

На правах рукописи



ХАЙРУЛЛИН ДАМИР ДАНИЯЛОВИЧ

**ИЗЫСКАНИЕ СРЕДСТВ ЛЕЧЕНИЯ ПРИ НИТРАТНО - НИТРИТНОМ
ТОКСИКОЗЕ ЖИВОТНЫХ**

16.00.04. – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Казань – 2008

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

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ и РТ,
доктор ветеринарных наук, профессор
Папуниди Константин Христофорович

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук, профессор
Конюхов Геннадий Владимирович
Доктор ветеринарных наук, профессор
Софронов Владимир Георгиевич

Ведущее учреждение: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия

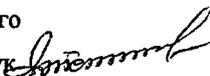
Защита состоится «30» декабря 2008г. в «10» часов на заседании диссертационного совета Д – 220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г. Казань, Научный городок - 2).

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

Автореферат разослан «28» ноября

Ученый секретарь диссертационного

совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Известно, что при длительном потреблении кормов с повышенным содержанием нитратов даже в не смертельных концентрациях у животных отмечают нарушение воспроизводительной функции: аборт, задержание последа, учащение случаев эмбриональной смертности (И.И.Черпяева, 1990; Г.А.Таланов, 1992).

У жвачных животных, поедающих растения, максимально фиксирующие азот (кормовая свекла, кукуруза, подсолнечник), в многокамерном желудке по естественному метаболическому пути под влиянием редуцирующих ферментов рубца, нитраты превращаются в нитриты, которые на один порядок более токсичны (В.В.Дерягин и др., 2003; А.В.Иванов и др., 2006).

В результате экологического неблагополучия увеличивается заболеваемость и падеж животных, снижается их продуктивность, нарушается репродуктивная функция. Накоплен обширный материал, свидетельствующий о повышении содержания токсикантов в животноводческой продукции из зоны техногенных загрязнений (М.И.Рабинович, 2002; К.Х.Папуниди и др., 2005).

В настоящее время одной из задач ветеринарной фармакологии и токсикологии является разработка средств профилактики и лечения животных при отравлениях нитратами и нитритами.

Цель и задачи исследования. Изучение токсичности натрия нитрита, влияние его на организм животных, а также разработка лечебных средств при отравлении этим токсикантом. В этой связи перед нами были поставлены следующие задачи:

- определить параметры острой токсичности, кумулятивные свойства и хроническое действие натрия нитрита на организм животных;
- изучить клинико-гематологические, электрокардиографические, биохимические, гистологические показатели, провести исследование рубцового содержимого и ВСЭ мяса у животных при отравлении натрия нитритом;

- провести скрининг и оценку лечебных препаратов при отравлении животных натрия нитритом.

Научная новизна работы. Впервые проведены комплексные исследования по определению острой и хронической токсичности, кумулятивных свойств натрия нитрита и изучено влияние его на гематологические, биохимические и электрокардиографические показатели. Проведена ВСЭ мяса и изучена гистоструктура тканей внутренних органов крыс, кроликов и овец при отравлении натрия нитритом и после применения лечебных средств.

Впервые экспериментально обоснована и показана лечебная эффективность применения перекиси водорода при отравлении животных натрия нитритом.

Практическая ценность работы. На основании проведенных исследований дана комплексная токсикологическая оценка воздействия натрия нитрита на лабораторных и сельскохозяйственных животных, которую следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений животных.

В качестве лечебных средств при воздействии натрия нитрита на организм животных, рекомендуем применять 0,25% перекись водорода в дозе 2 мл/кг живой массы или 1% хромосмон в дозе 0,4 мл/кг.

Результаты исследований и материалы диссертаций вошли в Методические рекомендации «Отравления сельскохозяйственных животных нитратами и нитритами (диагностика, профилактика, лечение)», одобренные НМС Департамента ветеринарии Минсельхоза России (прот. №35 от 20 июня 2008г.).

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных сессиях учёного совета ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2006-2008 г.г., Международных и Всероссийских симпозиумах, (Казань, 2006, 2007, 2008; Троицк, 2007; Ижевск, 2007; Ульяновск, 2008).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе одна в реферируемом ВАК издании.

Основные положения, выносимые на защиту: токсикологическая оценка натрия нитрита при поступлении его в организм животных;
-влияние отравления натрия нитритом на клинико-гематологические, биохимические, электрокардиографические показатели, ВСЭ мяса и гистоструктура тканей внутренних органов крыс, кроликов и овец;
-лечебная эффективность метиленовой сини и перекиси водорода при отравлении животных натрия нитритом.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 140 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, методов и результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 43 рисунками и содержит 21 таблицу. Список литературы включает 206 литературных источников, в том числе 28 зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные исследования проведены в период с 2006 по 2008 годы в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

Подопытные и контрольные группы животных формировали по принципу аналогов. В течение всего опыта животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Всего в опытах использовано 105 белых крыс, 90 кроликов и 12 овец. Кормление животных осуществлялось по рационам, принятым в виварии института и соответствовало зоотехническим требованиям.

В качестве токсиканта использовали натрия нитрит препаративная форма (ПФ); М 69,0 представляет собой белые кристаллы (реже желтоватые), $T_{пл}$ 271°C, плотность 2,17 г/см³. При температуре выше 300°C препарат разлагается, не доходя до кипения, растворяется в воде 8,1 г/100 (20°C), 163 г/100 г (100°C).

Острую оральную токсичность натрия нитрита изучали на белых крысах массой тела 185-200 г. и кроликах живой массы 1,7-2,5 кг. Токсикант вводили с помощью зонда соответствующего для каждого вида животного, при помощи шприца и иглы с оливой. Зондирование проводили по общепринятой методике (Б.М.Анохин и др., 1991).

При изучении кумулятивных свойств использовали метод «Субхронической токсичности», предложенный (Лим и др., 1961), с выявлением коэффициента кумуляции по формуле (Ю.С.Кагана, В.В.Станкевича, 1964), согласно принятой классификации (Л.И.Медведь, 1964).

Острую токсичность для крыс и кроликов определяли по Керберу, а для овец методом одной точки описанной, Vander Waerden в (1940), пробит анализы были обработаны по методу Литчфильда и Уилькоксона (1949).

В дозатравочный период и после лечения за подопытными животными вели постоянное наблюдение по общепринятой схеме. Определение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, СОЭ в крови проводили общепринятыми методами, а метгемоглобина колориметрическим методом, белковые фракции экспресс-нефелометрическим методом Олла и Маккарда в модификации С.А.Карпюка. Аспартатаминотрансферазу (АсАТ), аланинаминотрансферазу (АлАТ), щелочную фосфатазу, лактатдегидрогеназу, гамма-глутамилтрансферазу, глюкозу, креатинин, мочевины, креатинкиназу, амилазу, железо и общий белок определяли на анализаторе EXPRESS PLUS.

Регистрацию биоэлектрических токов сердца проводили с использованием электрокардиографа марки ЭК 1Т – 03М.

При определении ферментативной активности, рН рубцового содержимого и количества инфузорий руководствовались методическими указаниями, разработанными (В.А.Игнаткиной и Х.Х.Хабибуллиным, 1989).

Патологический материал фиксировали 10%-ным нейтральным формалином, окрашивали препараты по общепринятым методам.

Остаточные количества нитритов в органах и тканях павших животных определяли по ГОСТу 29 299-92.

Патоморфологические исследования проводили совместно с с.н.с. лаб. патоморфологии Губеевой Е.Г., а при выполнении опытов на овцах принимал участие с.н.с., к.в.н. Жестков Н.Н., за что выражаю им искреннюю благодарность.

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на ПК с программой «Microsoft Excel».

Библиографическое описание использованных в диссертации литературных источников осуществляли в соответствии с требованиями действующего ГОСТа.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Определение острой токсичности натрия нитрита для белых крыс, кроликов и овец

При введении крысам натрия нитрита в дозе 240 мг/кг клинические признаки наступали через 1-1,5 ч и исчезали спустя 6-8 ч. У крыс, получавших натрия нитрит в дозе 260 мг/кг, первые клинические признаки отравления наступали через 50-60 мин и проявлялись угнетением, отказом от корма и воды, а также учащением дыхания. Через 7 ч одно животное пало, у оставшихся в живых крыс состояние нормализовалось через 24 ч. При увеличении дозы натрия нитрита до 320 мг/кг массы тела клинические признаки отравления отмечали через 30-40 мин после затравки и проявлялись затрудненным дыханием, сильным возбуждением, саливацией, нарушением координации движения, тремором скелетной мускулатуры, парезами и параличами задних конечностей. Внешнее состояние у выживших животных нормализовалось через 30-40 ч. У крыс, получавших натрия нитрит в дозе 400 мг/кг, уже на 10-15 мин проявлялись вышеуказанные признаки интоксикации, пищевая возбудимость отсутствовала, отмечалось сильное угнетение, дыхание учащенное, более частый пульс, усиливался диурез, моча прозрачная. Перед

гибелью пульс ослабевал, слизистые оболочки приобретали сине-стальную окраску, заметно снижалась температура тела.

При патологоанатомическом вскрытии павших крыс отмечены следующие изменения. Слизистые оболочки анемичны, в грудной полости жидкость красного цвета; сердце темно-вишневого цвета, имелись сгустки крови; лёгкие плотной консистенции, пестрой окраски. Брюшная полость содержала жидкость светло-красного цвета. Печень плотная, тёмно-коричневая; очаги кровоизлияния в головном мозге; дегенеративные изменения в почках, явления гастроэнтерита с очагами некроза на слизистой оболочке желудка.

Среднесмертельная доза (LD_{50}) натрия нитрита при пероральном введении белым крысам составила 314 мг/кг массы тела.

При введении кроликам натрия нитрита в дозе 225 мг/кг клинические признаки наступали через 60-90 мин и исчезали спустя 4-6 ч. В этот период наблюдали отказ от корма и воды, беспокойство, частое мочеиспускание, температура тела была в пределах нормы. У кроликов, получавших натрия нитрит в дозе 250 мг/кг, первые клинические признаки отравления наступали через 50-60 мин и проявлялись угнетением, отказом от корма и воды, а также учащением дыхания. Через 1,5 ч одно животных пало, у оставшихся в живых кроликов состояние нормализовалось через 24 ч. При увеличении дозы натрия нитрита до 300 мг/кг, клинические признаки отравления появились через 25-30 мин после затравки и проявлялись тяжёлым дыханием, температура тела была в норме, у некоторых животных наблюдалось нарушение координации движений, по мере развития клинической картины у кроликов отмечали мышечную слабость, парезы и параличи задних конечностей. Внешнее состояние у выживших животных нормализовалось через 24-30 ч. У кроликов, получавших натрия нитрит в дозе 325 мг/кг, на 10-15 мин проявлялись все выше указанные признаки интоксикации, пищевая возбудимость отсутствовала, отмечалось сильное угнетение, учащение дыхания и пульса, при частом мочеиспускании моча прозрачная, перед гибелью пульс заметно

ослабевал, слизистые оболочки приобретали сине-стальную окраску, все кролики, получавшие токсин в вышеуказанной дозе, погибали в течение 20-30 мин.

Патологоанатомическая картина павших животных была сходна с картиной крыс при острой интоксикации натрия нитритом, при этом наблюдали следующие изменения. В грудной полости обнаружена жидкость красного цвета, полости сердца кровенаполнены, плотной консистенции, пестрой окраски, печень темно вишневого цвета, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта катарально воспалены, очаги кровоизлияния в головном мозге.

Среднесмертельная доза натрия нитрита для кроликов при пероральном введении составила 275 мг/кг массы тела.

Определение острой токсичности натрия нитрита было проведено на 3 овцах живой массой 45-50 кг. Для этого была выбрана ориентировочная доза 185 мг/кг. Среднесмертельные величины получают путем статистической обработки вариационного ряда смертельных доз (концентраций). После введения вышеуказанной дозы 2 овцы из 3 погибли при выраженной клинике отравления. Через 15-30 мин наблюдали отказ от корма и воды, животные становились беспокойными, отмечалось частое мочеиспускание, температура тела в норме. На 35-40 мин наблюдалось учащение дыхания, животные больше лежали, видимые слизистые оболочки вишневого цвета. Через 50 мин одно животных пало, у оставшихся овец из ротовой, носовой полостей выделялась густая слизистая жидкость, перед гибелью дыхание становилось более затрудненным, отмечалось нарушение координации движения, тремор скелетной мускулатуры, тактильные и болевые рефлексы резко понижены. Гибель второго животного наступала через 60 мин при совершении глотательных движений воздуха. Общее состояние у оставшейся в живых овцы, нормализовалось через 24-26ч.

Патологоанатомическая картина павших животных была сходна с картиной кроликов, все органы были полнокровны. В грудной полости

обнаружена жидкость красного цвета, полости сердца кровенаполнены, плотной консистенции; печень темно вишневого цвета; легкие темно коричневого цвета, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта катарально воспалены, почки темного цвета с хорошо выраженным рисунком. В головном мозге наблюдается сглаженность борозд.

Среднесмертельная доза натрия нитрита для овец, определенная по методу одной точки, составила $155 \pm 22,73$ мг/кг. Проведенное нами сопоставление среднесмертельных величин, определенных по этому методу, с данными развернутого опыта показало достаточное соответствие.

В соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 натрия нитрит для белых крыс, кроликов и овец является среднетоксичным.

3.2. Изучение кумулятивных свойств натрия нитрита для белых крыс

Опыты проведены на 12 белых крысах обоего пола, живой массы 180-200 г, которым в течение 26 сут перорально вводили натрия нитрит в дозе 1/10 от ЛД₅₀ (31,4 мг/кг) и увеличивая ее через каждые 4 сут в 1,5 раза. Установлено, что через 13 сут при введении натрия нитрита в суммарной дозе 105,9 мг/кг у крыс отмечали угнетение, шерсть стала взъерошенной, на 15 сут отказывались от корма и воды, гибель началась на 17 сут с момента введения токсина, когда суммарная доза достигала 158,8 мг/кг. Клинические признаки выживших животных проявлялись нарушением координации движений, парезом задних конечностей, отмечались изменения со стороны нервной системы, перед гибелью тремор скелетной мускулатуры. По мере дальнейшего поступления токсина признаки интоксикации животных усиливались, и на 21 сут, с момента введения натрия нитрита доза, вызывающая гибель 50% животных, составила 238,4 мг/кг.

При патологоанатомическом вскрытии павших крыс отмечены следующие изменения: видимые слизистые оболочки анемичны, сердце темно-вишневого цвета, легкие дряблой консистенции, печень плотная, окрашена в темно-коричневый цвет; катаральное воспаление слизистой оболочки желудка с

явлениями гастроэнтерита и очагами некроза на слизистой оболочке, дегенеративные изменения в почках, очаги кровоизлияния в головном мозге.

Коэффициент кумуляции натрия нитрита, согласно методике, Ю.С.Каган, В.В.Станкевич (1964), для крыс составил 4,5 и по классификации Л.И.Медведь (1964), натрия нитрит для крыс обладает умеренной кумуляцией.

3.3. Изучение хронической токсичности натрия нитрита для белых крыс

Исследования проводили на белых крысах разного пола массой тела 95-100 г. По принципу аналогов сформировано 4 группы белых крысах, по 12 голов в каждой. Первая группа служила контролем и получала обычную питьевую воду. Опытным животным задавали внутрь натрия нитрит в виде 0,2-1%-ных растворов ежедневно при помощи зонда в дозах: второй группе - 62,8 (1/5 ЛД₅₀), третьей - 6,28 (1/50 ЛД₅₀), четвертой - 3,14 (1/100 ЛД₅₀) мг/кг. Препарат вводили крысам в течение 60 сут.

Таблица 1 - Динамика массы тела крыс (г), получавших натрия нитрит (n=12)

Срок исследования, сут	Контрольная группа	Опытная группа, мг/кг		
		62,8	6,28	3,14
Изначальная живая масса, г	95,83	97,00	99,50	97,50
15	112,17	98,50	101,03	99,97
30	119,00	100,33	103,50	102,50
45	123,33	105,83	107,00	108,17
60	138,67	—*	109,50	113,50
Отличие от изначальной живой массы, %	44,7	9,1	10,0	16,4

Примечание: * при дозе 62,8 мг/кг крысы не доживали до 60 суток

Во 2-ой группе крыс, которой задавали токсин в дозе 62,8 мг/кг клинические признаки отравления начались на 25-30 сут, и характеризовались

угнетением, снижением аппетита, взъерошенностью шерстного покрова. В других группах, получавших токсин, клинические признаки проявлялись в более поздние сроки и были менее выражены.

Проведенные исследования свидетельствует о том, что натрия нитрит при длительном поступлении в организм в малых дозах приводит к снижению массы тела (табл. 1).

Для определения остаточных количеств натрия нитрита животных убивали через 30 и 60 сут с начала затравки (табл. 2).

Таблица 2 - Содержание натрия нитрита (мг/кг) в органах и тканях крыс при хроническом отравлении (n=12)

Орган и ткань	Контроль	Доза, мг/кг		
		62,8	6,28	3,14
30 сут				
Почки	не обнаружен	1,17***	0,194***	0,027***
Печень	не обнаружен	0,61***	0,194***	0,013***
Селезенка	не обнаружен	0,58***	0,165***	0,013***
Легкие	не обнаружен	0,71***	0,184***	0,012***
Сердце	не обнаружен	0,55***	0,157***	0,012***
Мышцы	не обнаружен	0,510***	0,145***	0,011***
60 сут				
Почки	не обнаружен	-	0,0116***	не обнаружен
Печень	не обнаружен	-	0,01***	не обнаружен
Селезенка	не обнаружен	-	не об.	не обнаружен
Легкие	не обнаружен	-	0,01***	не обнаружен
Сердце	не обнаружен	-	не обнаружен	не обнаружен
Мышцы	не обнаружен	-	не обнаружен	не обнаружен

Примечание:*** - $p < 0,001$

Из таблицы 2 видно, что при введении крысам в течение 30 сут натрия нитрита в дозе 62,8 мг/кг, наибольшая концентрация его отмечалась в почках,

легких и печени (1,17; 0,71 и 0,61 мг/кг массы тела соответственно). В селезенке, сердце и мышцах содержалось (0,58; 0,55 и 0,51 мг/кг соответственно).

У животных, которым вводили натрия нитрит в дозе 6,28 мг/кг, содержание нитрит иона на 30 сут составило в почках и печени 0,194 мг/кг, следующие органы по убыванию содержания нитрит иона это: легкие, селезенка, сердце и мышцы (0,184; 0,165; 0,157 и 0,145 мг/кг).

При введении животным натрия нитрита в дозе 3,14 мг/кг в течение 30 сут максимальное накопление его наблюдалось в почках (0,027 мг/кг), печени и селезенке - (0,013 мг/кг), чуть меньше содержался в легких, сердце и мышцах - (0,012-0,011 мг/кг).

При введении дозы 62,8 мг/кг крысы второй группы до 60 сут не доживали. У животных, получавших натрия нитрит в дозе 6,28 мг/кг, содержание его в почках и печени составляло 0,0116 и 0,01 мг/кг, в остальных органах следов нитрит иона обнаружено не было.

Внутрижелудочное введение натрия нитрита в дозе 62,8 мг/кг вызывает выраженные изменения гистоструктуры внутренних органов. Наблюдается белковая дистрофия печени с нарушением структуры печеночных балок, кариопикнозом, кариорексисом, лимфогистиоцитарной инфильтрацией портальных трактов, имеют место лимфоцитарная инфильтрация вокруг сосудов, многочисленные микрофаги в синусоидах. В почках белковая дистрофия, деформация клубочков. В легких утолщение межальвеолярных перегородок, межочный отек и лимфоцитарная инфильтрация. В стенке желудка все слои инфильтрированы лейкоцитами, лимфоцитами, клетки слизистой дистрофически изменены. В сердце наблюдались выраженные сократительные нарушения, фрагментация кардиомиоцитов, исчезновение поперечной исчерченности, очаговые некрозы. В селезенке полнокровие и кровоизлияния в красной пульпе, многочисленные мелкие фолликулы, в центре которых содержатся разрушающиеся лимфоциты.

Внутрижелудочное введение натрия нитрита в дозе, 6,28 мг/кг до 30 дней приводит к выраженным изменениям в мышечной ткани в виде межклеточного отека, внутриклеточного отека с очаговыми некробиозами. В сердце сократительные нарушения, отек кардиомиоцитов, миоцитоллиз, кариопикноз, кариолизис, некробиотические очаговые изменения кардиомиоцитов. В селезенке полнокровие, кровоизлияния в красной пульпе, многочисленные мелкие фолликулы содержат разрушающиеся лимфоциты и их обломки, в Т-зависимых зонах наблюдалось скопление лимфоцитов. В почках и печени слабо выраженная белковая дистрофия. Во всех органах венозное полнокровие, периваскулярные кровоизлияния в печени, почках. На 60 сутки эксперимента эти изменения становятся менее значительными.

Внутрижелудочное введение натрия нитрита в дозе 3,14 мг/кг на сроках 30 дней приводит к слабо выраженной белковой дистрофии почек, во всех органах наблюдается венозное полнокровие, периваскулярные кровоизлияния в печени, умеренный отек головного мозга, слабо выраженная нейронодистрофия. На 60 сутки эксперимента во всех исследованных внутренних органах гистологическая структура соответствовала норме.

3.4. Эффективность применения хромосмона при отравлении животных натрия нитритом

3.4.1. Опыты на кроликах

Опыты были проведены на 9 кроликах массой тела 1,7-2,5 кг, обоего пола. Натрия нитрит задавали внутрижелудочно в виде 5% водного раствора из расчета 325 мг/кг.

При появлении клинических признаков отравления кроликам в качестве антидота внутривенно вводили хромосмон (1% раствор метиленовый синий на 25% растворе глюкозы) в дозе 0,4 мл/кг.

После введения животным натрия нитрита в дозе 325 мг/кг через 20-25 мин у них отмечалось угнетение общего состояния, частое мочеиспускание, слизистые оболочки глаз и рта слабо вишневого цвета. Кролики больше лежали, отмечалась одышка, резкое нарушение сердечной деятельности.

Животные принимали боковое положение. При проявлении клинических признаков ввели хромосмон.

На разные сроки лечения исследовали гематологические показатели крови в (рис. 1).

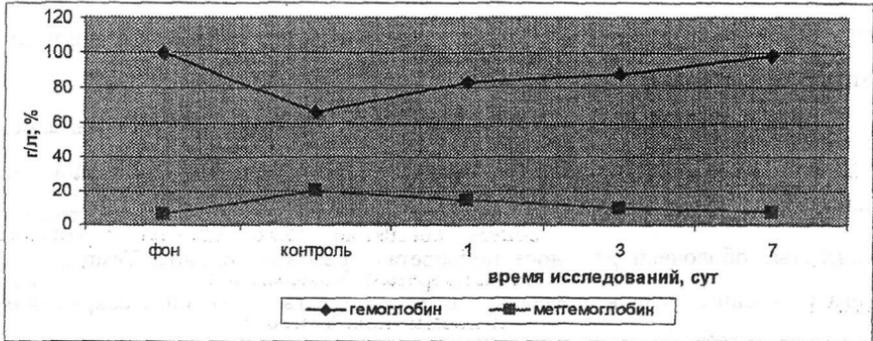


Рис. 1 - Гематологические показатели кроликов после лечения (n=9)

Из рис. 1 видно, что содержание гемоглобина через 30 мин у опытных кроликов снижается на 34%, а на 7 сут достигает исходных величин, а количество метгемоглобина повышается в 2 раза, а на 7 сут приближалось к исходным величинам.

Об эффективности применения хромосмона при остром нитритном токсикозе свидетельствовали и результаты биохимических исследований.

3.4.2. Опыты на овцах

Опыты были проведены на 9 овцах с исходной массой 35-40 кг, 3 из которых были контрольными. Натрия нитрит вводили внутривентриально в виде 10%-ного водного раствора в дозе 220 мг/кг.

Через 15-20 мин после введения натрия нитрита у овец отмечали угнетение общего состояния, беспокойство, слабую реакцию на внешние раздражители, частое мочеиспускание, моча прозрачная, цвет и запах ее не изменены. Слизистые оболочки глаз и рта вначале были слабо вишневого цвета, затем приобретали коричневой оттенок. Температура тела и кожи несколько были понижены, дыхание затрудненное. Отмечали фибрилляцию и болезненность брюшной стенки. Более частым становился пульс, усиливался

сердечный толчок. Через 25-30 мин после введения токсиканта наблюдали произвольные жевательные движения, животные принимали боковое положение. В этот период 6-ти опытных овец вводили антидот.

У животных контрольной группы перед гибелью нарушалась координация движения, развивался тремор скелетной мускулатуры, они падали и не могли подняться, гибель их наступала в течение 60-90 мин после отравления при явлениях асфиксии.

Опытные животные уже на 5-10 мин после введения антидота, пытались вставать, поднимать голову, принимать воду и корм. На 15-20 мин они самостоятельно вставали, общее состояние было удовлетворительное, слизистые оболочки рта, носа приобретали розовый оттенок. Температура тела и дыхание были в пределах нормы, количество сердечных сокращений составляло 157 уд/мин. Спустя 30-40 мин после лечения видимых признаков отравления у овец не отмечали. За животными вели клиническое наблюдение в течение 15 дней и в разные сроки проводили гематологические и биохимические исследования, результаты которых представлены в (табл. 3).

Таблица 3 - Гематологические показатели овец (n=9)

Показатель	Фон	Контроль	Срок исследования, сут		
			1	3	7
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,69±0,40	5,55±0,21	5,45±0,20	5,13±0,36	4,86±0,21
Лейкоциты, $10^9/л$	8,66±0,9	9,76±0,91	9,61±0,9	9,01±0,32	8,72±0,67
Гемоглобин, г/л	90,33±4,6	52,6±2,1*	87,0±2,1	89,1±2,5	90,67±1,9
Метгемоглобин, %	7,83±0,40	27,6±3,19*	15,6±1,9*	11,21±0,5*	5,5±1,2
СОЭ, мм/час	0,87±0,16	1,27±0,45	0,95±0,11	0,89±0,45	0,86±0,13

Примечание: * - $p < 0,05$

Из таблицы видно, что количество эритроцитов и лейкоцитов в крови у контрольной группы незначительно увеличивается. Содержание гемоглобина

в опытной группе достоверно понижается, а на 3-7 сут достигает исходных величин.

Количество метгемоглобина у контрольных животных через 30 мин повышается более чем в 2,5 раза, у опытных спустя сут - в 1,5 раза, а на третьи и седьмые сут содержание метгемоглобина возвращалось к исходным показателям.

Таблица 4 - Показатели рубцового содержимого овец после отравления натрия нитритом с применением лечения (n=9)

Показатель	Фон	Контроль (без лечения)	Срок исследования после лечения, сут		
			1	3	7
Количество инфузорий в 1 мл рубцового содержимого, тыс	654 ±45,1	124 ±22,1	198,3 ±12,1	324 ±16,3	522 ±14,1
pH	7,02 ±1,31	5,4 ±0,67	5,93 ±0,98	6,15 ±0,85	7,01 ±0,86
Обесцвечивание раствора метиленовой сини, мин	10,56 ±0,95	35,2 ±2,1	28,2 ±1,51	15,1 ±0,98	11,6 ±0,75
Подвижность, балл	4,21 ±0,12	3,56 ±0,98	4,11 ±0,21	4,15 ±0,24	4,20 ±0,13

Данные приведенные в (табл. 4) показывают, что количество инфузорий в 1 мл рубцового содержимого составило у контрольных животных $121 \pm 42,1$ тыс., pH $5,4 \pm 0,67$, ферментативная активность была низкой и время обесцвечивания метиленовой сини составляла 20-35 мин, а подвижность инфузорий достигала $3,56 \pm 0,98$ балла. Видовой состав и размер инфузорий оставались неизменными.

Через 24 ч после лечения pH составил 5,9, повысилась ферментативная активность, а подвижность инфузорий увеличилась на 15,4% по сравнению с

контролем. Видовой состав рубцового содержимого на третье и седьмые сут был представлен равноресничными средними и жгутиковыми инфузориями.

Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса овец при нитратно нитритном токсикозе на 7 сут после лечения по органолептическим и физико-химическим показателям, соответствовала стандартам, предусмотренным для мяса здоровых животных.

3.5. Эффективность перекиси водорода при отравлении кроликов натрия нитритом

Исследования проводили на 20 кроликах живой массой 1,8-2,0 кг, которые были разделены на 4 группы по 5 голов в каждой. Животным всех групп внутрижелудочно при помощи зонда задавали 5% водный раствор натрия нитрита в дозе 325 мг/кг. Концентрация перекиси водорода, используемой в качестве лечебного препарата, для первой группы составляла - 0,15%; для второй - 0,20%; для третьей и четвертой - 0,25 и 0,30% соответственно. Растворы перекиси водорода вводили в краевую ушную вену животного из расчета 2 мл/кг живой массы. Результаты опытов приведены в (табл. 5).

Таблица 5 - Эффективность перекиси водорода при отравлении кроликов натрия нитритом

Группа животных	Концентрация перекиси водорода, %	Доза токсиканта мг/кг	Количество животных		
			всего	пало	выжило
1	0,15	325	5	5	0
2	0,20	325	5	2	3
3	0,25	325	5	0	5
4	0,30	325	5	2	3

Установлено, что через 10-15 мин после введения натрия нитрита у кроликов отмечалось резкое угнетение, из ротовой, носовой полостей выделялась густая слизистая жидкость. У всех животных отмечалось

учащение дыхания, нарушение координации движения, тремор скелетной мускулатуры, частое мочеиспускание. Тактильные и болевые рефлексы резко понижены. Если во время ярких клинических признаков происходило учащение дыхания, то перед гибелью количество дыхательных движений урежалось и гибель животных происходила при совершении глотательных движений воздуха на 30-45 мин после введения токсиканта.

Из данных таблицы видно, что 0,15% концентрация перекиси водорода не обладает лечебными свойствами. При введении 0,20% раствора из 5 животных выживало только 3 (60%). При введении 0,25% перекиси водорода выживаемость опытных животных составила 100%. Выживаемость животных при 0,30% концентрации перекиси водорода составила 60%.

В связи с тем, что 0,25% концентрации перекиси водорода была наиболее эффективной, изучение гематологических и биохимических показателей проводили у кроликов этой группы (табл. 6).

Таблица 6 - Гематологические показатели кроликов при отравлении натрия нитритом и лечении перекисью водорода (n=5)

Показатель	Фон	Контроль	Срок исследования, сут		
			1	3	7
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,68±0,10	6,71±0,15	6,28±0,13	6,03±0,12	5,73±0,11
Лейкоциты, $10^9/л$	5,96±0,17	6,84±0,2	6,23±0,18	6,09±0,13	5,90±0,31
Гемоглобин, г/л	101,34±1,6	71,86±1,1	87,3±1,2*	92,1±1,5	99,67±1,9
Метгемоглобин, %	7,83±0,40	23,81±1,21	12,6±1,02*	10,21±0,5*	7,5±0,2
СОЭ, мм/час	1,0±0,16	1,2±0,2	0,7±0,11	0,93±0,102	0,99±0,13

Примечание - * $p < 0,05$

Из данной таблицы видно, что количество эритроцитов после лечения в сравнении с фоновыми показателями на первые сут исследования повышалось на 10,56%. Количество лейкоцитов в крови во все сроки исследования находилось на уровне фоновых показателей. Содержание гемоглобина в опытной группе на первые сутки исследования уменьшалось на 14 а на третье и седьмые сут на 9 и 2% соответственно.

Количество метгемоглобина у контрольных животных через 30 мин повышается более чем в 2 раза, у опытных спустя сут на 50%, а на третье и седьмые сут содержание метгемоглобина возвращалось к исходным показателям.

Содержание щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы, в течение всего периода исследований оставалось в пределах границ физиологической нормы. Активность аланинаминотрансферазы на 3 и 7 сут повышалась на 14,8 и 6,1% соответственно.

Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса кроликов при нитратно нитритном токсикозе на 7 сут после лечения перекисью водорода по органолептическим и физико-химическим показателям соответствует ГОСТу.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза натрия нитрита при пероральном введении составляет для белых крыс: -314 мг/кг, кроликов -275 мг/кг, овец -155 мг/кг. Коэффициент кумуляции натрия нитрита для крыс равен 4,5. В соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 натрия нитрит является среднетоксичным соединением и обладает умеренной кумуляцией.

2. Ежедневное введение натрия нитрита в течении 60 дней белым крысам в дозах 1/50 и 1/100 от ЛД₅₀ приводит к снижению массы тела на 21 и 18% по сравнению с контролем.

3. Определение остаточных количеств натрия нитрита в органах и тканях опытных белых крыс на 30 и 60 сут после применения препарата показало, что наибольшее его содержание отмечается в почках, легких и печени.

4. Отравление животных натрия нитритом характеризуется изменением гематологических, биохимических и электрографических показателей:

- Содержание гемоглобина снижается на 29-47%, а метгемоглобина увеличивается в 1,5-2,5 раза.

- Повышается щелочная фосфатаза на 32%, аминотрансферазы на 8-76%, отмечалась тенденция к увеличению содержания креатинина, мочевины,

креатинкиназы, амилазы и снижается уровень глюкозы, железа и альбуминов в сыворотке крови животных.

- Биоэлектрическая активность сердца характеризуется повышением вольтажа зубцов на 27-63% и укорочением продолжительности интервалов.

5. Внутривенное введение натрия нитрита белым крысам в дозах 6,28-62,8 мг/кг вызывает выраженные изменения гистоструктуры внутренних органов; в печени наблюдается белковая дистрофия с нарушением структуры печеночных балок, карнопикноз, карioreксия, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов. В почках белковая дистрофия, деформация клубочков. В легких утолщение межальвеолярных перегородок, межлунный отек и лимфоцитарная инфильтрация.

6. Скрининг фармакологических средств из групп; серосодержащих соединений, витаминов, аминокислот, сорбентов а также метиленовая синь, глюкоза, перекись водорода, показало, что наиболее эффективным действием при отравлении животных натрия нитритом обладали хромосмон и перекись водорода.

7. Внутривенное введение 1% хромосмона кроликам и овцам в дозе 0,4 мл/кг, а перекиси водорода кроликам в дозе 2 мл/кг через 25-30 мин после отравления их смертельными дозами натрия нитритом предотвращает гибель животных и способствует нормализации гематологических и биохимических показателей крови.

8. Мясо, полученное от овец и кроликов отравленных натрия нитритом в абсолютно смертельных дозах, на седьмые сутки после лечения хромосмоном и перекисью водорода, имеет органолептические и физико-химические показатели соответствующие ГОСТом предусмотренным для мяса здоровых животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Данные по токсикологической оценке натрия нитрита следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений животных.

2. В качестве лечебного средства при отравлении животных натрия нитритом рекомендуется применять внутривенно 1% хромосмон в дозе 0,4 мл/кг и 0,25% перекись водорода в дозе 2 мл/кг живой массы.

3. Результаты исследований использованы при разработке Методических рекомендаций «Отравления сельскохозяйственных животных нитратами и нитритами (диагностика, профилактика, лечение) – ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» г Казань -2008.-38 с.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Жестков, Н.Н. Антидотная терапия при экспериментальном отравлении животных нитратами и нитритами / Н.Н.Жестков, Д.Д.Хайруллин, К.Х.Папуниди // Международная научная конференция «Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка». – Казань, 2006. – с. 91-97.

2. Хайруллин, Д.Д. Изучение острой токсичности натрия-нитрита на лабораторных животных / Д.Д.Хайруллин // Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы ветеринарии». – Казань, 2007. -с. 80-82.

3. Хайруллин, Д.Д. Лечение кроликов при отравлении нитритами / Д.Д.Хайруллин, Н.Н.Жестков // Материалы научно-практической конференции фармакологов Российской федерации. Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины. Сб. науч. тр. – Троицк: УГАВМ, 2007. с. 340-344.

4. Хайруллин, Д.Д. Эффективность перекиси водорода при экспериментальном нитратно-нитритном отравлении кроликов / Д.Д.Хайруллин // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования» Посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА, 2008. с. 137-139.

5. Хайруллин, Д.Д. Гематологические и биохимические показатели крови овец при экспериментальном нитритном токсикозе / Д.Д.Хайруллин, Н.Н.Жестков, Н.М.Ахмерова // Ветеринарный врач – 2008. - №1 – с. 4-6.

6. Хайруллин, Д.Д. Определение хронической токсичности натрия нитрита для белых крыс / Д.Д.Хайруллин // Всероссийская – научнопрактическая конференция «Научный потенциал – аграрному производству», посвященная 450-летию вхождения Удмуртии в состав России.- Ижевск, 2008. Т. 3, с. 116-121.

7. Хайруллин, Д.Д. Влияние нитритов на рубцовое содержимое овец / Д.Д.Хайруллин // Научно практическая конференция молодых ученых и специалистов «Достижения молодых ученых – в промышленности», посвященная 100–летию со дня рождения профессора Х.Х.Абдуллина. - Казань, 2008. 25-26 июня. с. 110-113.

8. Жестков, Н.Н. Отравления сельскохозяйственных животных нитратами и нитритами (диагностика, профилактика, лечение) / Н.Н.Жестков, Д.Д.Хайруллин, М.Я.Тремасов и др. ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» - Москва, 2008. с. 38.

Подписано в печать 26.11.08 Заказ № 75

Формат 60x84 1/16. Тираж 100 экз.

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

Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок-2.