



003 165045

На правах рукописи

Комарова Ксения Александровна

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ
НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ**

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 ветеринарных наук**

0 6 МАР 2008

Москва 2008 г

Работа выполнена в лаборатории «Экология» Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИВВиМ РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ) и в лаборатории «Аналитической экотоксикологии» Института проблем экологии и эволюции им АН Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Научные руководители:

- доктор биологических наук Желтов Василий Алексеевич
- доктор ветеринарных наук, ст науч сотр Кушнир Анатолий Тимофеевич

Официальные оппоненты:

- профессор, доктор ветеринарных наук Таланов Герман Александрович
- кандидат ветеринарных наук Зубаиров Мурат Мухтарович

Ведущая организация: Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им. К.И. Скрябина

Защита диссертации состоится «5» марта 2008 г в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 006 008 01 при Государственном научном учреждении Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной санитарной гигиены и экспертизы (ГНУ ВНИИВСГЭ РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ) по адресу 123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарной гигиены и экспертизы (ГНУ ВНИИВСГЭ РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ)

Автореферат разослан «15» апреля 2008 г

Ученый секретарь диссертационного совета



Е С Майстренко

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Загрязнение природной среды обуславливает серьезную экологическую проблему и обоснованное беспокойство в связи с поступлением в окружающую среду (ОС) так называемых стойких органических загрязнителей (СОЗ). Среди этих соединений важное место занимают промышленные продукты, в том числе и полихлорированные бифенилы (ПХБ), которые входят в группы суперэкоотоксикантов и диоксиноподобных соединений (ДПС) [Майстренко, 1997, Федоров, 1993, Куценко, Данилина, Протопопов 1997, Ключев, 1993]

ПХБ весьма широко применялись в различных отраслях промышленности в качестве пластификаторов, компонентов высокотемпературных носителей, диэлектриков, антипиренов, наполнителей лаков, красок и т.д. Значительную их часть использовали для заполнения трансформаторов и конденсаторов. В СССР ПХБ выпускались в виде смесей с различными торговыми марками, из которых большую часть составляла марка Совтол [Ключев, Бродский, 2000, Авхименко, 2000, Трегер, Розанов, 2000]

Многообразие и непостоянный состав торговых марок ПХБ не позволили сертифицировать технические смеси этих препаратов в России подобно тому, как это сделано в ряде стран, таких как США, Германия, Япония, Франция и др. [Ключев, Бродский, 2000]. Практически в России для коммерческих смесей торговых марок ПХБ комплексных характеристик по физико-химическим показателям и биологической активности не имеется.

На протяжении всего периода производства и использования ПХБ в СССР и России контроль за этими веществами не осуществлялся [Порядин, 2000]

В мировой литературе отмечен ряд случаев массовых отравлений этими токсикантами диких и сельскохозяйственных животных [Желтов, 2001,2002, Комаров, 2003, Дмитров и др , 1986, Черняк и др , 1963, Фокина, 1982, Савинова и др , 2000, Firestone, 1973, Humphreys, 1988], а также выбраковки животноводческой продукции из-за превышения допустимых остаточных уровней ПХДД [Желтов, 2001,2002, Фокина, 1982, Wohld M , 1979, Езерская, Мальцев, 1978]

Наряду с острыми отравлениями большую озабоченность вызывает опасность хронического действия ПХБ на организм животных при поступлении с кормами и загрязнении остаточными количествами продуктов животноводства. Однако в отечественной литературе отсутствует описание клинической картины отравления кур ПХБ марки Совтол и не рассмотрены вопросы накопления остаточных количеств ПХБ в органах и тканях птиц.

В промышленном птицеводстве одной из серьезных проблем по-прежнему остаются опасные инфекционные болезни, в том числе Ньюкаслская болезнь (НБ). Так, в 1998 году, несмотря на тотальную иммунизацию, в мире было зарегистрировано 2580 опустошительных вспышек НБ [Орлов, 2004].

В литературе отмечено, что ПХБ способны подавлять защитные функции организма при воздействии неблагоприятных физических, химических и инфекционных факторов. Сведений о влиянии ПХБ на поствакцинальный иммунитет у сельскохозяйственных животных в литературе не имеется.

Цель и задачи исследований

Целью исследований явилось изучение влияния смеси полихлорированных бифенилов марки Совтол на организм некоторых сельскохозяйственных и лабораторных животных.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи

- 1 Охарактеризовать образец Совтола по конгенерному составу и биологической активности,
- 2 Изучить клиническое проявление интоксикации у животных Совтолом по сравнению с 2,3,7,8- тетрахлордibenзо-п-диоксином,
- 3 Изучить накопление остаточных количеств конгенеров Совтола в организме цыплят при употреблении загрязненных кормов,
- 4 Изучить эффективность цеолита, применяемого для предотвращения поступления конгенеров Совтола в организм цыплят,
- 5 Установить влияние Совтола на иммунитет у цыплят при НБ

Научная новизна

- 1 Дана комплексная характеристика биологической активности смеси ПХБ марки Совтол на белых крысах, курах, цыплятах, куриных эмбрионах, культурах клеток и микросомах
- 2 Изучены в сравнительном плане параметры острой токсичности и клинические проявления интоксикации для белых крыс и кур Совтолом и 2,3,7,8-ТХДД
- 3 Определены содержание конгенеров ПХДД/Ф и ВОЗ-ПХБ в смеси ПХБ марки Совтол
- 4 Получены сведения о распределении Совтола в органах и тканях кур и цыплят
- 5 Оценена эффективность цеолита для снижения тяжести интоксикации ПХБ и накопления Совтола в организме цыплят
- 6 Установлено влияние Совтола на уровень накопления поствакцинальных антител к Ньюкаслской болезни у цыплят и устойчивость вакцинированных птиц к полемому штамму – Т-53

Практическая значимость

В результате проведенных исследований получены данные, характеризующие смесь ПХБ Совтол по биологической активности. Выявлено его влияние на организм кур и цыплят, установлены особенности распределения и накопления. Установлено влияние на иммунитет при НБ. Полученные сведения могут быть использованы для обоснования мероприятий по диагностике отравлений животных, санитарно-гигиеническому регламентированию продуктов животноводства и разработки рекомендаций по вакцинации цыплят при НБ. Предложена скрининговая методика для оценки содержания ПХБ в кормах.

Основные положения, выносимые на защиту

- комплексная характеристика биологической активности смеси ПХБ марки Совтол на белых крысах, курах, цыплятах, куриных эмбрионах, культурах клеток и микросомах
- параметры острой токсичности и клинические проявления интоксикации для белых крыс и кур Совтолом и 2,3,7,8-ТХДД
- характеристика содержания конгенов ПХДД/Ф и ВОЗ-ПХБ Совтола,
- данные о распределении и накоплении Совтола в органах и тканях кур и цыплят при интоксикации,
- данные о формировании поствакцинального иммунитета у цыплят к вирусу Ньюкаслской болезни при интоксикации Совтолом

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на

- заседаниях ученого совета ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии 2003 – 2005 гг.,

- Международной научно – практической конференции молодых ученых «Проблемы мониторинга и генодиагностики инфекционных болезней животных» г Владимир, 2004г,
- Международной научно – практической конференции «Болезни диких животных» г Покров, 2004г,
- Международные симпозиумы «Диоксин-2004» (Берлин, ФРГ), «Диоксин-2005» (Торонто, Канада),
- Международная конференция «Экоаналитика - 2006» (Самара, Россия)

Публикации результатов

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ

Личный вклад

Основная часть исследований выполнена лично автором В проведении отдельных этапов исследований принимали участие ведущий научный сотрудник лаборатории "Экология" ГПУ ВНИИВВиМ к б н А Л Лавров, сотрудники лаборатории аналитической экотоксикологии ИПЭЭ им А Н Северцова РАН д х н Е С Бродский, к х н Д Б Фешин, к х н Г А Калинкевич, к х н А А Шелепчиков, за что автор выражает искреннюю признательность

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложений, списка литературы и приложения Работа иллюстрирована 19 таблицами, 15 рисунками Список литературы включает 181 источник, в том числе 71 зарубежный

2. Собственные исследования

Работа выполнена в 2001 – 2003 гг в лаборатории “Экологии” Государственного научного учреждения Всероссийского государственного научно-исследовательского института ветеринарной микробиологии и вирусологии Россельхозакадемии в рамках темы и в лаборатории «Аналитической экотоксикологии» Института проблем экологии и эволюции им А Н Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Для решения поставленных задач в работе использованы животные белые крысы породы Вистар в количестве 65 голов, цыплята породы Леггорн белый кросс Хайтек в количестве 205 голов, куры породы Леггорн белый кросс Хайтек в количестве 95 голов, 9-дневные куриные эмбрионы от кур породы Леггорн белый кросс Хаитек в количестве 143 штук, культуры клеток ВНК-21, ПС, культура простейших *Tetrahymena* *rufiginis*, реактивы смесь ПХБ марки Совтол производство ГСО 7821-2000, 2,3,7,8-ТХДД 96 % по ДВ, ДМСО, х.ч ТУ 6-09-3818-77, цеолит природный – Пегасин (ТУ 10 РФ 1077-92), вакцина против НБ из штамма Ла-Сота с биологической активностью $9,0 \log \text{ ЭИД}_{50}/\text{мл}$, вирус НБ (эпизоотический) штамм Т-53 с биологической активностью $9,0 \log \text{ ЛД}_{50}/\text{мл}$

3. Результаты собственных исследований

3.1. Характеристика ПХБ в образце Совтола с использованием хромато-масс-спектрометрии.

Для оценки состава Совтола провели его анализ на содержание ПХБ, ПХДД и ПХДФ. Результаты представлены в таблице 1, из данных которой следует, что в составе Совтола имеется 11 регламентируемых конгенов ПХБ с уровнем $\Sigma \text{WHO} - \text{TEQ}$ 94052 0 нг/г и 10 регламентируемых конгенов ПХДФ с $\Sigma \text{WHO} - \text{TEQ}$ 1206018 1 пг/г ($\Sigma \text{ I-TEQ}$ 1206078 2 пг/г), в том числе 2,3,7,8-ТХДФ с уровнем 16176 91 пг/г. В образце не имеется представителей ПХДД.

Таблица 1

Содержание конгенов ПХДД/Ф и WHO ПХБ в Совтоле

конгены	I-TEQ, пг/г	конгены	TEQ, пг/г
2,3,7,8-ТХДД	n d	PCB-81	196 13
1,2,3,7,8-ПeXДД	n d	PCB-77	169 34
1,2,3,4,7,8-ГкХДД	n d	PCB-123	753 06
1,2,3,6,7,8- ГкХДД	n d	PCB-118	32653 1
1,2,3,7,8,9- ГкХДД	n d	PCB-114	6195 48
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	n d	PCB-105	14498 8
ОХДД	n d	PCB-126	25611 7
2,3,7,8-ТХДФ	16176.91	PCB-167	380 52
1,2,3,7,8- ПeХДФ	28897 69	PCB-156	10818 2
2,3,4,7,8- ПeХДФ	810893 59	PCB-157	2745 37
1,2,3,4,7,8- ГкХДФ	182781 13	PCB-169	0
1,2,3,6,7,8- ГкХДФ	59143 78	PCB-189	30 26
1,2,3,7,8,9- ГкХДФ	44406 19	Σ WHO-TEQ, пг/г	94052.0
2,3,4,6,7,8- ГкХДФ	57264 72		
1,2,3,4,6,7,8- ГпХДФ	3054 89		
1,2,3,4,7,8,9- ГпХДФ	3392 48		
ОХДФ	66 88		
Σ I-TEQ, пг/г	1206078.2		
Σ WHO-TEQ, пг/г	1206018.1		

3.2. Влияние Совтола на индукцию гидролазы ароматических углеводов

Цыплятам трехдневного возраста орально через зонд вводили эмульсии токсикантов Совтол, 2-хлорбифенил, 4,4-хлорбифенил, 4-хлорбифенил, метилхолантрен, бензантрацен, 2,4,5-Т, гексахлорбензол, ДДТ, ДДЕ в дозе 100 мкг/кг. Для сравнения использовали образец 2,3,7,8-ТХДД из расчета 0,12 мкг/кг. При этом доза эталонного препарата 2,3,7,8-ТХДД (одного из наиболее эффективных индукторов ГАУ) в 10000 раз меньше по сравнению с другими токсикантами. Активность ГАУ, индуцируемая 2,3,7,8-ТХДД была принята нами за единицу. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние токсикантов на активность ГАУ печени цыплят

Соединения	Доза токсиканта	Активность ГАУ относительно 2,3,7,8 – ТХДД
2,3,7,8-ТХДД	0,12 мкг/кг	1,0
Совтол (смесь три-, тетра- и пентабифенилов)	100 мкг/кг	$0,58 \pm 0,12$
2-хлорбифенил	100 мкг/кг	$0,07 \pm 0,010$
4-хлорбифенил	100 мкг/кг	$0,07 \pm 0,010$
4,4 ¹ -хлорбифенил	100 мкг/кг	$0,19 \pm 0,030$
Метилхолантрен	100 мкг/кг	$0,20 \pm 0,020$
2,4,5-Т	100 мкг/кг	$0,1 \pm 0,020$
Бензантрацен	100 мкг/кг	$0,09 \pm 0,010$
ДДЕ	100 мкг/кг	$0,12 \pm 0,021$
Гексахлорбензол	100 мкг/кг	$0,06 \pm 0,010$
ДДТ	100 мкг/кг	$0,06 \pm 0,011$
Контроль	100 мкг/кг	$0,06 \pm 0,010$

Из представленных данных в таблице видно, что активность Совтола составляет 0,58 и уступает 2,3,7,8-ТХДД приблизительно в 20000 раз. Тем не менее, эти результаты свидетельствуют о наличии конгенеров, содержащихся в Совтоле, способных взаимодействовать с Ah-рецепторами. Следовательно, в механизме действия Совтола отмечается наличие диоксиноподобных эффектов. Несколько приближенный эффект по индукции показали метилхолантрен (0,2) и 4,4-хлорбифенил (0,19), другие препараты значительно уступали по действию, либо не проявляли эффективности.

3.4. Влияние Совтола на *Tetrahymena periformis*

В результате проведенных исследований были получены следующие данные. По истечении 30 минут у инфузорий не наблюдалось равномерного броуновского движения, по истечении 2 часов нормальное движение наблюдали у 25%-50% инфузорий, в зависимости от дозы, по истечении 4 часов - у 50%-75% инфузорий.

Изменение формы и движения инфузорий наблюдали в течение всего эксперимента, чем больше доза, тем больше процент инфузорий с измененной формой.

3.5. Влияние Совтола на культуры клеток и куриные эмбрионы

Экспериментальные исследования по оценке токсичности Совтола выполнялись на культурах клеток ВНК-21, ПС и куриных эмбрионах. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3

Токсичность Совтола для культур клеток и куриных эмбрионов

Культура клеток	Дозы Совтола в пробе, мг/мл (max - min)	Ig ТЦД ₅₀ (ТЦД ₅₀ в мг)	Степень разведения материала
ВНК-21	400 - 0,39	0,34 ± 0 (2,21 мг)	1 256
ПС	200 - 0,05	0,04 ± 0,16 (1,12 мг)	1 256 – 1 512
КЭ	50 – 0,004	1,03 ± 0,17 (12,62 мг)	1 4

Из данных таблицы 3 видно, что Совтол оказывает токсическое воздействие на культуру клеток ВНК-21 в концентрации 2,21 мг (при разведении до 1 256), а на культуру клеток ПС в концентрации 1,12 мг в пробе (при разведении пробы 1 256 - 1 512), что свидетельствует о высокой чувствительности этих культур клеток к изучаемому токсиканту. Растворитель также токсичен для данных культур клеток, но в значительно

больших концентрациях, и уже в разведениях выше 1:4 – 1:8 на культуру клеток не воздействует

Таким образом, показано, что культуры клеток ПС и ВНК-21 чувствительны к воздействию Совгола, и могут быть предложены для выявления токсиканта Совтола в концентрациях от 1-2-х мг и выше в пробе

Куриные эмбрионы в испытанных дозах оказались сравнительно устойчивы к действию Совтола. Широкий разброс положительных результатов видимо, обусловлен определенной толерантностью к диоксиноподобным веществам, что не позволяет рекомендовать КЭ для целей индикации Совтола в объектах внешней среды. Толерантность видимо, обусловлена тем, что куры-несушки в той или иной мере постоянно потребляют с кормом диоксиноподобные вещества

3.6. Острая токсичность Совтола и 2,3,7,8-ТХДЦ для белых крыс

Экспериментальные исследования по оценке токсичности Совтола выполнены на белых крысах, которые орально через зонд были затравлены Совтолом в дозах мг/кг 2000, 3000, 4000, 5000, 6000. Контрольная группа получила соответствующий объем растворителя. Результаты представлены в таблице 4

Таблица 4

Острая оральная токсичность Совтола для белых крыс

Группы животных	Доза Совтола (мг/кг)	Эффект пало/всего гол	Сроки гибели (сутки)
Подопытные	2000	0/5	-
	3000	0/5	-
	4000	0/5	-
	5000	1/5	30-40
	6000	2/5	7-10
Контрольные	0	0/5	-

По результатам экспериментов ЛД₅₀ составила 7318,95+-1035,1 мг/кг, ЛД₁₆ составила 4607,35 ± мг/кг, ЛД₈₄ составила 11626,42 ± мг/кг

В сравнительном плане были проведены эксперименты по оценке острой токсичности 2,3,7,8-ТХДД для белых крыс. Исследования выполнили на 35 животных, разделенных на семь групп, по пять голов в каждой. Контрольные животные получили соответствующий объем растворителя. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Острая токсичность 2,3,7,8-ТХДД для белых крыс при оральном введении

Группы животных	Доза 2,3,7,8-ТХДД (мг/кг)	Эффект пало/всего гол	Сроки гибели (сутки)
Подопытные	0,01	0/5	-
	0,02	1/5	20
	0,04	2/5	20-25
	0,06	4/5	20-30
	0,08	5/5	15-30
	0,1	5/5	10-30
Контрольные	0	0/5	-

По результатам эксперимента ЛД₅₀ составила 0,045±0,0076 мг/кг, ЛД₁₆ составила 0,018 мг/кг, ЛД₈₄ составила 0,062 мг/кг

В группах, получавших максимальные дозы токсиканта, наблюдали гибель поголовья в течение первых трех недель после затравки. Через пять-шесть дней после затравки у животных отмечали первые признаки интоксикации в виде снижения двигательной активности, «неопрятным видом», неохотным потреблением корма и воды. В дальнейшем отмечали утяжеление симптомов интоксикации, у отдельных особей наблюдали диарею и выделения из глаз и носа. У крыс, получивших дозы Совтола 4000 и 5000 мг/кг на 30-35 сутки наблюдения появились признаки поражения нервной системы: ригидность мышц шеи, нарушение координации движения, ослабление рефлексов на внешние раздражители.

(свет, звук) При введении Совтола в дозах 2000 и 3000 мг/кг у крыс отметили симптомы поражения легких затруднение дыхания, кровотечения из носа У нескольких подопытных крыс обнаружили катаракту, а в дальнейшем слепоту Снижение прироста массы тела наблюдали в течение всего опыта

Крысы, получавшие 2,3,7,8-ТХДД, за два-три дня до гибели лежали на боку и не реагировали на внешние раздражители (звук, свет)

При вскрытии погибших крыс отмечали истощение, атрофию селезенки, дистрофию печени, катаральные воспаления в ЖКТ В ряде случаев обнаруживали воспалительные процессы в легких Однако, у крыс получавших Совтол наличие жидкости в грудной и брюшной полостях не выявили

3.7. Острая токсичность Совтола и 2,3,7,8-ТХДД для молодняка кур

Исследования токсичности Совтола провели на молодняке кур, которым орально вводили Совтола в дозах мг/кг 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Контрольные животные получали аналогичный объем растворителя Результаты экспериментов представили в таблице 6

Таблица 6

Острая токсичность Совтола для кур при однократном оральном поступлении

Группы животных	Доза Совтола (мг/кг)	Эффект пало/всего гол	Сроки гибели (сутки)
Подопытные	2000	2/5	-
	3000	3/5	-
	4000	5/5	30-40
	6000	5/5	30-40
	8000	5/5	7-10
Контрольные	0	0/5	-

По результатам исследований ЛД₅₀ составила 2357,4±387,18 мг/кг, ЛД₁₆ -1448,9 мг/кг, ЛД₈₄ - 3673,5 мг/кг

В сравнительном плане были проведены исследования острой оральной токсичности 2,3,7,8-ТХДД на пяти группах кур, по пять голов в группе. Опыт выполнили введением токсиканта орально через зонд, содержащего соответственно по группам следующие дозы токсиканта мг/кг 0,01, 0,02, 0,06, 0,1. Контрольные животные получили в таком же объеме водный раствор.

Результаты исследований представлены в таблице 7

Таблица 7

Острая токсичность 2,3,7,8-ТХДД для кур при однократном
оральном введении

Группы животных	Доза 2,3,7,8-ТХДД (мг/кг)	Эффект пало/всего гол	Сроки гибели (сутки)
Подопытные	0,01	0/5	-
	0,02	1/5	40
	0,06	2/5	30-32
	0,1	4/5	30-40
Контрольные	0	0/5	-

По результатам исследования LD_{50} составила $0,07 \pm 0,0077$ мг/кг, LD_{16} – 0,013 мг/кг, LD_{84} - 0,103 мг/кг

Первые клинические признаки у птиц, затравленных Совтолом отмечались уже через три дня после затравки, у кур, затравленных 2,3,7,8-ТХДД через 5-10 дней. Клинические наблюдения показали, что после затравки у подопытных кур отмечали угнетение общего состояния, взъерошенность перьевого покрова, гиподинамию, снижение потребления воды и корма. Одним из наиболее выраженных признаков интоксикации являлось прогрессирующее снижение массы тела. В последующие сроки симптомы интоксикации нарастали, за два-три дня до гибели животные лежали на боку и не принимали воду и корм. Гибель птиц регистрировали в интервале 30-40 дней от момента затравки.

При вскрытии погибших кур отмечали истощение, уменьшение размеров селезенки, дистрофию печени, катаральное воспаление в ЖКТ. У кур, получавших 2,3,7,8-ТХДД, в отличие от кур, получавших Совтол, отмечали скопление серозной жидкости в перикардиальной и грудобрюшной полостях.

3.8. Клинические проявления интоксикации Совтолом у цыплят при скармливании загрязнённого корма

Эксперименты выполнены на цыплятах трехдневного возраста. Цыпленок количеством 100 голов были разделены на пять групп по 20 голов в каждой. Четыре группы получали корм загрязненный Совтолом соответственно в дозах мг/кг корма - 0,02, 0,2, 2,0, 20,0. Контрольная группа получала чистый корм. Кормление опытных цыплят осуществляли в соответствии с зоотехническими нормами.

По результатам опыта отмечали гибель наибольшего количества подопытных цыплят в первую неделю опыта. Во всех подопытных группах отмечали снижение массы тела по сравнению с контролем.

Клинические проявления интоксикации выявлялись уже в первую неделю в виде малоподвижности, неопрятного вида, плохого поедания корма. Перед гибелью наблюдали обездвиженность в течение одних-двух суток.

При вскрытии трупов погибших цыплят отмечали истощение, бледность слизистых оболочек, дистрофию печени, атрофию тимуса и селезенки, в желудочно-кишечном тракте катаральное воспаление. Следует подчеркнуть, что не было выявлено наличие жидкости в грудобрюшной полости и сердечной сумки.

3.9. Определение остаточных количеств Совтола в организме цыплят

По окончании опыта животных убивали. В их органах были определены остаточные количества ПХБ с применением газовой

хроматографии с детектором захвата электронов (ГХ-ЭЗД) и хромаго-масс-спектрометрическим контролем

Данные о суммарном содержании ПХБ и оценочные уровни ПХД/ДФ и WHO ПХБ в печени, куриных яйцах, грудных и ножных мышцах представлены в таблицах 8 и 9

Таблица 8

Концентрации ПХБ в печени, яйцах, мышцах кур и цыплят

Объект исследования		Суммарное содержание ПХБ, мкг/г сырого веса	Суммарное содержание ПХБ, мкг/г жира	Оценочное содержание WHO-TEQ _{ПХБ} , нг/г жира	Оценочное содержание WHO-TEQ _{ПХД/ДФ} , нг/г жира
Куры	Печень	0 12	2 59	0 24	0 003
	Яйца	0 05	1 21	0 11	0 001
	Грудные мышцы	0 05	3 08	0 29	0 004
	Ножные мышцы	0 01	0 83	0 08	0 001
Цыплята	Печень	0 49	12 76	1 20	0 015
	Грудные мышцы	0 27	15 60	1 47	0 019
	Ножные мышцы	1 57	40 27	3 79	0 049

Таблица 9

Концентрации ПХБ в использованных кормах

	Суммарное содержание ПХБ, мкг/г сырого веса	Суммарное содержание ПХБ, мкг/г жира
Мясокостная мука	0 07	2 12
Комбикорм	0 01	0 09
Рыбий жир	-	4 87

Как видно из данных таблицы, преимущественное накопление ПХБ наблюдается у молодняка кур в возрасте 160 дней в печени и яйцах, у цыплят – в ножных мышцах. Также очевидно, что уровни ПХБ в тканях кур значительно ниже, чем в тканях цыплят. Это, по всей видимости, связано с выводом части ПХБ из организма кур с яичной продукцией.

Довольно высокие уровни ПХБ были обнаружены в тканях контрольной группы цыплят. По всей видимости, это связано с

использованием в качестве кормовой добавки рыбьего жира, уровень ПХБ в котором достигает уровня ПДК для пищевых продуктов

Для различных тканей молодняка кур оценочные уровни WHO ПХБ достигают значений от 0,08 до 2,42 нг/г жира. Уровни ПХДД/Ф – от 0 001 до 0 031 нг/г жира. Концентрации WHO ПХБ в тканях цыплят оцениваются на уровне от 1 2 до 24 45 нг/г жира.

3.10. Влияние цеолита на интоксикацию цыплят Совтолом

Эксперименты выполнены на молодняке кур 4-хмесячного возраста. Две группы получали корм, загрязнённый Совтолом соответственно в дозах 2,0 и 20,0 мг/кг. Другие две группы одновременно с Совтолом в тех же дозах получали сорбент – природный цеолит из расчета 3 % от общего объема корма. Контрольная группа содержалась на чистых кормах. По результатам проведенных опытов цеолит не оказал какого-либо существенного влияния на накопление и распределение конгенов Совтола.

3.11. Уровень накопления поствакцинальных антител в сыворотке крови цыплят при интоксикации Совтолом

В первой серии экспериментов опыт провели на пяти группах цыплят по 19 голов в каждой группе, продолжительность составила 45 дней. С 3-х дневного возраста подопытные птицы получали корм, загрязненный Совтолом из расчета 0,02, 0,2, 2,0, 20,0 мг/кг корма. Контрольная группа получала чистый корм. Цыплят в возрасте 15 суток, а затем через 14 дней вакцинировали в соответствии с «Наставлением по применению вирусвакцины сухой против Ньюкаслской болезни птиц из штамма «Ла-Сота» [2004] и методическим рекомендациям по аэрозольной иммунизации птиц против НБ (псевдочумы). Титр антител определяли в реакции задержки гемагглютинации (РЗГА). Результаты представлены на рис 1.

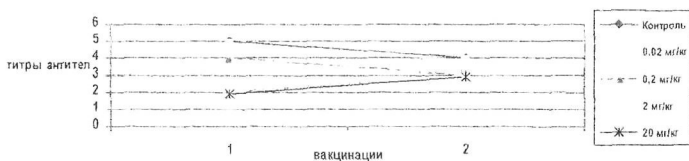


Рис. 1 Титры антител подопытных групп

Принято считать, что титр антител к вирусу НБ в сыворотке крови привитых птиц должен быть не ниже $4,0 \log_2$ (1:16). Из представленных в таблице данных видно, что при минимальном загрязнении корма Совтолом с концентрацией 0,02 мг/кг титры не отличаются от контрольной группы, а при возрастающих концентрациях Совтола 0,2; 2,0; 20,0 мг/кг титры антител снижались и составили соответственно $3,0 \log_2$. Результаты указывают на негативное влияние Совтола в этих концентрациях на формирование поствакцинального иммунитета к НБ, и не обеспечивают полноценную защиту птиц, что служит основанием для ревакцинации.

3.12. Устойчивость вакцинированных цыплят к заражению эпизоотическим вирусом НБ на фоне интоксикации Совтолом

Цыплят в количестве 45 голов разделили на 3 группы по 15 голов в каждой. Контрольная группа получала чистый корм, две группы ежедневно получали корм, загрязнённый токсикантом. Совтол скармливали в дозах — 2,0 мг/кг, 20 мг/кг, из расчёта мг на кг корма. Загрязнённым кормом цыплят кормили с 3-хдневного возраста, продолжительность эксперимента составляла 45 дней, по ходу эксперимента за животными велось наблюдение. Цыплят дважды в 15-дневном и 30-дневном возрастах аэрозольно вакцинировали против Ньюкаслской болезни сухой вирусвакциной из штамма Ла-Сота в соответствии с "Наставлением по применению". После каждой вакцинации определяли титр антител в сыворотке крови в реакции задержки гемагглютинации (РЗГА). Результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10

Формирование защиты от НБ у цыплят на фоне интоксикации Совтолом

	Титры антител у цыплят опытных групп ($\log_2$)		
	контрольная	Совтол 2 мг/кг	Совтол 20 мг/кг
После 1-й вакцинации	7,5	7,5	4,0
После 2-й вакцинации	5,1	3,5	5,0
Защита от контрольного заражения %	100	60	25

Данные таблицы свидетельствуют о негативном влиянии Совтола на формирование поствакцинального иммунитета к НБ. Так после первой прививки титры были на критически низком уровне у цыплят, получавших корма с 20 мг/кг Совтола, всего 4 $\log_2$, в сравнении с контрольной группой и группой, поедавшей корм, загрязненный Совтолом из расчета 2 мг/кг корма.

После второй вакцинации, проведенной через 15 дней после первой, когда титры антител продолжали нарастать, отмечается отрицательная сероконверсия в контрольной группе и группе, получавшей с Совтолом 2 мг /кг корма. Это объясняется нейтрализацией антител вакцинным вирусом при второй прививке. В группе цыплят, получающих корм с 20 мг Совтола на 1 кг, отмечена незначительная положительная сероконверсия, которая объясняется низким уровнем антител после первой прививки и слабым уровнем нейтрализации вакцинного вируса, что и привело к положительной сероконверсии. Однако уровень защиты у цыплят на фоне интоксикации обеими дозами оказался существенно ниже, чем в контроле. Эффект иммунизации имеет тенденцию к повышению при снижении уровня интоксикации Совтолом.

На 45 день опыта цыплят подвергли контрольному заражению полевым штаммом Т-53. В контрольной группе гибели цыплят не наблюдали. В группе, получившей корм с концентрацией Совтола 2,0 мг/кг из 15 цыплят погибло 6 голов, а в группе с большей концентрацией (20,0 мг/кг) из 8 голов погибло 6 птиц.

Клиническая картина гибели птиц соответствовала острой нервно-паралитической форме поражения НБ. У подопытных птиц наблюдали поражение органов респираторной системы, скопление слизи в ротовой и носовой полостях, «каркающее» дыхание.

При патологоанатомическом вскрытии в контрольной группе наблюдали классическую картину Ньюкаслской болезни: гепатит, кровоизлияния почек, кровоизлияния на границе между железистым и мускульным желудочками, кровоизлияния на сердце. У подопытных групп помимо вышеперечисленных признаков наблюдали нефриты, гнойное воспаление легких и гепатизацию легких.

3.13. Разработка методики выполнения измерений суммарного содержания ПХБ в кормах методом перхлорирования и газожидкостной хроматографии с электрозахватным детектором

Методика основана на экстракции ПХБ из анализируемой пробы с добавлением внутреннего стандарта имитатора - 4-фтордифенилового эфира, очистки экстракта и перхлорирования с помощью модифицированного агента ВМС, последующей экстракции смеси, очистки и определения суммарного содержания ПХБ в виде декахлорбифенила (ДХБ). Оценка содержания ПХБ проводится путем сравнения определяемого показателя – соотношения площадей пиков перхлорированного внутреннего стандарта имитатора и ДХБ с градуировочным графиком. Минимальное определяемое количество в хроматографируемом объеме (1 мкл) составляет 1 нг ДХБ.

Выводы

1 Смесь полихлорированных бифенилов марки Совтоп содержит в своем составе 11 регламентированных ПХБ (по системе ЮПАК №-№ 77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 189) с Σ ТЕQ 120607,2 пг/г и 10 ПХДФ (2,3,7,8 – ТХДФ, 1,2,3,7,8 – ПеХДФ, 2,3,4,7,8 – ПеХДФ, 1,2,3,4,7,8 – ГкХДФ, 1,2,3,6,7,8 – ГкХДФ, 1,2,3,7,8,9 – ГкХДФ, 2,3,4,6,7,8 – ГкХДФ, 1,2,3,4,6,7,8 – ГпХДФ, 1,2,3,4,7,8,9 – ГпХДФ, ОХДФ) с Σ ТЕQ 94052,0 пг/г

2 Совтол по острой токсичности при оральном поступлении можно отнести для белых крыс к малоопасным веществам (IV класс, ЛД₅₀ – 7318,95 мг/кг), а для кур умеренно опасным веществом (III класс, ЛД₅₀ – 2357,4 мг/кг)

Однако выраженное токсичное влияние на микросомы, тетрахимену, культуры клеток и куриные эмбрионы, и наличие в Совтоле регламентируемых конгенов ПХБ и ПХДФ с диоксиноподобным действием позволяет рассматривать ее как чрезвычайно опасную смесь

3 Клинические признаки интоксикации Совтолом и патологоанатомические изменения сходны с отравлением 2,3,7,8-ТХДД, но имеются и отличия, основное из которых – отсутствие гидроперикардитов и асцитов

4 Использование в течение 45 дней кормов, загрязненных Совтолом с концентрацией 2 и 20 мг/кг, вызывает гибель цыплят от 40 до 60 % поголовья и проявление симптомов интоксикации у кур

5 Преимущественное накопление остаточных количеств ПХБ Совтола у цыплят происходит в мышцах ног, а у кур в печени и яичной продукции

6 Внесение в рацион кур 3 % цеолита не оказывает существенного влияния на накопление и распределение ПХБ, поступающего с кормом в организм кур

7 На фоне интоксикации Совтолом у привитых против НБ цыплят уровень антител значительно ниже, а защита от полевого вируса после двукратной прививки составляет 25 – 60 %

8 Полихлорированные бифенилы марки Совтол оказывают негативное влияние на физиологические функции организма животных и формирование поствакцинального иммунитета к вирусу НБ птиц

9 Разработанная методика выполнения измерений суммарного содержания ПХБ в кормах методом перхлорирования и ГЖХ позволяет обнаруживать до 1 нг ДХБ в 1 мкл хроматографируемого объема

Практические предложения

Результаты проведенных исследований были использованы при разработке «Методики выполнения суммарного содержания полихлорированных бифенилов в кормах методом перхлорирования и газожидкостной хроматографии с электрозахватным детектированием»

Полученные результаты могут быть использованы при разработке мероприятия по профилактике и диагностике отравлений кур полихлорированными бифенилами и при проведении вакцинаций кур против НБ

Для индикации ПХБ в кормах могут быть использованы методики с применением *Tetrahymena Periformis* и культурами клеток ПС и ВНК-21

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

- 1 Влияние полихлорированных бифенилов, кадмия и свинца на организм свинца / Комарова К А , Бородина О В , Крюков Д А // материалы международной научно – практической конференции

- молодых ученых г Владимир «Проблемы мониторинга и генодиагностики инфекционных болезней животных», 2004г,
- 2 Индукция микросомальных ферментов печени цыплят под влиянием Совтола / Комарова К А // материалы международной научно – практической конференции молодых ученых г Владимир «Проблемы мониторинга и генодиагностики инфекционных болезней животных», 2004г,
 - 3 Токсическое действие Совтола / Комарова К А // материалы международной научно – практической конференции «Болезни диких животных» г Покров, 2004г,
 - 4 Влияние кормов, загрязненных ПХБ, на организм кур и цыплят / К А Комарова, Д Б Фешин, В А Желтов, А Т Кушнир и др // Сибирская язва и другие опасные инфекционные болезни животных материалы по темам работы круглого стола приуроченного к 80-летию академика РАСХН Бакулова И А , г Покров, 2005г,
 - 5 Bioaccumulation and distribution of PCBs in hens and chickens / Feshin D B , Komarova K A , Zheltov V A , Brodsky E S , Kalinkevich G A , Shelepchikov A A , Boukhanko N G // Organohalogen compound - 2005 – Vol 67 - P 1498-1501
 - 6 Влияние кормов, загрязненных ПХБ, на организм кур и цыплят / Фешин ДБ, Комарова К А, Желтов В А, Калинкевич Г А, Буханько Н Г, Бродский Е С. // Ветеринария – 2006 - № 8 - С 48-52
 - 7 Влияние ПХБ и дибензофуранов на организм кур при их поступлении с кормами / К А Комарова, Д Б Фешин, В А Желтов, А Т Кушнир и др // Тезисы докладов всероссийской конференции лекарственные средства для животных и корма Современное состояние и перспективы – 2006 – М. С 129-131

Отпечатано в типографии ВНИИВСГЭ, 2008, Москва Звенигородское шоссе, 5

Заказ 270/3

Тираж 80 экз