гелятогтоксическом действии инсектицида или его метаболитов. При интоксикации Калипсо® в дозе 13 мг/кг через сутки регистрировали повышение концентрации общего билирубина в 2 раза ($P=0,012$); АЛТ – на 19% ($P=0,012$); ГГТ – в 2,3 раза ($P=0,012$), показателя тимоловой пробы – в 5,3 раза ($P=0,012$); ОБ – на 16% ($P=0,012$); креатинина – на 14% ($P=0,012$); мочевины – на 43% ($P=0,012$). Через 7 суток по сравнению с группой контроля остаются выше показатели общего билирубина – на 65% ($P=0,012$), АЛТ – на 24% ($P=0,06$), ЩФ – на 73% ($P=0,012$), ГГТ – на 66%

($P=0,047$); ОБ – на 12% ($P=0,036$), холестерина – на 18% ($P=0,036$) на фоне снижения уровня глюкозы на 25% ($P=0,012$).

В течение трех месяцев ежедневно перорально 1 раз в день крысам вводили Конфидор экстра® в дозах 1/10 ЛД₅₀ (1-я опытная группа) и 1/100 ЛД₅₀ (2-я опытная группа), Калипсо® – в дозах 1/10 ЛД₅₀ (3-я опытная группа) и 1/100 ЛД₅₀ (4-я опытная группа). Через три месяца установлено повышение количества общего билирубина на 60% ($P_{m-u}=0,021$) у крыс 1-й опытной группы и на 34% ($P_{m-u}=0,021$) – у крыс 2-й опытной группы. Повышение данного показателя на 16% по сравнению с показателем контрольной группы отмечали у крыс 3-й опытной группы. Уровень АЛТ повышен у крыс 1-й и 3-й опытных групп на 20% ($P_{m-u}=0,021$) и 16% ($P_{m-u}=0,047$) соответственно. У всех животных опытных групп регистрировали повышение уровня ГГТ. Содержание мочевины в сыворотке крови животных 1-й и 3-й опытных групп было увеличено на 24% ($P_{m-u}=0,012$) и 21% ($P_{m-u}=0,021$), показатель тимоловой пробы повышен в 1,9 раза ($P_{m-u}=0,012$) у крыс 1-й опытной группы, на 75% ($P_{m-u}=0,012$) – у крыс 3-й опытной группы и на 20% ($P_{m-u}=0,021$) – у крыс 2-й и 4-й опытных групп. Повышение глюкозы в сыворотке крови в среднем на 40% ($P_{m-u}=0,012$) отмечали у крыс 3-й и 4-й опытных групп. Количество ОБ снижено в 1-й и 2-й опытных группах на 13% ($P_{m-u}=0,012$) и 9% ($P_{m-u}=0,06$) соответственно, а также в 4-й опытной группе – на 4% ($P_{m-u}=0,012$). У крыс 3-й опытной группы отмечали повышение ОБ на 9% ($P_{m-u}=0,012$). У крыс 1-й и 2-й опытных групп регистрировали повышение количества альфа-2-глобулинов на 54% ($P_{m-u}=0,012$) и 49% ($P_{m-u}=0,012$) на фоне снижения уровня гамма-глобулинов на 23% ($P_{m-u}=0,021$) и 21% ($P_{m-u}=0,094$) соответственно. У крыс 3-й опытной группы на фоне достоверного снижения количества альбуминов на 14% отмечали повышение содержания бета-глобулинов на 12% ($P_{m-u}=0,012$) и гамма-глобулинов – на 20% ($P_{m-u}=0,047$). У крыс 4-й опытной группы регистрировали повышение количества альбуминов на 7% ($P_{m-u}=0,017$) и альфа-2-глобулинов – на 30% ($P_{m-u}=0,028$) на фоне снижения количества бета-глобулинов на 13% ($P_{m-u}=0,036$) и гамма-глобулинов – на 19% ($P_{m-u}=0,012$).

Конфидор экстра® при ежедневном введении крысам в дозах по 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ через три месяца приводит к снижению уровня кортизола на 20% ($P_{m-u}=0,012$) и 16% ($P_{m-u}=0,024$) соответственно. Калипсо® в дозах по 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ повышает этот показатель на 18% ($P_{m-u}=0,024$) и 56% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно.

2.8. Патоморфологическая диагностика острого и хронического отравлений животных Конфидором экстра® и Калипсо®

При остром летальном отравлении животных имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими препаратами быстро развивается трупное окоченение. Выделений из естественных отверстий тупа нет. При осмотре органов брюшной полости отмечается резкое увеличение объема желудка, вздутие петель кишечника, сосуды брыжейки переполнены кровью. Содержимое тощей

кишки жидкой консистенции, в зависимости от длительности постинтоксикационного периода встречаются участки с желтым содержимым (наличие желчи и препарата). Печень не увеличена, упругой консистенции, темно-вишневого цвета, без кровоизлияний. У кроликов и птиц отмечали переполнение желчного пузыря желчью темно-зеленого или оливкового цвета. Почки не увеличены, темно-вишневого цвета, капсула снимается легко. На разрезе дифференциация на зоны сохранена. При осмотре органов грудной полости установлено, что легкие в состоянии застойной гиперемии, предсердия и коронарные сосуды переполнены кровью темно-вишневого цвета. Наблюдали гиперемии головного мозга.

При патологоанатомическом исследовании птиц, интоксигированных Калипсо® в летальных дозах, отмечали алый цвет венозной крови. У птиц, интоксигированных летальными дозами Конфидора экстра® и Калипсо®, регистрировали увеличение зоба, расширение двенадцатиперстной кишки, переполнение кровью сосудов брыжейки, на слизистой оболочке железистого желудка – точечные кровоизлияния, коронарные сосуды переполнены кровью, видны мелкоочаговые кровоизлияния в миокарде. Отмечены случаи гидроперикардума, застойная гиперемия и дистрофия печени и почек, переполнение желчью желчного пузыря. При гистологическом исследовании печени и почек регистрировали признаки застойной гиперемии органов, гидропической (в печени) и зернистой дистрофии в печени, почках и миокарде, у птиц – признаки жировой дистрофии печени.

При морфологическом исследовании тканевого микрорайона печени у крыс, интоксигированных Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах по 1/5 ЛД₅₀, установлено изменение балочной структуры печеночных долек, выраженный полиморфизм паренхиматозных клеток, кариолизис, некроз гепатоцитов, особенно в центрлобулярных зонах. Признаки нарушения крово- и лимфообращения характеризовались расширением синусоидных капилляров, центральных вен и лимфатических щелей вблизи порталных трактов, появлением извилистости у центральных вен, вокруг которых отмечали разрастание соединительной ткани (рис.5, 6).

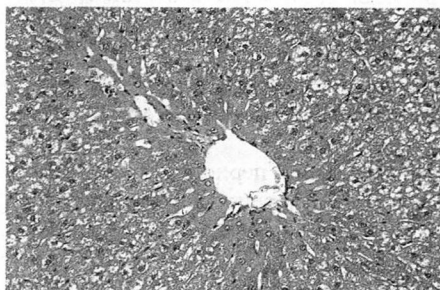


Рисунок 5 – Гидропическая дистрофия гепатоцитов через 7 сут. после введения КЭ® в дозе 100 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×300.

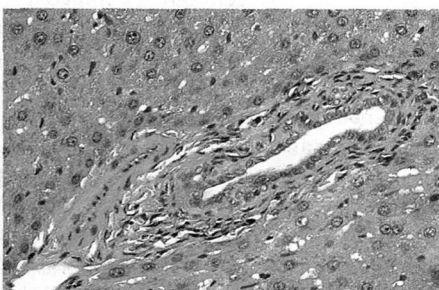


Рисунок 6 – Зернистая дистрофия, некробиоз и некроз гепатоцитов. Разрастание соединительной ткани вокруг сосудов через 7 сут. после введения Кл® в дозе 25 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×400.

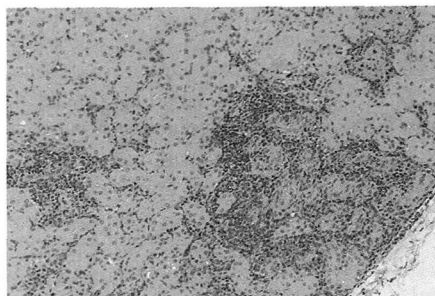


Рисунок 7 – Скопление клеток лимфоидного ряда в корковом веществе почек через один месяц после введения КЭ® в дозе 100 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×200.



Рисунок 9 – Разрастание соединительной ткани вокруг сосуда и бронха, утолщение межалвеолярных перегородок в легких через 1 месяц после введения КЭ® в дозе 100 мг/кг массы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×200.

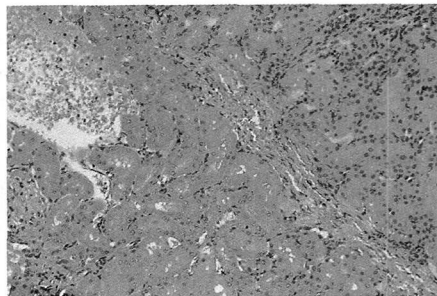


Рисунок 8 – Волокна соединительной ткани в почках крысы через 21 сутки после введения Кл® в дозе 25 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×200.

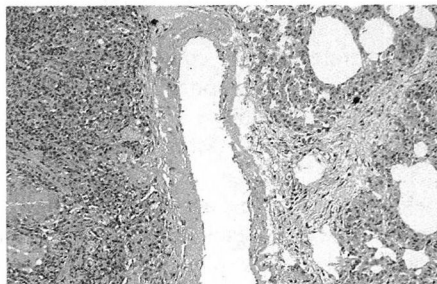


Рисунок 10 – Периваскулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация и разрастание волокнистой соединительной ткани в легких через 1 месяц после введения Кл® в дозе 25 мг/кг массы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×200.

В областях портальных трактов регистрировали появление мононуклеарных инфильтратов. Через месяц после однократного введения пестицидов полного восстановления печени не происходит. Для действия Конфидора экстра® более характерно развитие гидропической дистрофии гепатоцитов, для действия Калипсо® – зернистая дистрофия и пролиферация соединительнотканых элементов. В почках наблюдали переполнение кровью сосудов микроциркуляторного русла с выходом плазмы крови в интерстициальное пространство, дистрофические процессы в клетках эпителия канальцев почек, скопление лимфоидных клеток. Синтез соединительной ткани нарастал в динамике наблюдения (рис.7,8).

Гистологические изменения миокарда в ранний период интоксикации характеризуются паретическим расширением и переполнением сосудов среднего и крупного калибра. Вазотоксическое действие пестицидов проявляется вакуолизацией и десквамацией эпителиоцитов сосудов. В более поздние сроки постинтоксикационного периода отмечали волнообразную деформацию мышечных волокон миокарда как признак возможного нарушения ритма сердца. Дистрофические и некротические изменения кардиомиоцитов сохранялись через 30 суток, при этом более выраженный характер нарушений

отмечали при введении Калипсо®. В легких во все периоды исследования наблюдали лимфогистиоцитарные инфильтраты вокруг крупных сосудов и бронхов, а также разрастание волокнистой соединительной ткани (рис.9,10).

Через три месяца при хронической интоксикации Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах по 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ у крыс отмечали расширение слепой кишки, при интоксикации Калипсо® – накопление внутреннего жира. В печени регистрировали нарушение балочного строения, расширение синусоидных капилляров, гидropическую и зернистую дистрофию гепатоцитов, эритро- и плазмостаз и вакуолизацию эндотелия вен. При интоксикации Калипсо® гепатоциты находились в состоянии некроза и некробиоза, синусоидные капилляры были значительно расширены. В почках крыс, интоксигированных пестицидами, через 3 месяца регистрировали отек и гиперемию сосудистых клубочков, расширение сосудов и сладжи эритроцитов в них, кровоизлияния в интерстициальной ткани, некроз и некробиоз эпителиоцитов проксимальных канальцев, мононуклеарные инфильтраты вокруг почечной лоханки и крупных почечных сосудов, а также разрастание волокнистой соединительной ткани. Более выраженные изменения наблюдали в почках крыс, длительное время интоксигированных Калипсо® в дозе 1/100 ЛД₅₀. В миокарде регистрировали кровоизлияния, дистрофию кардиомиоцитов, а также участки волнообразного рисунка мышечных волокон.

2.9. Влияние унитиола, диазепама и их комбинации на биотрансформацию имидаклоприда и тиаклоприда в организме крыс

При внутрижелудочном введении крысам Конфидора экстра® в летальной дозе и внутрибрюшинном введении унитиола в дозе 0,025 г/кг массы концентрация имидаклоприда в крови снижается на 13,1% ($P=0,03$), при том же пути введения диазепама в дозе 0,5 мг/кг массы – на 34% ($P=0,02$), а при внутрибрюшинном введении унитиола и диазепама – на 72% ($P=0,001$). Концентрация имидаклоприда в печени также была значительно ниже при сочетанном введении унитиола с диазепамом (в 4 раза, $P=0,001$). При остром отравлении крыс Калипсо® количество токсического вещества в крови и печени при введении унитиола с диазепамом в 3 раза меньше ($P=0,001$), чем у животных контрольной группы.

Беспородным собакам 4-х-месячного возраста однократно перорально (с мясным фаршем) вводили Конфидор экстра® и Калипсо® в дозе 30 мг/кг массы (доза токсическая, но не летальная). Через 90 минут после введения пестицидов собакам 1-й опытной группы ($n=6$) на фоне проведения детоксикационных мероприятий (перорально – зоокарб в дозе 0,2 г/кг массы, внутривенно – раствор Рингера в дозе 20 мл/кг массы) дополнительно внутривенно вводили 5%-ный раствор унитиола в дозе 0,025 г/кг массы. Собакам 2-й опытной группы ($n=6$) дополнительно внутримышечно вводили 0,5%-ный раствор диазепама в дозе 0,5 мг/кг массы. Собакам 3-й опытной группы ($n=6$) дополнительно внутривенно вводили 5%-ный раствор унитиола в дозе 0,025 г/кг массы и

внутримышечно – 0,5%-ный раствор диазепам в дозе 0,5 мг/кг массы. Контролем служили интоксигированные животные без лечения (n=6). Остатки имидаклоприда и тиаклоприда определяли методом ВЭЖХ в крови животных через 90 и 180 минут после интоксикации пестицидами и введения лекарственных средств. Критерием эффективности лечения считали клинический статус животных и концентрацию пестицида в крови.

Симптомы острого отравления, регистрируемые через 40,0±8,4 минут после введения пестицидов, характеризовались периодическим тремором отдельных групп мышц грудных и тазовых конечностей. После внутривенного введения раствора Рингера и 5%-ного раствора унитиола в дозе 0,025 г/кг у всех собак отмечали рвотный рефлекс и периодический мелкий тремор мышц конечностей. У собак, которым на фоне внутривенного введения раствора Рингера, внутримышечно был введен 0,5%-ный раствор диазепам в дозе 0,5 мг/кг, мышечные сокращения были редкими, рвоту не наблюдали. У собак, которым одновременно на фоне внутривенного введения раствора Рингера был введен в вену 5%-ный раствор унитиола и внутримышечно 0,5%-ный раствор диазепам, наблюдали рвотный рефлекс, но тремора не отмечали.

Наибольшее снижение концентрации имидаклоприда и тиаклоприда через 180 минут после введения пестицидов наблюдали в крови животных, которым внутривенно одновременно вводили унитиол и диазепам (на 74,4% и 84,4% соответственно по сравнению с животными, которые не получали лечения). Степень выраженности клинических симптомов отравления снижалась при уменьшении остаточных количеств пестицидов в крови.

Атропина сульфат, прозерин, рометар усугубляют течение интоксикации имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими пестицидами, сокращая время развития клинической картины отравления.

2.10. Токсикологическая оценка кормов, обработанных Конфидором экстра®

На опытном поле Сибирского НИИ сельского хозяйства было проведено однократное сплошное наземное опрыскивание пшеницы яровой «Омская 36» раствором Конфидора Экстра® согласно норме расхода д.в. 0,05 кг/га и рабочей жидкости – 200 л/га. Обработку пестицидом проводили в фазу «цветение-начало молочной спелости». Первую партию пшеницы убрали через 20 суток после обработки культуры (согласно сроку ожидания, 1-я опытная группа), вторую – через 40 дней после обработки (2 опытная группа), контроль – пшеница, не обработанная пестицидом. Кроликам (n=15) пшеницу скармливали в течение 2-х месяцев.

При определении методом ТСХ имидаклоприда в пшенице, обработанной Конфидором экстра®, остатков не регистрировали, однако отмечали пятна с $R_f=0,7$ и $R_f=0,6$ (метаболиты имидаклоприда). Кормление пшеницей (срок ожидания 20 дней) кроликов 1-й опытной группы приводит к накоплению пестицида в крови животных.

Наименьший прирост массы отмечали у животных контрольной группы (29,8%, $P<0,05$), наибольший – у кроликов 2-й (50%, $P<0,05$) и 1-й (40%, $P<0,05$) опытных групп. На вскрытии у кроликов опытных групп регистрировали отложение внутреннего жира, в печени – признаки дистрофии.

В крови кроликов 1-й опытной группы отмечали нейтрофилию, базофилию, лимфопению, моноцитопению и эозинофилию. В крови кроликов 2-й опытной группы установлено повышение количества гемоглобина на 30% ($P_{m-u}=0,009$), эритроцитов – на 31% ($P_{m-u}=0,009$) и гематокрита – на 38% ($P_{m-u}=0,009$) на фоне лимфоцитоза, моноцитоза и базофилии. На развитие тромбоцитопатии у кроликов 1-й и 2-й опытных групп указывают сниженные показатели количества тромбоцитов в 1,9 раза ($P_{m-u}=0,009$) и 1,7 раза ($P_{m-u}=0,009$), а также тромбокрит – на 30% ($P_{m-u}=0,009$) и 39% ($P_{m-u}=0,008$) соответственно. В сыворотке крови кроликов 1-й опытной группы регистрировали повышение креатинина на 40,1% ($P_{m-u}=0,012$), альфа-2-глобулинов – на 35,4% ($P_{m-u}=0,012$), снижение ОБ – на 4% ($P_{m-u}=0,012$), количества гамма-глобулинов – в 2 раза ($P_{m-u}=0,012$); 2-й опытной группы – повышение лактата на 30% ($P_{m-u}=0,012$), ОБ – на 7,4% ($P_{m-u}=0,009$), креатинина – на 52,4% ($P_{m-u}=0,012$), снижение альбуминов и глобулинов на 14% ($P_{m-u}=0,012$) и 8,9% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно.

2.11. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя кроликов при включении в рацион кормов, обработанных Конфидором экстра®

Результаты исследования выхода продуктов убоя указывают на повышение процента убойного выхода мяса на 54% в 1-й и 66,7% – во 2-й опытных группах. У животных 1-й и 2-й опытных групп регистрировали достоверное увеличение массы печени на 13,8% и 14,8% соответственно, а также почек на 29,5% – в 1-й и 33,6% – во 2-й опытных группах. По состоянию упитанности тушки кроликов контрольной группы соответствовали второй категории, опытных групп – первой, за счет отложения подкожного и внутреннего жира. При проведении пробы варкой получили прозрачный и ароматный бульон. Концентрация водородных ионов в вытяжках из мышечной ткани опытных кроликов составляла $5,67 \pm 0,01$, контрольных – $5,89 \pm 0,03$, что свидетельствует о доброкачественности мяса. Продукты первичного распада белков в бульоне по реакции с серноокислой медью отсутствовали. Во всех группах отмечали высокую активность пероксидазы мышечной ткани. Бактериальная обсемененность мышечной ткани кроликов контрольной и опытных групп была характерна для свежего мяса, при исследовании мазков-отпечатков мяса в поле зрения микроскопа были видны единичные кокки и палочковидные бактерии.

2.12. Влияние дезинсекции имидаклопридом содержащим препаратом на клинический статус и биохимические показатели сыворотки крови свиней

Для определения влияния препарата Квик Байт® (имидаклоприд, 10%; ВГ), используемого для дезинсекции животноводческих помещений, на организм свиней проводили обработку одного из цехов для содержания хряков (опытная группа) согласно инструкции по применению. Обработку помещений проводили в присутствии животных, избегая попадания пестицида на кожу и кормушки. Контролем служили животные того же возраста из цеха, в котором дезинсекция не проводилась. Критериями оценки являлись клинический статус, морфологические и биохимические показатели крови через 5 суток после обработки помещений. В этот же срок определяли остаточные количества имидаклоприда в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. За период наблюдений изменений в поведении свиней не обнаружено.

В крови свиней опытной группы отмечали тенденцию к повышению количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов на фоне снижения количества эозинофилов и лимфоцитов. Количество базофилов было повышено на 50% ($P=0,004$). В сыворотке крови этих животных регистрировали повышение количества альбуминов на 4% ($P_{m-u}=0,04$), снижение концентрации глюкозы на 40% ($P_{m-u}=0,04$). Остатки имидаклоприда в крови животных не отмечали.

2.13. Испытание детоксицирующих свойств озон/NO-содержащей газовой смеси в сочетании с низкочастотным ультразвуком при обработке воды, содержащей остатки Конфидора экстра® и Калипсо®

Опыты проводили на моделях *in vitro* и *in vivo*. Экспериментальными животными являлись нелинейные белые крысы-самцы и петушки породы белый леггорн.

В первой серии опыта стандартные растворы пестицидов в течение 40 минут подвергали барбатированию озон/NO-содержащей газовой смесью с использованием аппарата для газовой озон/NO-терапии «Озотрон» (ООО «НПП «Метромед», Россия). Во второй серии опыта стандартные растворы Конфидора экстра® и Калипсо® подвергали озвучиванию низкочастотным ультразвуком, генерируемым аппаратом ультразвуковым хирургическим «Кавитон» (ООО «НПП «Метромед», Россия). В третьей серии опыта стандартные растворы пестицидов подвергали совместному воздействию физико-химических факторов (барбатирование озон/NO-содержащей газовой смесью и озвучивание низкочастотным ультразвуком). Стандартные растворы пестицидов без воздействия физико-химических факторов служили контролем.

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о снижении концентрации имидаклоприда после воздействия озон/NO-содержащей газовой смеси на 10%, тиаклоприда – на 40% ($P<0,05$).

Озвучивание низкочастотным ультразвуком практически не изменяло концентрации исходных растворов. Резкое снижение концентрации имидаклоприда на 70% и тиаклоприда на 50% наблюдали при сочетанном воздействии физических и химических факторов.

Для изучения детоксицирующего влияния озон/NO-технологий на растворы Конфидора экстра® и Калипсо® проводили исследования на 48 белых беспородных крысах-самцах с массой 230-260 г, которым внутрижелудочно однократно были введены летальные дозы пестицидов, предварительно обработанные в течение 40 минут озон/NO-содержащей газовой смесью (опыт 1), низкочастотным ультразвуком (опыт 2) и озон/NO-содержащей газовой смесью в сочетании с низкочастотным ультразвуком (опыт 3). Контролем служили животные, интоксигированные летальными дозами пестицидов без обработки физико-химическими факторами. Эффективность проводимых мероприятий оценивали по динамике клинической картины отравления животных и показателю их выживаемости.

Через сутки после введения раствора Конфидора экстра® в дозе 1000 мг/кг массы, предварительно обработанного озон/NO- газовой смесью, регистрировали 50% выживших животных. В группе крыс, интоксигированных раствором Калипсо® в дозе 300 мг/кг массы, предварительно обработанным по той же схеме, процент выживаемости составил 67%. Барбатирование низкочастотным ультразвуком растворов пестицидов не оказывало влияния на показатель выживаемости животных. Максимальный процент выживаемости крыс, интоксигированных летальными дозами Конфидора экстра® и Калипсо®, отмечали в 3-й опытной группе (83%, $P < 0,05$).

Эксперимент по изучению влияния растворов Конфидора экстра® и Калипсо® после обработки озон/NO-содержащей газовой смесью на организм птиц проводили также на петушках породы белый леггорн в возрасте 30 суток, содержащихся в условиях вивария и разделенных на 6 групп по 5 голов в каждой. Для кормления применяли комбикорм для птиц, доступ к корму и воде был свободный. Для поения птицы использовали водные растворы Конфидора экстра® и Калипсо®, которые готовили из расчета 5 мг/1000 мл и 1,3 мг/1000 мл воды соответственно. Приготовление водных растворов пестицидов и обработку их озон/NO- газовой смесью проводили ежедневно в течение 14 суток. Эффективность детоксицирующих свойств химических факторов оценивали по клиническому статусу птиц, показателю выживаемости, патоморфологическим изменениям в органах детоксикации (печень, почки). В печени и мышечной ткани определяли остатки имидаклоприда и тиаклоприда методом ВЭЖХ.

Выживаемость во всех группах составила 100%. Обнаружение остатков имидаклоприда и тиаклоприда в печени и мышечной ткани опытных групп указывает на кумуляцию пестицидов при ежедневном поступлении их с водой. Воздействие озон/NO-содержащей газовой смеси в концентрации 1,0-1,5 мг/л в течение 40 минут на растворы пестицидов снижает количество имидаклоприда в печени в 9 раз ($P < 0,05$), тиаклоприда – более, чем в 3 раза

($P < 0,05$). В мышечной ткани количество имидаклоприда и тиаклоприда было ниже порога чувствительности данного метода.

При патоморфологическом исследовании птиц, потреблявших водные растворы пестицидов, регистрировали признаки жировой дистрофии печени. У петушков, получавших водные растворы пестицидов, предварительно обработанные в течение 40 минут озон/NO-содержащей газовой смесью, изменения в печени носили менее выраженный характер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неоникотиноиды являются современной группой инсектицидов, активно внедряемых в практическую ветеринарию и животноводство. Результаты исследований указывают на потенциальную опасность имидаклоприд- и тиаклопридсодержащих препаратов для животных, которая обусловлена их репродуктивной токсичностью.

Являясь агонистами никотиновых рецепторов, неоникотиноиды оказывают нейротоксическое действие на организм животных. В токсикодинамике преобладают центральный холинергический и периферический никотиноподобный синдромы. На основании установленного патогенеза разработаны принципы диагностики, лечения и профилактики отравлений животных. Предложенные нами методы определения остаточных количеств имидаклоприда и тиаклоприда в биологических объектах расширяют возможности дифференциальной диагностики отравлений животных неоникотиноидами. Установленные особенности распределения и накопления имидаклоприда и тиаклоприда, сроки выведения их из организма животных необходимо учитывать при организации диагностических, лечебно-профилактических и ветеринарно-санитарных мероприятий.

Анализ результатов проведенных исследований подтверждает необходимость контроля остаточных количеств имидаклоприд- и тиаклопридсодержащих пестицидов в кормах и продуктах питания животного происхождения, а также дальнейших испытаний озон/NO-содержащей газовой смеси с целью оптимизации технологических схем, режимов и параметров детоксикации воды и кормов в условиях производства.

ВЫВОДЫ

1. Неоникотиноиды представляют новую группу инсектицидных препаратов, широко используемых в растениеводстве и интенсивно внедряемых в практику ветеринарной медицины. Клинико-токсикологические параметры пестицидов свидетельствуют о более высокой токсичности циансодержащих неоникотиноидов. Имидаклоприд- и тиаклопридсодержащие препараты обладают отдаленным неблагоприятным действием и представляют потенциальную опасность для животных при нарушении регламентов применения. Разработанные нами методы определения остаточных количеств

неоникотиноидов в органах и тканях животных направлены на совершенствование дифференциальной диагностики, лечения и профилактики отравлений.

2. Конфидор экстра® относится к среднетоксичным соединениям с $LD_{50}=536$ мг/кг, $LD_0=50$ мг/кг, $LD_{16}=44$ мг/кг, $LD_{84}=1321$ мг/кг, $LD_{100}=1627$ мг/кг. Калипсо® относится к высокотоксичным соединениям с $LD_{50}=128$ мг/кг, $LD_0=70$ мг/кг, $LD_{16}=86$ мг/кг, $LD_{84}=185$ мг/кг, $LD_{100}=230$ мг/кг. Конфидор экстра® и Калипсо® не обладают материальной кумуляцией (коэффициент кумуляции более 5), раздражающим, алергизирующим и сенсибилизирующим действием.

3. Иммуноотропное действие Конфидора экстра® и Калипсо® при остром отравлении в дозах по $1/10 LD_{50}$ характеризуется угнетением неспецифической резистентности (снижение показателей ФАЛ, НСТ-теста и накопление ЦИК у животных), увеличением пролиферативной активности лимфоцитов (повышение РБТЛ), АОК и активности миелопероксидазы. Хроническое отравление крыс Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах $1/10$ и $1/100 LD_{50}$ через три месяца приводит к угнетению факторов неспецифической резистентности.

4. Имидаклоприд и тиаклоприд проникают через гематоплацентарный барьер и накапливаются в плаценте, тканях эмбрионов и плодов, а также в органах репродукции самок и самцов. Конфидор экстра® и Калипсо® не влияют на фертильность крыс.

Пероральное поступление Конфидора Экстра® и Калипсо® в организм самок в дозах $1/10 LD_{50}$ четырехкратно в критические периоды беременности и $1/100 LD_{50}$ на протяжении всей беременности увеличивает число самопроизвольных аборт и процент общей эмбриональной смертности. Регистрируемые случаи анемии и желтушности плодов, подкожные гематомы, кровоизлияния в оболочки головного мозга, анофтальм, кальцификаты кожи, кифоз, моно- и паралигии свидетельствуют о тератогенном действии пестицидов. Пероральное введение Конфидора экстра® и Калипсо® в дозе $1/100 LD_{50}$ самкам крыс в течение всей беременности приводит к снижению жизнеспособности потомства, оставанию в росте, формированию «синдрома эмоциональной тревожности» у крысят.

5. Конфидор экстра® и Калипсо® быстро всасываются из желудка и кишечника и, распространяясь по организму с кровью и лимфой, накапливаются в волосяном и перьевом покровах, крови, селезенке, легких, головном мозге, мышцах, печени, сердце, почках, брыжеечных лимфатических узлах, семенниках. Преимущественное выведение имидаклоприда происходит через 3 суток, в крови и печени его остаточные количества регистрируются через 30 суток. Выведение тиаклоприда происходит в течение 7 суток.

При подозрении на отравление животных и птиц имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими препаратами для химико-токсикологического анализа кроме содержимого желудка, печени, почек, мышечной ткани целесообразно отправлять пробы селезенки, волосяного (перьевого) покрова.

6. Острое отравление животных неоникотиноидами характеризуется развитием центрального холинергического, экстрапирамидного, периферического никотиноподобного, периферического адренергического синдромов. В клинической картине хронической интоксикации Конфидором экстра® и Калипсо® в дозах 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ преобладает тревожно-депрессивный синдром.

7. Острое отравление Конфидором экстра® и Калипсо® через сутки характеризуется нейтрофилией, лимфоцитопенией и моноцитопенией на фоне лейкопении, через семь суток – относительным лимфоцитозом, снижением количества гемоглобина и эритроцитов.

Через сутки после острого отравления крыс Конфидором экстра® в дозе 1/10 ЛД₅₀ отмечается: повышение уровней общего билирубина до 16,5 (15,6;17,1) против 9,3 (8,7;9,8) мкмоль/л, $P=0,012$; щелочной фосфатазы – до 565,0 (531,0; 574,0) против 280,8 (261,0;318,0) Е/л, $P=0,012$; АЛТ – до 79,7 (72,9;84,8) против 49,8 (46,7;52,3) Е/л, $P=0,012$; ГГТ – до 3,8 (3,0;4,2) против 1,9 (1,1;2,0) Е/л, $P=0,036$; показателя тимоловой пробы – до 2,8 (2,3;3,3) против 1,4 (1,4;1,6) Ед, $P=0,012$; мочевины – до 5,9 (5,7; 5,8) против 4,6 (4,3;4,9) ммоль/л, $P=0,012$. При остром отравлении Калипсо® в дозе 1/10 ЛД₅₀ у крыс происходит повышение уровней общего билирубина до 18,8 (17,6;18,8) против 9,5 (8,9;10,2) мкмоль/л, $P=0,012$; АЛТ – до 89,1 (82,9;94,8) против 74,9 (68,1;76,7) Е/л, $P=0,012$; ГГТ – до 4,2 (4,1;4,2) против 1,8 (1,6;2,4) Е/л, $P=0,012$; показателя тимоловой пробы – до 3,7 (2,4; 3,8) против 0,7 (0,3;0,7) Е/л, $P=0,012$; общего белка – до 84,0 (82,0; 84,0) против 72,0 (64,0;78,0) г/л, $P=0,012$; креатинина – до 67,0 (65,0; 69,0) против 59,0 (57,0;59,0) мкмоль/л, $P=0,012$; мочевины – до 6,7 (6,7; 6,8) против 4,7 (4,3;4,9) ммоль/л. Через семь суток после интоксикации высокими относительно контроля остаются показатели общего билирубина, АЛТ, ГГТ, мочевины, креатинина и тимоловой пробы.

8. Хроническое отравление неоникотиноидами сопровождается развитием анемии и лейкопении. При этом повышаются активность сывороточных трансаминаз и уровень общего билирубина. Конфидор экстра® при ежедневном введении крысам в дозах по 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ через три месяца приводит к снижению уровня кортизола на 20% ($P_{m-u}=0,012$) и 16% ($P_{m-u}=0,024$) соответственно. Калипсо® в дозах по 1/10 и 1/100 ЛД₅₀ повышает этот показатель на 18% ($P_{m-u}=0,024$) и 56% ($P_{m-u}=0,012$) соответственно.

9. Патоморфологическая картина при отравлении имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими пестицидами характеризуется преимущественно сосудистыми расстройствами и дистрофическими изменениями в паренхиматозных органах. Общим признаком отравления является метеоризм с расширением желудка и слепой кишки. Для отравления Конфидором экстра® характерно развитие гидропической дистрофии гепато-, нефро- и кардиомиоцитов; для отравления Калипсо® – развитие зернистой дистрофии, инфильтрация мононуклеарами и разрастание соединительной ткани в органах. У птиц препараты вызывают развитие жировой дистрофии печени и признаки гидроперикардита.

10. Сочетанное введение унитиола и диазепам повышает показатель выживаемости крыс до 75-80%. Однократное внутривенное введение унитиола в дозе 0,025 г/кг и диазепам в дозе 0,5 мг/кг массы снижает концентрацию имидаклоприда и тиаклоприда в печени в 3-4 раза ($P<0,05$). Атропина сульфат, прозерин, рометар усугубляют течение интоксикации имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими пестицидами, сокращая время развития клинической картины отравления.

11. Обработка водных растворов Конфидора экстра® и Калипсо® озон/NO-содержащей газовой смесью в сочетании с озвучиванием низкочастотным ультразвуком в течение 40 минут вызывает снижение концентрации имидаклоприда на 70% ($P<0,05$) и тиаклоприда – на 50% ($P<0,05$), что способствует повышению выживаемости крыс до 75-80%, а также сглаживанию токсических эффектов пестицидов при поении птиц в течение двух недель растворами Конфидора экстра® и Калипсо®, предварительно обработанными озон/NO-содержащей газовой смесью в сочетании с озвучиванием низкочастотным ультразвуком.

12. Кормление кроликов в течение двух месяцев пшеницей, обработанной Конфидором экстра® из расчета 0,05 кг/га (расход рабочей жидкости 200 л/га) и убранной через 20 и 40 суток, приводит к повышению массы тела относительно контроля. Мясо имеет удовлетворительные органолептические показатели.

Скармливание кроликам в течение двух месяцев пшеницы, убранной через 20 суток после обработки, вызывает угнетение гемопоэза, нарушение функционального состояния печени и почек (снижение количества общего белка до 49,4 (46,7; 49,5) против 51,5 (51,3; 52,1) г/л, $P=0,016$; повышение уровня креатинина до 100,0 (98,9; 103,0) против 70,6 (70,4; 70,8) мкмоль/л, $P=0,012$). Аналогичное по длительности скармливание кроликам пшеницы, убранной через 40 суток после обработки, способствует повышению количества гемоглобина до 120 (117,0; 126,0) против 92 (91,0; 94,0) г/л, $P=0,009$; эритроцитов – до 6,3 (6,2; 6,6) против 4,8 (4,7; 4,9) $\times 10^{12}$ /л, $P=0,009$; лимфоцитов – до 25,8 (22,6; 26,3) против 10,2 (9,8; 11,4) $\times 10^9$ /л, $P=0,009$; моноцитов – до 16,4 (11,6; 18,7) против 9,8 (9,6; 10,2) %, $P=0,036$; базофилов – до 1,7 (1,1; 1,8) против 0,2 (0,1; 0,2) %, $P=0,012$; лактата – до 12,01 (12,0; 12,02) против 9,2 (8,8; 10,2) ммоль/л; креатинина – до 107,6 (105,0; 108,7) против 70,6 (70,4; 70,8) мкмоль/л в контрольной группе.

13. Однократная инсектицидная обработка помещений Квик Байтом® в соответствии с нормой расхода препарата вызывает у свиней повышение относительного содержания базофилов до 0,3 (0,3; 0,5) против 0,2 (0,1; 0,2) %, $P=0,04$; альбуминов – до 40,5 (39,4; 42,3) против 38,6 (35,4; 39,2) г/л, $P=0,04$ и снижение глюкозы – до 2,9 (2,7; 3,0) против 4,8 (4,0; 5,2) ммоль/л в группе контроля.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При подозрении на отравление неоникотиноидами для химико-токсикологического анализа дополнительно к пробам внутренних органов и мышечной ткани рекомендуем отправлять пробы волосяного (шерстного, перьевого) покрова и селезенки. Необходимо учитывать, что преимущественное выведение имидаклоприда и тиаклоприда из организма животных и птиц происходит через 3-7 суток после интоксикации.

2. Разработанные методы определения имидаклоприда и тиаклоприда в органах и тканях животных рекомендуем использовать для диагностики отравлений и контроля за содержанием остаточных количеств пестицидов в продукции животного происхождения.

3. Эмбриотоксические и тератогенные эффекты имидаклоприда и тиаклоприда рекомендуем учитывать при противопаразитарной обработке животных препаратами данной группы, а также при интенсивном использовании неоникотиноидов в растениеводстве.

4. Установленный в эксперименте рост числа самопроизвольных аборт при интоксикации имидаклоприд- и тиаклопридсодержащими препаратами требует исключения контакта беременных самок с неоникотиноидами.

5. При отравлении неоникотиноидами наряду с методами детоксикационной терапии в качестве средств патогенетической терапии рекомендуем вводить внутривенно 5%-ный раствор унитиола в дозе 0,025 г/кг и 0,5%-ный раствор диазепама в дозе 0,5 мг/кг.

6. Результаты исследований, подтверждающие высокую детоксицирующую активность озон/NO-содержащей газовой смеси в сочетании с низкочастотным ультразвуком при обработке воды, содержащей остатки имидаклоприда и тиаклоприда, указывают на перспективы внедрения данного метода в практическую ветеринарию.

7. Результаты научных исследований вошли в методические рекомендации «Диагностика, лечение и профилактика отравлений животных неоникотиноидами», предназначенные для специалистов ветеринарной службы, одобренные на секции «Патология, фармакология и терапия» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 08.07.2013 г.).

8. Материалы диссертационной работы вошли в коллективные монографии «Наука сегодня: теория, практика, инновации» (Ростов-на-Дону, 2014) и «Актуальные вопросы медицинских морфологических дисциплин» (Новосибирск, 2014).

9. Основные положения диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства, а также кафедры анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А.Столыпина.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации
Статьи в журналах, рекомендованных ВАК на соискание ученой степени
доктора наук**

1. Герунова Л.К. Гематотоксическое действие пестицидов на теплокровных животных / Л.К. Герунова, В.И. Околелов, Т.В. Бойко // Сельскохозяйственная биология, 2003.- №4. – С.75-78.
2. Бойко Т.В. Иммунотропное действие некоторых пестицидов / Т.В. Бойко, Ю.В. Редькин, А.Ю. Козина, Т.В. Герунов // Российский иммунологический журнал. Санкт-Петербург. – 2008. – Т.2 (11), №2-3. – С. 201.
3. Бойко Т.В. Гематологические и иммунологические показатели крыс при экспериментальном пестицидном токсикозе / Т.В. Бойко, Ю.В. Редькин, А.Ю. Козина, Т.В. Герунов // Сибирский медицинский журнал Томск. Т23. – №3, 2008 (выпуск 1). – С. 108-109.
4. Бойко Т.В. Роль пестицидов в развитии иммунопатологии и отдаленных эффектов / Т.В. Бойко, Ю.В. Редькин, А.Ю. Козина, Т.В. Герунов // Аллергология и иммунология. – 2008, Т.9. – № 3. – С. 368-369.
5. Бойко Т.В. Диагностика отравлений животных неоникотиноидами / Т.В. Бойко // Вопросы нормативно – правового регулирования в ветеринарии. – СПб. – 2010. – №4.-С.151 – 155.
6. Бойко Т.В. Влияние кормов, обработанных неоникотиноидами на морфологические показатели крови кроликов / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова, Ю.В. Редькин // Ветеринарная медицина, 2011 – № 2 С.39-42.
7. Герунова Л.К. Биохимические изменения в сыворотке крови кроликов при введении в рацион кормов, обработанных Конфидором Экстра® / Л.К. Герунова, Т.В. Бойко, В.Д. Конвай // Вестник Уральской медицинской академической науки. Екатеринбург, 2011 №3/1. С.22-23.
8. Бойко Т.В. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя кроликов при включении в рацион пшеницы, обработанной Конфидором Экстра® / Т.В. Бойко, С.В. Чернигова // Ветеринарный врач. – Казань. -2011.-С.56 – 59.
9. Герунова Л.К. Патоморфологические изменения и динамика накопления остатков имидаклоприда в печени крыс при экспериментальном отравлении / Л.К. Герунова, В.И. Герунов, Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова // Аграрный вестник Урала, 2012, № 5. – С.32-34.
10. Бойко Т.В. Сравнительная характеристика морфологических изменений в печени крыс при остром отравлении Конфидором Экстра и Калипсо / Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – №2. – 2012. – С.52-56.
11. Федоров Ю.Н. Иммунотоксические эффекты нейротропных пестицидов / Ю.Н. Федоров, Т.В. Герунов, Т.В. Бойко // Российский иммунологический журнал. – том 6(14), №3(1). – 2012. – С.154-157.
12. Бойко Т.В. Сравнительная характеристика морфологических изменений в почках крыс при остром отравлении имида и тиаклопридом / Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова, В.И. Герунов // Ветеринарная патология. – № 4. – 2012. – С.32-36.
13. Бойко Т.В. Клинико – морфологические проявления острого отравления птиц неоникотиноидами / Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова // Вестник ветеринарии № 63 (4/2012). С. 104 – 106.
14. Бойко Т.В. Определение остаточных количеств имидаклоприда и тиаклоприда в биологических объектах методом высокочувствительной жидкостной хроматографии / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов, М.Н. Гонохова, Е.А. Лукаш, Д.С. Гончаров, И.С. Погодин / Токсикологический вестник, 2013. – № 4. –С.34-37.
15. Бойко Т.В. Токсикокинетические особенности неоникотиноида Конфидора экстра® в организме крыс / Т.В. Бойко // Вестник НГАУ №1 (26)/2013.-С.74-79.
16. Бойко Т.В. Реальная и потенциальная опасность неоникотиноидов / Т.В. Бойко // Вестник ветеринарии, Ставрополь №2 (65). – 2013. С. 69-72.

17. Гонохова М.Н., Бойко Т.В., Ельцова А.А. Сравнительная цитоморфологическая характеристика селезенки крыс при воздействии пестицидов // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6; URL: www.science-education.ru/113-11074 (дата обращения: 10.12.2013).
18. Бойко Т.В., Герунов Т.В., Гонохова М.Н. Патоморфологические изменения в тимусе крыс при остром отравлении имидаклопридом и циперметрином / Т.В. Бойко, Т.В., Герунов, М.Н. Гонохова // Ветеринарная патология №4 (46). – 2013. С. 69-72.
19. Герунова Л.К., Педдер В.В., Бойко Т.В., Гонохова М.Н., Герунов В.И., Ельцова А.А., Набока М.В. Структурные изменения в печени птиц при воздействии неоникотиноидов после обработки растворов озон/НО-содержащей газовой смесью // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/116-12868> (дата обращения: 22.04.2014).

Патенты

20. Патент 2467323 Российской Федерации, МПК G01N 30/90. Способ определения имидаклоприда в биологических объектах с использованием тонкослойной хроматографии. / Бойко Т.В., Герунова Л.К.; патентообладатель ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет. – № 2011125427/28, заявл. 20.06.2011; опубл. 20.11.2012, бюл. № 32 – 6 с.
21. Патент 24684458 Российской Федерации, МПК G01N 30/90. Способ определения имидаклоприда в биологических объектах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. / Бойко Т.В., Герунова Л.К., Урусова Т.В.; патентообладатель ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет. – № 2011146011/28(068876), заявл. 11.11.2011; опубл. 10.06.2013, бюл. № 16 – 6 с.
22. Патент 2505298 Российской Федерации, МПК G01N 30/90. Способ лечения острых отравлений неоникотиноидными инсектицидами / Бойко Т.В., Герунова Л.К., Гонохова М.Н., Герунов Т.В., Околелов В.И., Конвай В.Д., Лукша Е.А., Гончаров Д.С., Погодин И.С.; патентообладатель ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет. – № 2012153577/15, заявл. 11.12.2012; опубл. 27.01.2013, бюл. № 3 – 6 с.

Монографии

23. Наука сегодня: теория, практика, инновации: коллективная монография / Под научной редакцией кандидата педагогических наук, доцента О.П. Чигишевой. В 9-ти томах. Том 3. – Ростов-на-Дону: Издательство Международного исследовательского центра «Научное сотрудничество», 2014. – 243 с. (С. 209-238).
24. Актуальные вопросы медицинских морфологических дисциплин: монография / под ред. В.П. Волкова. Новосибирск: Изд. «СибАК», 2014. – 136 с. (81-104).

Учебное пособие

25. Герунова Л.К., Бойко Т.В. Токсикология пестицидов: учебное пособие. – М.: Издательский дом «НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА». 2013. – 200 с.

Методические рекомендации

26. Бойко Т.В. Диагностика, лечение и профилактика отравлений животных неоникотиноидами / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова, В.И. Герунов, М.Н. Гонохова, С.В. Шабунин, С.М. Сулейманов, В.И. Беляев, Г.А. Востроилова, Т.И. Ермакова // Методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы. – Омск: Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2013. – 24 с.

Статьи, опубликованные в материалах конференций и съездов

27. Герунова Л.К. Токсиканты окружающей среды и репродуктивная функция животных / Л.К. Герунова, Т.В. Бойко, Н.В. Стрельчик, Н.Б. Довгань, А.Ю. Игнатова, О.Е. Бдюхина // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., посв. 35-летию ВНИВИ ПФИТ. – Воронеж, 2005. – С.60-65.

28. Герунова Л.К. Пестициды - кардиотропные поллютанты окружающей среды / Л.К. Герунова, В.И. Герунов, Т.В. Бойко, А.Ю. Козина // Материалы международной научно-практической конференции «Проблемы и пути решения продовольственной безопасности приграничных областей Казахстана и России» - Бишкек, 2009 – С.99-101.
29. Бойко Т.В. Определение параметров токсичности Конфидора / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова // Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной памяти выдающегося организатора Сибирской ветеринарной науки А.В. Копырина. – Омск, 2010. – С.236-238.
30. Герунова Л.К. Механизм действия и перспективы применения неоникотиноидов – инсектоакарицидов нового поколения / Л.К. Герунова, Т.В. Бойко // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность» – Казань, 2010. – С.36-38.
31. Бойко Т.В. Оценка аллергизирующих свойств Конфидора® / Т.В. Бойко // Актуальные вопросы ветеринарной медицины сибиря: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 70-летию со дня основания Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (п. Краснообск, 28-29 октября 2010г.). – Краснообск. – 2010. – С. 307-313.
32. Герунова Л.К. Хроматографическое определение пестицидов и его роль в диагностике отравлений животных / Герунова Л.К., Бойко Т.В. // Материалы III съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» – СПб, Изд-во СПбГАВМ, 2011 – С. 118-120.
33. Бойко Т.В. Клинический статус и гематологические показатели кроликов при включении в рацион пшеницы, обработанной Конфидором Экстра® / Т.В. Бойко // Тр. Московского междунар. ветеринарного конгресса. – М., 2011г. – С.158. – 159.
34. Бойко Т.В. Определение параметров токсичности Калипсо® / Т.В. Бойко // Материалы III съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» – СПб. 2011. – С. 47-49.
35. Герунова Л.К. Репродуктивная токсичность пестицидов / Л.К. Герунова, Т.В. Бойко, Н.Б. Довгань, Н.В. Стрельчик, Е.В. Семеряк, А.В. Сухов // Материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск: Амфора, 2011, С.247-249.
36. Гонохова М.Н. Динамика морфологических изменений органов детоксикации при остром отравлении Конфидором Экстра / М.Н. Гонохова, Т.В. Бойко, Т.В. Семенова, О.Н. Бурова // Аграрная наука – основа успешного развития АПК и сохранения экосистем // Материалы междунар. науч.-практ. конф. 31 января-2 февраля 2012 г., Т.2, Волгоград, 2012., С.160-162.
37. Бойко Т.В. Безопасность продуктов убоя кроликов при включении в рацион пшеницы, обработанной конфидором экстра / Т.В. Бойко, С.В. Чернигова, Н.С. Двухреченская // Аграрная наука-основа успешного развития АПК и сохранения экосистем // Материалы междунар. науч.-практ. конф. 31 января-2 февраля 2012 г., Т2, Волгоград, 2012., С.215-217.
38. Бойко Т.В. Накопление имидаклоприда в органах крыс при остром отравлении в условиях эксперимента / Т.В. Бойко, Т.В. Урусова, Е.В. Темерова // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии / Материалы II Междунар. конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященного 80-летию Заслуженного деятеля науки РФ, профессора Соколова В.Д. Санкт-Петербург, 2012. – С. 55-57.
39. Бойко Т.В. Эмбриотоксическое и тератогенное действие неоникотиноида Калипсо® при экспериментальной интоксикации самок крыс / Т.В. Бойко // Новейшие достижения ветеринарной фармакологии : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию юбилею патриарха отечественной фармакологии Рабиновичу М.И. – Троицк, 2012. – С. 21-24.

40. Бойко Т.В. Динамика накопления имидаклоприда во внутренних органах и мышечной ткани крыс при остром отравлении Конфидором экстр[®]/ Т.В. Бойко, А.О. Дремнина // Всероссийская научно-практич. конф. «Молодежная наука и АПК: проблемы и перспективы» 28-29 ноября 2012 г. – С.48-51.
41. Бойко Т.В. Клинические и патоморфологические признаки острого отравления кур имидаклопридом / Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова, А.А. Ельцова // Динамика систем, механизмов и машин: материалы VIII Междунар. научно-технич. конф.(Омск, 13-15 ноября 2012) в 5 кн. – Омск: изд-во ОмГТУ, 2012. – С.97 – 99.
42. Бойко Т.В. Морфофункциональное состояние надпочечников крыс при хронической интоксикации имидаклопридом и тиаклопридом / Т.В. Бойко, В.И.Герунов, М.Н. Гонохова // Материалы Междунар. науч.-практич. конф. «Современные технологии в ветеринарии и зоотехнии. Творческое наследие В.К.Бириха (к 110-летию со дня рождения)» (3-4 апреля 2013). – Пермь. – 2013. – С.60-63.
43. Бойко Т.В. Морфобиохимические изменения крови крыс при хроническом отравлении неоникотиноидами / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова // Материалы Междунар. науч.-практич. конф. (часть 1) «Инновационные технологии в ветеринарии, биологии и экологии, 13 марта 2-13 г. – Троицк: УГАВМ, 2013. – С.15-19.
44. Бойко Т.В. Морфофункциональные изменения в организме крыс при длительном поступлении Конфидора экстр[®] и Калипсо[®]/ Т.В. Бойко // Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации : материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – Воронеж : издательство «Истоки», 2013. – С. 104 – 107.
45. Бойко Т.В. Морфологические изменения в органах крыс при острой интоксикации тиаклопридом / Т.В. Бойко, М.Н. Гонохова // Материалы Всероссийской науч.-практич. конф. «Современные научно-практические достижения в ветеринарии». – Киров. – 2013. – С. 15-17.
46. Гонохова М.Н. Сравнительная цитологическая характеристика селезенки крыс при отравлении неоникотиноидами / М.Н. Гонохова, Т.В. Бойко, А.О. Дремнина // Механизмы и закономерности индивидуального развития организма млекопитающих : сборник статей междунар. науч. – практич. конф., посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, доктора ветеринарных наук, профессора Э.Ф. Ложкина : в 2 т. / под ред. Н.Ю. Прамоновой, Л.П. Соловьёвой. – Караваево : Костромская ГСХА, 2013. – С. 36 – 40..
47. Бойко Т.В. Диагностика отравлений животных неоникотиноидами и синтетическими пиретроидами / Т.В. Бойко, Т.В. Герунов, М.Н. Гонохова // Вестник Омского государственного аграрного университета №1 (9), январь-март, 2013. – С.63-65.
48. Бойко Т.В. Влияние унитиола на биотрансформацию имидаклоприда в условиях эксперимента / Т.В. Бойко, Л.К. Герунова, М.Н. Гонохова, А.А. Ельцова // Эффективные и безопасные лекарственные средства: материалы III Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященного 25-летию проведения регулярных, ежегодных научно-практических форумов по ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации. – Санкт-Петербург, 2014. – С.48-50.

Подписано в печать 01.09.14. Формат 60/84 1/16
Гарнитура «Times New Roman». Печ. л. 2,50(2,33).
Бумага офсетная. Печать оперативная.
Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ИП Макшеевой Е.А. тел. (3812) 351-445