

На правах рукописи



ЕГОРОВ ВЛАДИСЛАВ ИВАНОВИЧ

003054420

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
ДЕЦИСА И Т-2 ТОКСИНА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ И
ИЗЫСКАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2007

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

Научные руководители: Доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич
Доктор биологических наук, профессор
Иванов Аркадий Васильевич

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Гильмутдинов Рустем Якубович
Доктор ветеринарных наук, профессор
Набиев Фанис Галинурович

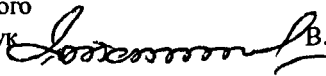
Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН (г. Москва)

Защита состоится « 6 » марта 2007 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г. Казань, Научный городок - 2, ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

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

Автореферат разослан « 31 » января 2007г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук

 В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. В настоящее время, в связи с возрастающим антропогенным воздействием на окружающую среду, все чаще в кормах обнаруживаются токсиканты как природного, так и техногенного происхождения.

К природным экотоксикантам относят микотоксины, вырабатываемые микроскопическими грибами. Среди микотоксинов наиболее опасным для животных является Т-2 токсин, который вырабатывается грибами рода *Fusarium* (Саркисов А.Х., 1985; Тутьельян В.А., Кравченко Л.В., 1985; Хмелевский Б.Н. и др., 1985; Петрович С.В., 1991; Смирнов А.М., Таланов Г.А. и др., 1999; Кузнецов А.Ф., 2001).

Одним из факторов увеличивающих опасность загрязнённых кормов микотоксинами является возможное сочетание их с пестицидами.

В последние годы все более широкое применение в сельском хозяйстве находят инсектициды, относящиеся к группе синтетических пиретроидов. Причём потенциальную опасность пиретроидов сегодня явно недооценивают. Общепризнанно мнение, что это малотоксичные и быстро разлагающиеся в объектах окружающей среды, организме животных и человека соединения. Однако, по мнению Заря В.В. (2001), как для животного мира, так и для человека безопасных пестицидов не существует. Одним из наиболее распространенных и используемых ядохимикатов из группы пиретроидов является децис.

В результате сочетанного действия микотоксинов и пиретроидов выявлены случаи массового падежа племенного крупного рогатого скота. В растительных объектах и патматериале было установлено наличие пиретроида, в то же время в образцах корма был обнаружен микотоксин (Тремасов М.Я. и др., 2005).

В настоящее время назрела необходимость разработки усовершенствованной системы токсикологического контроля безопасности кормов и разработка лечебно-профилактических мероприятий при сочетанном их загрязнении микотоксинами и пиретроидами.

1.2. Цель и задачи исследования. Целью данных исследований было изучение токсичности дециса и Т-2 токсина при совместном поступлении, влияния их на организм животных, а также разработка профилактических средств при отравлении этими токсикантами.

В этой связи перед нами были поставлены следующие задачи:

- определить параметры острой токсичности и кумулятивных свойств, выяснить эмбриотоксическое и тератогенное действие дециса и Т-2 токсина при сочетанном поступлении их в организм животных;

- изучить клинико-гематологические, биохимические патолого-анатомические и гистологические показатели у животных при сочетанном отравлении их децисом и Т-2 токсином;
- провести скрининг и оценку профилактических препаратов, при отравлении животных децисом и Т-2 токсином.

1.3. Научная новизна работы. Впервые установлено взаимоусиливающее действие дециса и Т-2 токсина при сочетанном поступлении в организм животных и разработано профилактическое средство.

Определены острая токсичность, кумулятивные, эмбриотоксические и тератогенные свойства, влияние на гематологические, биохимические показатели и гистоструктуру тканей внутренних органов крыс, кроликов и овец при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина.

Впервые в лабораторных и производственных условиях экспериментально обоснована и показана профилактическая эффективность применения бентонита при сочетанном отравлении животных децисом и Т-2 токсином.

1.4. Практическая ценность работы. На основании проведённых исследований дана комплексная токсикологическая оценка сочетанного воздействия дециса и Т-2 токсина на лабораторных и сельскохозяйственных животных, которые следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений животных.

В качестве средства профилактики, при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина на организм животных, рекомендуем применять бентонит в количестве 2% от рациона.

Результаты исследований использованы при составлении нормативно – технических документов – «Санитарно-микологическая оценка кормов и улучшение их качества», Минсельхоз России, М., 2006; «Временные ПДК Т-2 токсина, кадмия и дециса при одновременном загрязнении ими кормов», утверждённые директором ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; «Методические указания по профилактике микотоксикозов животных в Республике Марий Эл», утверждённые Начальником ГУВ РМЭ.

1.5. Аprobация материалов диссертации. Основные материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных сессиях ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2003-2005 г.г., межрегиональных, международных научно – практических конференциях и симпозиумах (Чебоксары 2004; Москва 2005; Казань 2005; 2006; Воронеж 2006).

1.6. Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ.

1.7. Основные положения, выносимые на защиту:

- токсикологическая оценка дециса и Т-2 токсина при сочетанном

поступлении их в организм животных;

- клинико-гематологические и биохимические показатели животных при сочетании воздействия дециса и Т-2 токсина;
- профилактическая эффективность бентонита при сочетанном отравлении животных децисом и Т-2 токсином.

1.8. Объём и структура работы. Диссертация изложена на 131 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, методов и результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа иллюстрирована 9 рисунками и содержит 28 таблиц. Список литературы включает 217 литературных источников, в том числе 98 зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2003–2006 гг. в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

Для экспериментальных исследований использовали кристаллический децис, содержащий 98,2% активного действующего вещества – дельтаметрина, представленный д.х.н., профессором Гареевым Р.Д., и кристаллический Т-2 токсин, полученный в лаборатории микотоксинов ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» с.н.с. Сергейчевым А.И. В качестве продуцентов микотоксина использовали гриб *Fusarium sporotrichiella*, штамм 2м*15, предоставленный д.в.н. А.Н. Котиком.

В экспериментах использовано 452 белые крысы, 112 кроликов, 44 овцы. Кормление осуществлялось по рационам принятым в виварии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», и соответствовало зоотехническим требованиям.

Токсиканты вводили перорально: децис в виде масляного, Т-2 токсин - 5% водноспиртового растворов.

Расчёт токсических доз проводили по методу Кербера (1931). Кумулятивные свойства определяли по методу Лима и др. (1961), с выявлением коэффициента кумуляции по формуле Кагана Ю.С., Станкевича В.В. (1964). Определение острой и хронической токсичности проводили общепринятыми методами.

Изучение эмбриотоксического действия дециса и Т-2 токсина проводили в соответствии «Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию».

В качестве профилактического средства применялся сорбент – бентонит Биклянского месторождения Республики Татарстан.

В ходе экспериментов изучалось клиническое состояние животных,

потребление корма и воды, изменение массы тела, температура, частота пульса и дыхания, регистрировалась продолжительность жизни, патологоанатомическая картина. После проведения необходимых процедур, определяемых целью и задачами эксперимента, брали кровь для исследований: путём декапитации - крысы, из ушной вены - кролики, из яремной вены - овцы.

Количество эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина в периферической крови определяли по общепринятым методикам, глюкозу - ортотолуидиновым методом, общий белок - рефрактометрически (Антонов Б.И. и др., 2004; Кондрахин И.П., 2004). Активность холинэстеразы – по методу Хестрина в модификации Панюкова П.Н. (1996). Биохимические показатели сыворотки крови определяли на анализаторе EXPRESS PLUS.

Индикацию дециса проводили методом ГЖХ на хроматографе «Dimension-1», а Т-2 токсина – методом ТСХ и биоавтографии.

При выполнении отдельных этапов работы принимали участие с.н.с. к.б.н. Галяутдинова Г.Г., с.н.с. к.в.н. Сергейчев А.И., н.с. к.б.н. Семёнов Э.И., за что автор выражает им искреннюю благодарность.

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программ Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Острая токсичность дециса и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии

Установлено, что среднесмертельная доза дециса для крыс при раздельном поступлении составила 45,8 мг/кг, Т-2 токсина - 3,0 мг/кг, при сочетанном воздействии – 38,3 и 1,8 мг/кг соответственно.

Аналогичные исследования были проведены на кроликах. Среднесмертельная доза дециса для кроликов составила 356,7 мг/кг, Т-2 токсина - 0,54 мг/кг, а при сочетанном воздействии 290,0 и 0,46 мг/кг соответственно.

Проведённые опыты свидетельствуют о том, что децис и Т-2 токсин при сочетанном воздействии на животных вызывают смертельный исход при меньших дозах, чем при их раздельном введении.

3.2. Кумулятивные свойства дециса и Т-2 токсина при их сочетанном воздействии

В эксперименте использовали белых крыс, которым в течение 19 сут перорально вводили децис и Т-2 токсин в дозах 1/10 ЛД₅₀, увеличивая её через каждые 4 сут в 1,5 раза.

Гибель крыс начиналась на 15 сут с момента введения токсинов, а на 19 сут погибло 50% животных.

При многократном введении дециса и Т-2 токсина, дозы, вызывающие гибель 50% животных, составили 219,3 и 14,3 мг/кг соответственно, что значительно ниже, чем при раздельном поступлении каждого из токсинов.

Коэффициент кумуляции дециса и Т-2 токсина при сочетанном воздействии для крыс составил 4,8. Согласно принятой классификации (Медведь Л.И., 1964), децис и Т-2 токсин при сочетанном воздействии обладают умеренной кумуляцией.

3.3. Эмбриотоксичность и тератогенность дециса и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии

Опыты проведены на 48 самках белых крыс разделённых на 4 группы по 12 крыс в каждой. Первая группа служила биологическим контролем, вторая получала децис, третья - Т-2 токсин, четвертая - одновременно оба токсиканта. Животным токсины задавали с 1 по 17 сут беременности, в дозах на уровне ПДК каждого из них. Результаты представлены в таблице.

Из таблицы видно, что предимплантационная гибель плодов в группах, получавших децис и Т-2 токсин раздельно по сравнению с контрольной, увеличилась на 7,9 и 34,8% ($p < 0,01$), соответственно, а при сочетанном воздействии – на 40,5% ($p < 0,001$).

Таблица - Эмбриотоксические свойства дециса и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии на крыс (n=6)

Показатель	Группа животных			
	1	2	3	4
Количество желтых тел	12,5±0,35	12,35±0,4	12,06±0,15	11,95±0,1
Количество мест имплантаций	11,31±0,2	11,08±0,25	10,52±0,4	10,35±0,36*
Количество живых плодов	10,35±0,6	10,06±0,24	9,46±0,18	9,06±0,39
Количество мертвых плодов	0,96±0,5	1,02±0,41	1,06±0,61	1,29±0,35
Доимплантационная гибель, %	9,5±0,56	10,25±0,68	12,81±0,51**	13,35±0,5***
Постимплантационная гибель, %	8,5±0,61	9,2±0,7	10,1±0,4	12,5±0,25***
Общая эмбриональная смертность, %	17,2±0,8	18,54±0,91	21,56±0,75**	24,18±0,78***
Выживаемость, %	82,8±0,9	81,5±1,0	78,4±0,9*	75,8±1,0***
Краниокаудальный размер плода, см	3,05±0,06	2,98±0,05	2,91±0,07	2,85±0,04*
Масса плода, г	2,95±0,08	2,89±0,07	2,82±0,07	2,76±0,08

* - $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$

Постимплантационная гибель плодов во второй группе по сравнению с контролем увеличилась на 8,2%, в третьей - на 18,8%, в четвёртой – на 47,1% ($p<0,001$).

Наименьшее увеличение эмбриональной смертности по сравнению с контролем наблюдалось у плодов, получавших отдельно децис – 7,8%, при поступлении Т-2 токсина она увеличилась на 25,4% ($p<0,01$), а при введении дециса и Т-2 токсина совместно – на 40,6% ($p<0,01$).

Краниокаудальный размер плода в группах, получавших децис и Т-2 токсин отдельно, по сравнению с контролем сократился на 2,3 и 4,6%, соответственно, при их совместном введении - на 6,6% ($p<0,05$).

Наблюдалось также и уменьшение массы плодов в опытных группах по сравнению с контрольной.

Топография костных и хрящевых закладок в скелете не нарушалась. У плодов крыс, получавших токсины, отмечали задержку окостенения костей осевого скелета, закономерное отставание в формировании хвостовых позвонков, пястных и плюсневых костей. У большинства плодов, при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина, оставались неокрашенными последние крестцовые позвонки, кости плюсны и пальцы, последние кости грудины. У плодов крыс, получавших отдельно децис и Т-2 токсин, эти процессы были менее выражены.

При изучении постнатального развития потомства самок заметных изменений в продолжительности беременности у крыс опытных групп по сравнению с контрольной не наблюдалось.

Наиболее высокий процент мертворождений относительно контроля наблюдался в четвёртой группе, подвергшейся сочетанному воздействию дециса и Т-2 токсина, – в 2,2 раза ($p<0,001$), в группах, получавших отдельно децис и Т-2 токсин, - в 1,7 ($p<0,001$) и 2,1 ($p<0,001$) раза, соответственно. В четвёртой группе наблюдался и самый высокий процент постнатальной смертности крысят к 28-му дню жизни - в 2,2 раза ($p<0,001$) превышавший данный показатель контрольной группы, тогда как во второй и третьей группах он увеличился в 1,1 и 1,9 ($p<0,01$) раза, соответственно. По таким показателям, как время отлипания ушей, срок опушения, прозрения и прорезывания резцов значительных различий в опытных группах относительно контрольной не отмечалось.

Таким образом, результаты проведённых исследований свидетельствуют о том, что при сочетанном введении дециса и Т-2 токсина в дозах на уровне ПДК каждого из них наблюдали более выраженное эмбриотоксическое и тератогенное действие на организм самок белых крыс, чем при их отдельном применении.

3.4. Токсичность дециса и Т-2 токсина при многократном воздействии на крыс

Исследования проводились на белых крысах массой тела 170-180 г. Для этого были сформированы 4 группы животных по 12 гол в каждой. Крысам первой группы внутрижелудочно задавали растворители в аналогичном объёме, второй группе - децис в дозе $1/10$ ЛД₅₀, третьей группе - Т-2 токсин - в дозе $1/10$ ЛД₅₀, животные четвёртой группы получали одновременно оба токсиканта.

Клинические признаки отравления в более ранние сроки начали проявляться в группе крыс, получавших совместно оба токсиканта, и характеризовались взъерошенностью шёрстного покрова, шаткостью походки, диареей, также отмечались эрозии и некрозы кожи губ и слизистых оболочек ротовой полости.

У крыс, затравленных только децисом, снижение количества эритроцитов по сравнению с контролем на 20 сут составило 23,7% ($p<0,05$), у крыс, получавших Т-2 токсин - 26,6% ($p<0,01$), при сочетанном введении этих токсикантов количество эритроцитов уменьшилось в эти же сроки на 27,8% ($p<0,01$).

Количество лейкоцитов во второй группе крыс увеличилось к 20 сут на 16,1%, в третьей группе наоборот уменьшилось на 30,5% ($p>0,05$), в четвёртой группе снижение составило 26,3%.

Содержание гемоглобина во второй группе на 20 сут снизилось по сравнению с контролем на 27,3% ($p<0,001$), в третьей группе - на 29,0% ($p<0,001$), в четвёртой группе снижение гемоглобина в эти же сроки составило 33,6% ($p<0,001$).

СОЭ увеличилась на 20 сут во второй группе на 92,3% ($p<0,001$), в третьей группе - на 43,8% ($p<0,001$), в четвёртой группе - на 53,8% ($p<0,001$). Уменьшение содержания глюкозы в крови животных второй группы, по сравнению с контрольной, на 20 сут составило 28,8% ($p<0,001$), в третьей - 21,2% ($p<0,001$), в четвёртой - 29,0% ($p<0,001$).

Отмечалось снижение содержания общего белка в сыворотке крови крыс, получавших децис к 20 сут исследования на 11,6%, получавших Т-2 токсин - на 18,4% ($p<0,05$), при сочетанном введении токсикантов количество общего белка снизилось на 19,2% ($p<0,05$).

Таким образом, большинство гематологических и биохимических показателей крови животных указывают на то, что при многократном сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина, происходили более существенные изменения, чем при раздельном.

3.5. Действие дециса и Т-2 токсина на овец в дозах на уровне ПДК

Были сформированы 3 группы животных по 3 гол в каждой. Первая получала децис, вторая - Т-2 токсин, третья - оба токсиканта в дозах на уровне

ПДК каждого из них.

3.5.1. Клинико-гематологические показатели овец при раздельном и сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина на уровне ПДК

Клинические признаки отравления раньше всех начали проявляться у овец, получавших сочетанно децис и Т-2 токсин. К 18 сут эксперимента у животных этой группы наблюдалось угнетение, взъерошенность шёрстного покрова, снижение аппетита, к 22 сут отмечались диарея, эрозии и некрозы кожи губ и слизистых оболочек ротовой полости. В группах, получавших токсины раздельно, клиническая картина интоксикации проявлялась в более поздние сроки и была менее выражена.

У овец, получавших только децис, количество эритроцитов к 30 сут снизилось на 10,2%; у овец, затравленных Т-2 токсином, количество эритроцитов снизилось незначительно. При сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина количество эритроцитов к 30 сут снизилось на 11,1%.

В первой группе в течение всего времени исследования крови количество лейкоцитов повышалось и к 30 сут было выше исходных данных на 10,3%. Во второй и третьей группах к 30 сут наблюдалось снижение этого показателя на 37,2 ($p<0,05$) и 34,0% ($p<0,05$), соответственно.

Наблюдалось достоверное снижение уровня гемоглобина во всех группах овец к 30 сут эксперимента: в первой группе – на 15,1% ($p<0,05$), во второй группе – на 16,6% ($p<0,05$), в третьей – на 19,5% ($p<0,05$).

СОЭ в первой группе к 30 сут достоверно увеличилась на 50,0% ($p<0,001$), во второй – на 25,0% ($p<0,01$), в третьей – на 13,0% ($p<0,05$).

3.5.2. Биохимические показатели крови овец при раздельном и сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина на уровне ПДК

Содержание общего белка в сыворотке крови всех подопытных овец, в течение всего эксперимента постоянно снижалось. Наиболее значительное снижение отмечалось к концу эксперимента, в группе овец, получавших совместно децис и Т-2 токсин – 23,4% ($p<0,05$), при поступлении только дециса – на 11,9%, Т-2 токсина – на 12,0%.

У овец, получавших децис, происходило угнетение активности холинэстеразы, и к 30 сут активность фермента была ниже первоначальных показателей на 19,1%; у овец, получавших Т-2 токсин, снижение активности в этот срок составило 23,8%; в группе овец, при сочетанном воздействии токсикантов – 26,1%.

Активность щелочной фосфатазы в крови овец первой группы к 30 сут увеличилась на 96,3% ($p<0,01$); во второй группе – на 50,9% ($p<0,05$); в третьей – на 116,9% ($p<0,001$).

Активность АЛТ в группе овец, получавших только децис, к 30 сут увеличилась на 28,7%, в группе овец с Т-2 токсином – на 24,5%, в группе овец,

при сочетанном воздействии токсикантов, – на 38,0% ($p<0,01$).

Активность АСТ в первой группе в течение эксперимента была незначительно выше первоначальных данных, а к концу исследований увеличилась на 9,7%. Во второй группе содержание АСТ к 30 сут увеличилось на 27,9%. Более значительное повышение активности данного фермента отмечалось в группе овец при сочетанном воздействии токсикантов - 43,1% ($p<0,05$).

Активность креатинкиназы в первой группе овец к 30 сут увеличилась на 15,2%; во второй группе – на 31,6% ($p<0,01$); в третьей - на 44,7% ($p<0,01$).

Активность ЛДГ в крови овец первой группы, в течение всего времени исследования, была незначительно выше исходных данных. Во второй и третьей группах животных заметные изменения данного фермента отмечались лишь к концу эксперимента и были выше первоначальных показателей на 19,2 и 24,1% ($p<0,05$) соответственно.

Установлено, что снижение глюкозы в крови овец, получавших отдельно децис и Т-2 токсин, произошло лишь к концу эксперимента и составило 9,4 и 13,4%, соответственно. При сочетанном воздействии этими токсикантами уменьшение концентрации глюкозы в крови овец было более значительным и составило 17,7% ($p<0,05$).

3.5.3. Патоморфологические изменения овец, получавших децис и Т-2 токсин дозами на уровне ПДК

При проведении патоморфологических исследований овец, получавших отдельно децис, видимых отклонений от нормы не наблюдалось. Миокард светло-красного цвета. Легкие среднего размера, бледно-розового цвета, плотной консистенции, края заострённые. Печень темно-вишнёвого цвета, упругая, в объёме не увеличена, плотной консистенции. Головной мозг без видимых изменений.

У овец, при введении Т-2 токсина, наблюдалось истощение, шёрстный покров был взъерошен. Миокард сероватого цвета, дряблый, сосуды эпикарда заполнены кровью. Печень темно-красного цвета, дряблая. Головной мозг отёчный, плотной консистенции, сосуды кровенаполнены.

При сочетанном введении овцам дециса и Т-2 токсина наблюдали следующие изменения: миокард светло-красного цвета, дрябловатый, сосуды эпикарда заполнены кровью. Печень темно-красного цвета, упругая, в объёме не увеличена. Головной мозг отёчный, плотной консистенции, сосуды кровенаполнены.

При проведении гистологических исследований было обнаружено, что длительная интоксикация Т-2 токсином приводит в первую очередь к выраженным внеклеточным и внутриклеточным отекам головного мозга, проводящей системы сердца и печени, замечено появление нейронов с

необратимыми изменениями.

Длительная интоксикация децисом также сопровождалось резко выраженным отеком. Наблюдалась белковая дистрофия печени с некрозами.

При сочетанном воздействии этих токсикантов обнаружили более значительные изменения, в частности, в головном мозге отмечались полнокровие, периваскулярный, перичеселлюлярный отек, сателлитоз, нейронофагия.

В сердце наблюдали отёк стромы, клетки проводящей системы резко увеличены, набухшие, некоторые безъядерные, в строме очаговые скопления лимфоцитов, гистиоцитов.

В печени гепатоциты увеличены, в цитоплазме определяются вакуоли, в некоторых клетках ядра разрушены, контуры нечеткие.

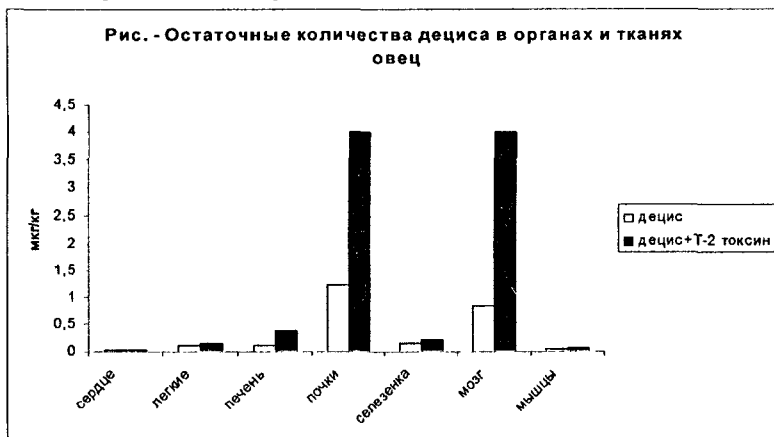
В почках выявили полнокровие, клубочки деформированы, отмечается пролиферация в клубочках и окружающей ткани, зернистая цитоплазма и набухание эпителия канальцев.

3.5.4. Остаточные количества дециса и Т-2 токсина в органах и тканях овец

После проведения убоя из каждой группы животных были отобраны пробы мышц и внутренних органов для определения в них остаточных количеств дециса и Т-2 токсина.

В органах и тканях овец, получавших Т-2 токсин отдельно и совместно с децисом, этот токсикант был обнаружен в следовых количествах.

Концентрация дециса в органах и тканях была выше при его совместном поступлении с Т-2 токсином. Наибольшее количество дециса обнаружено в почках: при совместном поступлении с Т-2 токсином – 4,0 мкг/кг, при раздельном – 1,23 мкг/кг; в мозге – 4,0 и 0,836 мкг/кг соответственно. В остальных органах концентрация дециса была значительно ниже (рис.).



Исходя из полученных результатов, можно сделать предположение, что Т-2 токсин при совместном поступлении с децисом способствует более медленному выведению последнего из органов и тканей животных.

3.6. Профилактическая эффективность бентонита при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина

Опыты проводились на овцах породы «Прекос» массой тела 30-40 кг. Для этого было сформировано две опытные группы по 3 гол в каждой. Животным первой группы в течение 2-х недель вводили децис и Т-2 токсин в дозе 1/10 ЛД₅₀ каждого из них, без применения профилактического средства, животным второй группы также в течение 2-х недель вводили оба токсиканта в дозе 1/10 ЛД₅₀ каждого из них, с добавлением в корм в качестве профилактического средства бентонита в дозе 2% от рациона.

3.6.1. Клинико-гематологические показатели овец при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина на фоне применения бентонита

Изменения клинического состояния у животных первой группы возникли на 8 сут эксперимента и характеризовались общим угнетением, снижением аппетита, саливацией, взъерошенностью шерстного покрова, диареей, тремором отдельных мышц конечностей, некротическим поражением слизистой ротовой полости. Во второй группе клинические признаки отравления у животных возникли к 12 сут эксперимента и характеризовались лишь снижением аппетита, угнетением, взъерошенностью шерстного покрова.

Количество эритроцитов в группе овец, получавших токсиканты без применения бентонита, за всё время исследования крови было ниже исходных показателей. Если к 5 сут снижение составило всего лишь 2,8%, то к 10 сут уже 15,6% ($p<0,05$), а к 15 сут – 21,4% ($p<0,01$). В группе овец, получавших вместе с токсикантами в качестве профилактического средства бентонит, отклонения от исходных показателей были менее выражены.

Количество лейкоцитов в крови овец первой группы в течение всего эксперимента также снижалось. Так, к 5 сут содержание белых клеток крови уменьшилось на 15,9% ($p<0,05$), к 10 сут – на 26,2% ($p<0,05$), к 15 сут – на 33,7% ($p<0,01$). Во второй группе достоверное снижение количества лейкоцитов наблюдалось лишь к 15 сут эксперимента и составило 17,3% ($p<0,05$).

Концентрация гемоглобина в крови у овец первой группы на 15 сут исследования уменьшилась на 18,1%. У животных во второй группе существенных отклонений показателя не наблюдалось. В течение эксперимента установлено достоверное повышение СОЭ у всех подопытных овец. В первой группе увеличение СОЭ на 5, 10 и 15 сут составило 31,0 ($p<0,01$); 50,0 ($p<0,001$) и 103,0% ($p<0,001$), соответственно, во второй 10,0 ($p<0,05$); 20,0 ($p<0,01$) и 52,0% ($p<0,001$) в эти же сроки исследования крови.

3.6.2. Биохимические показатели крови овец при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина в дозах 1/10 ЛД₅₀ на фоне применения бентонита

В ходе эксперимента количество общего белка в крови подопытных овец постоянно снижалось. Однако в первой группе эти изменения были более существенными и уменьшение этого показателя на 15 сут составило 19,1% ($p<0,05$), во второй группе - 11,3%.

Активность холинэстеразы крови овец, получавших токсиканты без добавления бентонита, к 5 сут снизилась на 6,7%, к 10 сут – на 17,3% ($p<0,05$), к 15 сут – на 32,0% ($p<0,01$). В группе овец, получавших вместе с токсикантами бентонит, в качестве профилактического средства, активность холинэстеразы к 5 сут уменьшилась всего на 2,6%, к 10 сут – на 5,1%, к 15 сут – на 15,4%.

Активность щелочной фосфатазы у овец первой группы через 5 сут увеличилась на 43,5% ($p<0,05$), к 10 сут - на 66,9% ($p<0,01$), к 15 сут – на 104,3% ($p<0,001$). Во второй группе активность этого фермента, относительно исходных показателей, к 5 сут увеличилась на 13,0%, к 10 сут – на 26,9% ($p<0,05$), к 15 сут - на 53,6% ($p<0,01$).

Уровень АЛТ в крови у овец первой группы в течение всего времени исследования был статистически достоверно выше, относительно исходных показателей. Так, на 5 сут опыта её активность увеличилась на 33,1% ($p<0,05$), к 10 сут – на 54,5% ($p<0,01$), к 15 сут – на 103,8% ($p<0,001$). Во второй группе также отмечались существенные изменения активности этого показателя. Так, к 5 сут увеличение АЛТ составило 14,6%, к 10 сут – 25,8% ($p<0,05$), к 15 сут – 54,2% ($p<0,01$).

Активность АСТ в крови овец первой группы к 5 сут эксперимента была выше исходных показателей на 20,4%, к 10 сут – на 28,9% ($p<0,05$), к 15 сут – на 38,0% ($p<0,05$). У овец второй группы активность АСТ была незначительно выше исходных показателей.

Значительные изменения активности креатинкиназы в крови животных наблюдались лишь в первой группе, к 5 сут она увеличилась на 11,3%, к 10 сут - на 16,7%, к 15 сут – на 31,0% ($p<0,05$); во второй группе овец существенных изменений этого показателя не отмечалось.

Активность ЛДГ существенно изменялась лишь у овец в первой группе. Так, повышение ЛДГ на 5 сут эксперимента составило 9,5%, к 10 сут – 16,3%, к 15 сут – 19,6% ($p<0,05$). Во второй группе активность фермента была незначительно выше уровня исходных показателей.

Содержание SH-группы в крови значительно уменьшилось у овец получавших только токсиканты. К 5 сут эксперимента снижение составило 9,8%, к 10 сут – 40,7% ($p<0,01$), к 15 сут – 60,4% ($p<0,01$). У овец, получавших вместе с токсикантами бентонит, содержание этого показателя к 5 сут снизилось на

5,5%, к 10 сут – на 19,2%, к 15 сут – на 30,9% ($p<0,05$).

Концентрация глюкозы в крови у овец в течение всего времени исследования постоянно снижалась. Причём более значительно у овец в непрофилактированной группе. Так, к 5 сут исследования крови содержание глюкозы уменьшилось на 8,0%, к 10 сут – на 12,2%, к 15 сут – на 16,0% ($p<0,05$). В группе овец, где применялся бентонит, концентрация глюкозы в крови уменьшилась к 5 сут на 5,0%, к 10 сут – на 7,8%, к 15 сут – на 11,2%.

Содержание ПВК у овец в первой группе к 5 сут снизилось на 20,7%, к 10 сут – на 42,7% ($p<0,05$), к 15 сут – на 62,3% ($p<0,01$); во второй группе – на 15,0, 20,6 и 30,1%, соответственно.

3.7.4. Остаточные количества дециса и Т-2 токсина в органах и тканях овец

В органах и тканях овец, получавших децис и Т-2 токсин без бентонита, микотоксин был обнаружен лишь в печени в количестве 12,4 мкг/кг. В профилированной группе овец Т-2 токсина в органах и тканях обнаружено не было.

Концентрация дециса в органах и тканях была выше, где профилактика не проводилась. Наибольшее количество дециса обнаружено в почках: без профилактики – 18,6 мкг/кг, с профилактикой – 5,3 мкг/кг; в мозге – 19,3 и 6,2 мкг/кг соответственно. В остальных органах концентрация дециса была значительно ниже: в печени – 4,2 и 2,3 мкг/кг, в селезёнке – 3,6 и 1,7 мкг/кг, в лёгких – 1,9 и 1,1 мкг/кг соответственно. В сердце и мышцах обнаружено лишь незначительное количество дециса.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что применение бентонита в качестве профилактического средства способствует меньшему накоплению дециса и Т-2 токсина в органах и тканях животных.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза дециса и Т-2 токсина для белых крыс при раздельном воздействии составляет: 45,8 и 3,0 мг/кг соответственно, при сочетанном – 38,3 и 1,8 мг/кг; для кроликов при раздельном: 356,7 и 0,54 мг/кг, при сочетанном – 290,0 и 0,46 мг/кг, что свидетельствует о взаимоусиливающем действии токсикантов; коэффициент кумуляции равен 4,8, что характерно для веществ с умеренной кумуляцией.

2. Сочетанное воздействие дециса и Т-2 токсина на уровне существующих ПДК для каждого токсина (децис – 0,01 мг/кг; Т-2 токсин – 0,1 мг/кг) оказывает эмбриотоксическое и тератогенное действие на организм белых крыс: предимплантационная гибель плодов увеличивается относительно контроля на 40,5%, постимплантационная гибель – на 47,1%, общая

эмбриональная смертность - на 40,6%.

3. Сочетанное воздействие дециса и Т-2 токсина при однократном и многократном введениях характеризуется более тяжёлыми клиническими, гематологическими, биохимическими и патоморфологическими изменениями, чем при раздельном воздействии токсикантов. Сопровождается уменьшением количества лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина на 34,0, 27,8 и 33,6% соответственно, снижением общего белка на 19,9%, повышением активности щелочной фосфатазы на 116,9%.

4. Результаты гистологических исследований свидетельствуют о том, что сочетанное воздействие дециса и Т-2 токсина приводит к более выраженным изменениям во всех органах и тканях организма животных по сравнению с раздельным поступлением токсикантов.

5. Установлено замедление выведения дециса из организма животных на фоне Т-2 токсина.

6. Включение в рацион овец бентонита (2%) оказывает профилактическое действие при сочетанном субхроническом отравлении децисом и Т-2 токсином, способствует нормализации клинических, гематологических и биохимических показателей животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Данные по токсикологической оценке сочетанного воздействия дециса и Т-2 токсина следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений животных.

2. В качестве средства профилактики при сочетанном воздействии дециса и Т-2 токсина на организм животных, рекомендуем добавлять бентонит в количестве 2% от рациона.

3. Результаты исследований использованы при составлении нормативно – технических документов – «Методические указания по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов», «Временные ПДК Т-2 токсина, кадмия и дециса при одновременном загрязнении ими кормов» и «Санитарно-микологическая оценка кормов и улучшение их качества», утверждённых директором ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; «Методические указания по профилактике микотоксикозов животных в Республике Марий Эл», утверждённые Начальником ГУВ РМЭ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тремасов, М.Я. О токсичности пиретроидов / М.Я. Тремасов, Г.Г. Галяутдинова, В.И. Егоров // Мат-лы Международной научно-практической конференции. Состояние и проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии в животноводстве - Чебоксары, 2004. - с.278-281.
2. Тремасов, М.Я. О сочетанном воздействии пиретроидов и микотоксинов / М.Я. Тремасов, А.В. Иванов, В.И. Егоров [и др.] // Материалы 3-го Всероссийского конгресса по медицинской микологии, Москва 24-25 марта, 2005 г. Центр. дом учёных Рос. Ак. наук «Успехи медицинской микологии». - 2005. - с.156-159.
3. Егоров, В.И. Об опасности синтетических пиретроидов для животных / В.И. Егоров, Г.Г. Галяутдинова, А.В. Иванов // Вестник ветеринарии. - Ставрополь, 2005. - №32 (1). - с.44-48.
4. Галяутдинова, Г.Г. Синтетические пиретроиды: клиника, механизм действия, поиск средств лечения острых отравлений / Г.Г. Галяутдинова, В.И. Егоров, А.И. Сергейчев [и др.] // Ветеринарный врач. - Казань, 2005. - №1. - с.26-31.
5. Иванов, А.В. Синтетические пиретроиды: опасность, профилактика и лечение отравлений животных / А.В. Иванов, Ю.Г. Боев, В.И. Егоров // Научная конференция «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга, посвящ. 45-летию института ФГНУ ВНИВИ, 14-15 апреля, 2005г. - Казань, 2005. - с.94-100.
6. Галяутдинова, Г.Г. Эмбриотоксическое и тератогенное действие синтетического пиретроида при однократном введении / Г.Г. Галяутдинова, М.Я. Тремасов, В.И. Егоров // Международная научно-практическая конференция посвящённая 75-летию зооинженерного факультета. - Казань, 2005. - с.206-207.
7. Галяутдинова, Г.Г. Изучение сочетанного действия Т-2 токсина и дециса на организм животных / Г.Г. Галяутдинова, М.Я. Тремасов, В.И. Егоров // Учёные записки КГАВМ. - Казань, 2005. - Т. 181. - с.36-41.
8. Егоров, В.И. Лечение животных при комбинированном воздействии синтетического пиретроида и микотоксина / В.И. Егоров // Мат-лы международного симпозиума «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний». - Казань, 2005. - с.93-95.
9. Иванов, А.В. К обоснованию ПДК пиретроидов и микотоксинов в кормах при сочетанном поражении / А.В. Иванов, Г.Г. Галяутдинова, В.И. Егоров [и др.] // Международная научно-производственная конференция

«Актуальные проблемы ветеринарной патологии животных, посвящённая 100-летию с рождения проф. Авророва А.А., 22-23 июня 2006 г. – Воронеж, 2006. – с.632-637.

10. Иванов, А.В. Случаи отравления крупного рогатого скота на пастбище / А.В. Иванов, Г.Г. Галяутдинова, **В.И. Егоров** [и др.] // Ветеринария. – 2006. - №8. – с.13-14.

11. **Егоров, В.И.** Гематологические и биохимические показатели овец при сочетанном воздействии децисом и Т-2 токсином / **В.И. Егоров**, Г.Г. Галяутдинова, Э.К. Папуниди // Международная научная конференция «Токсикозы животных и актуальные проблемы молодняка животных». – Казань, 2006. – с.105-108.

На правах рукописи

ЕГОРОВ ВЛАДИСЛАВ ИВАНОВИЧ

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
ДЕЦИСА И Т-2 ТОКСИНА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ И
ИЗЫСКАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.03—ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2007

Подписано в печать 29.01.07. Заказ 39

Формат А5. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГУ “ФЦТРБ-ВНИВИ” (г. Казань)

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