На правах рукописи

ШАНГАРАЕВ РАФКАТ ИСКАНДАРОВИЧ

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЗОМЕТИНА «С-18» ПРИ НЕМАТОДИРОЗЕ И ЭЙМЕРИОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
ветеринарных наук

Казань – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Научный руководитель: **Лутфуллин Минсагит Хайруллович**
доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Рахматуллин Эмиль Касымович**
доктор ветеринарных наук, профессор, заместитель начальника отдела доклинических исследований ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»

Токарев Антон Николаевич
доктор ветеринарных наук, доцент заведующий кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «30» декабря 2019 г. в 13^{00} часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», по адресу: 420029, Республика Татарстан, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте http://www. казветакадемия.рф

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года и размещен на сайте на сайте http: //www.vak.ed.gov.ru и http://www. казветакадемия.рф

Ученый секретарь
диссертационного совета Резиля Ахметовна Асрутдинова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одним из эффективных резервов повышения продуктивности животных и получения высококачественной, безопасной продукции является снижение и полная ликвидация заразных и незаразных болезней.

В структуре болезней животных большую долю занимают инвазионные болезни. Именно они причиняют огромный экономический ущерб животноводству. Возбудители паразитозов являются основной причиной снижения всех видов продуктивности, выбраковки животных. По данным Р.А. Старикова (2008), при трихостронгилидозах овец живая масса и настриг шерсти уменьшались на 10-15%. Убойный выход был меньше на 3,6%. У коров при стронгилятозно-фасциолезной инвазии надой молока снижался на 10,6%, а у молодняка крупного рогатого скота прирост массы тела был на 45,3% меньше, чем у здоровых животных. При хроническом течении эймериоза у крупного рогатого скота в организме не усваивается 35-40% корма. В результате заражения паразитами молодняк отстает в росте и развитии, повышается расход кормов на прирост живой массы. Кроме того, возбудители инвазионных заболеваний в результате паразитирования в организме животного снижают резистентность последнего. И как следствие организм животного теряет устойчивость к инфекционным и другим заболеваниям.

Изучением распространения паразитозов жвачных животных в Республике Татарстан занимались многие исследователи (А.Х. Волков, 1999; К.М. Садов, 2003; Р.Р. Тимербаева, 2003; А.М. Идрисов, 2004; М.Х. Лутфуллин, 2005; П.Г. Никифоров, 2009; Д.Г. Латыпов, 2010).Тем не менее, вопросы эпизоотологии паразитозов в личных подворьях граждан по-прежнему остаются недостаточно изученными.

В комплексе противопаразитарных мероприятий важное место отводится своевременной и безошибочной диагностике (М.Х. Лутфуллин, 2005; М.Ш. Акбаев, 2008; Д.Г. Латыпов, 2010; М.И.С. Ибрахим, 2013; Д.Ю. Деркачев, 2014;

Н.Ф. Фирсов, 2014; Д.В. Фещенко, 2015). Однако многие методы прижизненной диагностики морально устарели и требуют совершенствования. Для обработки животных против паразитарных болезней используются различные препараты (М.Д. Новак, 2010; А.Л. Кряжев, 2015; А.М. Биттиров, 2015; В.В. Глушков, 2015; Е.С. Енгашева, 2016; Ф.И. Василевич, 2016; Д.В. Киселев, 2017; О.А. Логинова, 2017).Однако большинство рекомендуемых препаратов и методов лечения по разным причинам не соответствуют современным требованиям практической ветеринарии. Поэтому на сегодняшний день актуальным вопросом является изыскание наиболее безопасных и эффективных лекарственных средств, обладающих широким спектром действия.

Степень разработанности проблемы. Изыскание новых высокоэффективных противопаразитарных препаратов, обладающих широким спектром действия и низкой токсичностью для животных, является актуальной задачей ветеринарной фармакологии и паразитологии.

Известно, что азометины (Шиффовы основания) служат первичным сырьем при синтезе многих лекарственных средств: антибиотиков, противопаразитарных, противовоспалительных, противоаллергических, противоопухолевых препаратов. Биологическая активность оснований Шиффа обусловлена наличием в их молекуле длинноцепочечных липофильных структур, за счет которых азометины легко проникают через биологические мембраны. Однако противопаразитарная активность многих новых соединений этой группы не изучена.

В личных хозяйствах паразитозы животных имеют широкое распространение, так как в них недостаточно проводятся диагностические и лечебно-профилактические мероприятия. Следовательно, изучение распространения паразитозов в личных хозяйствах и усовершенствование их диагностики имеют актуальность.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы – изучение токсикологических свойств и противопаразитарной эффективности азометина

«С-18» при нематодирозе и эймериозе крупного рогатого скота. Для выполнения этой цели были поставлены следующие задачи:

- Изучить острую, хроническую токсичность, кумулятивное, местно-раздражающее, аллергенное свойства и эмбриотоксичность азометина «С-18»;
- Установить терапевтическую эффективность различных доз азометина «С-18» при нематодирозе крупного рогатого скота;
- Изучить противопаразитарную эффективность азометина«С-18» при нематодирозе и эймериозе крупного рогатого скота;
- Изучить динамику гематологических показателей у больных нематодирозом и здоровых телят после введения азометина «С-18»;
- Провести ветеринарно-санитарную оценку мяса телят после применения азометина «С-18»;
- Рассчитать экономическую эффективность применения азометина «С-18» при нематодирозе крупного рогатого скота;
- Изучить распространение нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан некоторых районов Республики Татарстан и усовершенствовать копроовоскопическую диагностику этих инвазии.

Научная новизна. Впервые изучена острая, хроническая токсичность, местно-раздражающее, аллергенное, кумулятивное свойства, эмбриотоксичность, противопаразитарная эффективность азометина «С-18» при нематодирозе и эймериозе крупного рогатого скота, изучены также некоторые показатели крови больных нематодирозом и здоровых телят после введения им «С-18». Проведена ветеринарно-санитарная экспертиза мяса телят после перорального введения им «С-18». Изучено распространение нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан некоторых районов Республики Татарстан; исследована сравнительная диагностическая эффективность некоторых гельминтоовоскопических методов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Впервые исследован азометин «С-18», действующим веществом которого является N-(4-

бромбензилиден) октадекан-1-амин, связанный с высшим алкильным радикалом. Он обладает низкой токсичностью, высокой антинематодозной и антиэймериозной активностью, рекомендуется для лечения и профилактики нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота. На основании комплексных исследований изучено распространение нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота в личных хозяйствах некоторых районов Республики Татарстан. Полученные при этом данные можно использовать для составления плана противопаразитарных мероприятий у крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан Республики Татарстан.

Методология и методы исследований. В данном исследовании мы использовали комплексный подход по изучению токсикологических свойств и противопаразитарной эффективности азометина «С-18» при нематодирозе и эймериозе крупного рогатого скота. Этот комплекс включает в себя изучение острой, хронической токсичности, местно-раздражающего, аллергенного действия, кумулятивной, эмбриотоксической активности «С-18», а также выявление его терапевтической эффективности с использованием паразитологических, морфологических, биохимических и статистических методов. В качестве объекта исследований нами были использованы белые лабораторные мыши, крысы, кролики, крупный рогатый скот.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Азометин «С-18» по токсическим характеристикам относится к III классу опасности (вещества умеренно опасные), в терапевтической дозе не обладает токсичностью, местно-раздражающим, аллергенным действием, эмбриотоксичностью, коэффициент кумуляции составляет 2,02;
2. Азометин «С-18» обладает высокой противопаразитарной эффективностью при нематодирозе и эймериозе крупного рогатого скота;
3. Нематодироз и эймериоз крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан Республики Татарстан имеют широкое распространение.

Степень достоверности и апробация результатов. Получен патент № 2700795 «Средство для лечения нематодозов сельскохозяйственных животных, содержащее N-(4-бромбензилиден) октадекан-1-амин».

Основные результаты исследований доложены и обсуждены: на I–этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства РФ [Казань, 2017, 2018]; в международной научно-практической конференции «Инновационные решения в ветеринарной медицине, зоотехнии и биотехнологии в интересах развития АПК [Казань, 2017]; во всероссийском паразитологическом симпозиуме «Современные проблемы общей и частной паразитологии» [Санкт-Петербург, 2017]; во всероссийских научно-практических конференциях, посвященных 145 – летнему юбилею Казанской ГАВМ «Наука и инновации в АПК XXIвека», «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК» [Казань, 2018]; в международной научно-практической конференции «Современные проблемы и достижения зооветеринарной науки» [Казань, 2019].

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, 3 из которых изданы в журналах, относящихся к перечню ВАК РФ для опубликования материалов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук; 1 статья опубликована в журнале перечня Web of Science.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 151 страницах компьютерного текста, включает в себя: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, заключение, практические предложения, список сокращений, список использованных источников, список иллюстрированного материала и приложение. Работа содержит 20 таблиц, 5 рисунков. Список использованной литературы включает 281 источников, 51 из которых являются работами иностранных ученых.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась с 2016 по 2019 г. на кафедре эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, в личных хозяйствах граждан Арского, Атнинского, Высокогорского и Лаишевского районов, а также в хозяйстве ООО «Ашыт» Арского района Республики Татарстан (РТ).

Азометин n-бензоальдегид – $C_{18}H_{37}Br$, именуемый в дальнейшем «С-18» входит в группу Шиффовых оснований (азометинов). Он был синтезирован профессором кафедры высокомолекулярных и элементоорганических соединений Галкиной И.В. и аспирантом этой же кафедры Бахтияровым Д.И. Казанского Федерального Университета. Активным компонентом данного соединения является N-(4-бромбензилиден) октадекан-1-амин. По физическим свойствам он представляет собой порошок белого цвета со слабым специфическим запахом, не растворим в воде. Растворяется в подсолнечном масле. Температура плавления составляет 58,5 ˚С.

Острую токсичность «С-18» изучали на 60 белых мышах и 36 белых крысах.

При изучении кумулятивной активности «С-18» использовали «тест субхронической токсичности» (метод Lim’a и соавт.).

Хроническую токсичность «С-18» изучали на 40 белых крысах согласно «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению токсичности новых фармакологических веществ» (2005).

Для изучения местно-раздражающего свойства «С-18» использовали 15 кроликов породы белый великан. При этом использовали метод эпикутанных аппликаций.

Аллергенную активность «С-18» изучали методом эпикутанных сенсибилизаций на 8 кроликах породы белый великан.

Эмбриотоксичность «С-18» изучали на 24 самках белых крыс, массой тела 180-220 г. При этом использовали «Методические указания по изучению

эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986).

Титрацию терапевтической дозы «С-18» проводили на 48 телятах 6 месячного возраста, спонтанно зараженных нематодами рода *Nematodirus*.

Сравнительную антигельминтную эффективность азометина «С – 18» при нематодирозе крупного рогатого скота изучали на 40 телятах 6 месячного возраста, естественно зараженных нематодирусами. Также до лечения и через 7, 15 и 30 дней после дегельминтизации у животных исследовали кровь для выявления гематологических изменений при нематодирозе и для изучения динамики изменения данных параметров после антигельминтной терапии.

Изучение сравнительной противоэймериозной эффективности «С-18» проводили на 24 телятах 6 месячного возраста, спонтанно инвазированных эймериями.

Для изучения влияния различных доз «С-18» на организм здоровых животных использовали 10 телят в возрасте 4 месяца.

Кровь у телят брали из хвостовой вены с использованием системы вакуумного забора (двусторонняя автоматическая игла, автоматический иглодержатель, вакуумная пробирка). Забор крови у крыс осуществляли из яремной вены методом тотального обескровливания.

Для гематологических исследований использовали геманализатор «Ока». Число форменных элементов крови подсчитывали в камере Горяева. Для биохимического анализа крови использовали анализатор Mindray BS – 200, реагенты ДДС, калибратор Tru Cal фирмы Dias.

Изучали влияние азометина «С-18» на органолептические и физико-химические показатели мяса телят. Органолептические исследования проводили согласно ГОСТ у 7269 – 2015 «Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести»; биохимические исследования – согласно «Правила ветеринарного осмотра и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса» (1988).

Распространение нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота изучали путем копроовоскопических исследований. Пробы фекалий у животных брали индивидуально из прямой кишки и исследовали модифицированным методом, разработанным сотрудниками кафедры эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ.

Для изучения эпизоотической ситуации по нематодирозу и эймериозу крупного рогатого скота пользовались критериями интенсинвазированность (ИИ) и экстенсинвазированность (ЭИ). Среднее количество яиц нематодирусов и ооцист эймерий подсчитывали по методу ВИГИС. Пробы фекалий у животных брали в различные сезоны года (март, июнь, сентябрь, декабрь). Для идентификации видов эймерий использовали определительную таблицу Хейсина.

Статистическую обработку цифрового материала проводили на компьютере с использованием редактора электронных таблиц Microsoft Excel 2007.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Изучение токсикологических свойств азометина «С-18»

2.2.1.1 Изучение острой токсичности азометина «С-18»

Острую токсичность «С-18» изучали на 60 белых мышах и 36 белых крысах одинакового возраста, массой тела 18-21 и 200-220 г соответственно. За 12 часов до введения «С-18» животных выдерживали на голодной диете. Крысы и мыши были разделены на 6 групп. «С-18» вводили внутрижелудочно в форме раствора на подсолнечном масле в дозах от 400 до 2000 мг/кг. Животные шестой группы служили контролем и получали внутрижелудочно растворитель (подсолнечное масло).

Крыс и мышей кормили через 4 часа после введения изучаемого соединения, водопой не ограничивали. В течение 14 дней за ними вели наблюдение.

После введения изучаемого соединения у всех животных отмечалось кратковременное угнетение, которое исчезло через 2 часа. Потом крысы и

мыши охотно поедали корм, адекватно реагировали на звуковые, тактильные и световые раздражители. Состояние кожного покрова и видимых слизистых оболочек было без патологических изменений.

В ходе опыта гибель животных не отмечались. При этом проводили эвтаназию методом декапитации и вскрытие по одной крысе и двух мышей из каждой группы. При патологоанатомическом исследовании отмечали застойную гиперемию кишечника, печени, почек, небольшие участки зернистой дистрофии в печени.

Среднесмертельная доза азометина«С-18» не была вычислена, так как отсутствовала гибель опытных животных. Максимально вводимая доза составила 2000 мг/кг.

Таким образом, результаты опыта по изучению острой токсичности азометина «С-18»показали, что в дозе 2000 мг/кг он не обладает токсичностью и относится к III классу опасности. (ГОСТ 12.1. 007 – 76).

2.2.1.2 Изучение местно-раздражающего действия и аллергенной активности азометина «С – 18»

Местно-раздражающее свойство «С-18» изучали методом эпикутанных аппликаций, для чего использовали 15 клинически здоровых кроликов породы белый великан, с живой массой 2 кг. Местное действие соединения «С – 18» в виде раствора на подсолнечном масле изучали в 0,5%, 1,0%, 5,0% и 10,0% концентрациях. Перед нанесением раствора предварительно выстригали участок спины размером 1,5 х2 см с правой стороны. Животных разделили на 5 групп. Первой группе кроликов проводили аппликацию 0,5% раствора «С-18», второй – 1,0%, третьей – 5,0% и четвертой – 10,0%. Пятая группа кроликов была контрольной, им наносили на кожу подсолнечное масло. Наблюдение за животными вели в течение первых 3 часов, затем на протяжении 14 дней.

Местное действие оценивали визуально, при этом учитывали наличие и выраженность на месте аппликации гиперемии, отека, расчесов, некроза и язв. Действие азометина «С-18» оценивали по 5 бальной шкале:

0 – реакция отсутствует;1 – кожа участка бледно-розового цвета;2 – наличие на участке ярко-розовой эритемы;3 – наличие на участке красной эритемы;4 – наличие эритемы, отека участка кожи;5 – наличие эритемы, выраженной отечности, очаговых изъязвлений, корочек.

Установили, что у животных третьей и четвертой групп, которым проводили аппликацию на кожу 5,0 и 10,0% растворы, отмечали реакцию в виде слабой гиперемии – бледно – розовое окрашивание кожи (1 балл, третья группа) и ярко – розовая эритема на коже (2 балла, четвертая группа).

Аллергенную активность азометина «С-18» изучали методом эпикутанных сенсибилизаций. Для этого использовали 8 клинически здоровых кроликов породы белый великан, массой тела 2 кг. Животных разделили на две группы. Для сенсибилизации животных первой группы брали разрешающую концентрацию (1%) раствора «С – 18», не вызвавшую кожную реакцию. Им на предварительно выстриженный участок кожи в области спины с правой стороны наносили 1,0% раствора «С – 18» один раз в день в течение 5 дней. Аппликацию раствора делали в направлении от шеи к хвосту. Раствор выдерживали 4 часа и удалили. Животным контрольной группы наносили на кожу подсолнечное масло.

Через 14 дней проводили повторную аппликацию той же концентрации «С-18» только на другую сторону участка кожи спины. Реакцию учитывали через 12 и 24 часа.

Установили, что у одного кролика опытной группы через 24 часа после повторной аппликации 1% раствора соединения «С-18» отмечали бледно – розовый цвет кожи. У остальных животных не регистрировали патологических изменений.

Таким образом, азометин «С-18» обладает слабым местно-раздражающим действием и слабой аллергенной активностью.

2.2.1.3 Изучение кумулятивных свойств азометина «С – 18»

Кумулятивные свойства «С – 18» изучали на 20 самцах белых крыс, массой тела 150 – 180 г. При этом использовали «тест субхронической токсичности». Животные были разделены на 2 группы: 1-ая- подопытная и 2 – контрольная. Азометин «С-18» вводили внутрижелудочно в форме раствора на подсолнечном масле ежедневно в течение 25 дней. В первые 4 дня доза составила 20 мг/кг (1/100 часть от максимально вводимой дозы). Далее через каждые 4 дня дозу увеличивали в 1,5 раза. Крысы контрольной группы получали подсолнечное масло в дозе 3 мл. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Результаты оценки кумулятивных свойств соединения «С – 18» для белых крыс при внутрижелудочном введении

Дни введения	Ежедневно вводимая доза, мг/кг	Суммарная доза за 4 дня введения, мг/кг	Суммарная доза по периодам введения, мг/кг	Число павших крыс	Число выживших крыс
1-4	200	800	800	0	10
5-8	300	1200	3000	3	7
9-12	440	1760	4760	3	4
13-16	68	2720	7480	4	0

Клинические признаки интоксикации начали проявляться на 5 день. Когда ежедневная доза «С – 18» состаивла 300 мг/кг, при общей дозе 1400 мг/кг, пала первая крыса. При патоморфологическом исследовании трупа павшей крысы отмечали застойную гиперемию желудочно – кишечного тракта, дистрофические изменения в печени, поджелудочной железе, почках. В последующие дни у остальных животных отмечали, вялость, гиподинамию, снижение аппетита.

Таблица 2 – Расчет суммарной летальной дозы соединения «С-18» при внутрижелудочном введении

Дни опыта	Доза, мг/кг	Выжило животных	Пало животных	Z	D	Z*D
1-5	1100	10	0	-	-	-
6	1400	9	1	0,5	300	150
7	1700	8	2	1,5	300	450
8	2000	7	3	2,5	300	750
9	3440	6	4	3,5	440	1540
10	3880	5	5	4,5	440	1980
11	4320	4	6	5,5	440	2420
12	4760	3	7	6,5	440	2860
13	5440	2	8	7,5	680	5100
14	6120	1	9	8,5	680	5780
15	6800	0	10	9,5	680	6460
∑						27490

Среднесмертельную дозу и коэффициент кумуляции при ежденевном введении нашли с помощью следующих формул:

LD_{50}=6800-(27490 / 10) = 6800-2749 = 4051 мг/кг

К (кумуляции)=4051 / 2000 = 2,02

Таким образом, согласно гигиенической классификации пестицидов по основным параметрам вредности (Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну, 1986), азометин «С – 18» относится к II классу.

2.2.1.4 Изучение хронической токсичности азометина «С – 18»

В опыте по изучению хронической токсичности «С-18»использовали 40 белых крыс обоего пола, массой тела 150 – 180 г. Животные были разделены на 4 группы. Хроническую токсичность азометина «С-18» изучали в трех дозах.

Первая доза была близкой к лечебной дозе и составила 20 мг/кг. Вторая и третья дозы составили 1/20 и 1/10 части от максимально вводимой дозы в опыте по изучению острой токсичности (100 и 200 мг/кг). «С-18» задавали внутрижелудочно один раз в день в течение 5 дней. Животные четвертой группы служили контролем, они получали подсолнечное масло. Крыс кормили спустя 4 часа после получения соединения.

На шестой день всех животных подвергали эвтаназии методом декапитации и брали кровь для гематологических исследований.

Установили, что у крыс второй и третьей групп, получавших соединение “С-18” в дозах 100 и 200 мг/кг, в крови отмечали достоверное повышение числа тромбоцитов (на 16,7 и 22,6%), палочкоядерных нейтрофилов (на 100,0%), моноцитов (на 63,6 и 172,7%), а также уменьшение числа лимфоцитов (на 32,3 и 36,4%) и уровня гемоглобина (на 4 и 17,0%).

При биохимическом анализе сыворотки крови у них отмечали достоверное повышение уровня креатинина (на 9,5 и 18,1%), АЛТ (на 29,4 и 93,0%), АСТ (на 81,3 и 101,9%), амилазы (на 49,9 и 51,9%), общего белка (на 69,0 и 69,6%) и билирубина (на 4,6 и 4,7 раза), а также снижение содержания глюкозы (на 20,5 и 33,9%) и щелочной фосфатазы (на 33,0 и 37,0%).

2.2.1.5 Изучение эмбриотоксического свойства азометина «С – 18»

При изучении эмбриотоксичности соединения «С – 18»использовали 24 самок белых крыс с массой тела 180-220 г. Животных разделили на 3 равноценные группы. В свою очередь, каждую группу разделили на 2 подгруппы. В каждой группе 4 крысы были контрольными и 4 – подопытными. Вечером самок подсаживали к самцам и держали в течение одного эстрального цикла (5 дней). В одной клетке находилась одна пара крыс (самец и одна самка). На шестой день утром у самок брали влагалищные мазки, окрашивали их красками из набора Лейкодиф 200 и исследовали на наличие спермиев. В мазках всех самок обнаружили мужские половые клетки. Этот день считали первым днем беременности. Подопытным самкам (по 4 крысы в каждой

подгруппе) в течение 15 дней внутрижелудочно с помощью зонда вводили масляный раствор соединения «С – 18» в дозе 10 мг/кг, что составило 1\200 часть максимально вводимой дозы.

Контрольные крысы внутрижелудочно получали подсолнечное масло. Каждая подгруппа (по 4 крысы) находилась в отдельных клетках. Клиническое состояние у подопытных крыс не отличалось от такового у контрольных животных. Крысы охотно поедали корм и адекватно реагировали на тактильные, болевые, световые и звуковые раздражители. Состояние волосяного покрова, видимых слизистых оболочек у подопытных крыс соответствовало физиологическим нормам.

На 10 день беременности первую группу животных подвергали эвтаназии путем декапитации. Крыс второй группы умерщвляли на 20 день плодоношения. Вскрывали брюшную полость, изолировали, вырезали матку и помещали на чашку Петри со стерильным физиологическим раствором. Проводили визуальный осмотр плодов, эндометрия и яичников. У крыс третьей группы роды прошли в срок без патологии.

Анализ проведенных экспериментов показал, что все изменения между показателями у животных контрольной и опытной подгрупп были статистически недостоверными, то есть, многократное введение азометина «С – 18» в дозе 10 мг/кг не оказывает существенное влияние на плоды белых крыс в антенатальном и постнатальном периоде.

2.2.2 Терапевтическая эффектиность различных доз азометина «С – 18» при нематодирозе крупного рогатого скота

Оценку терапевтической эффективности различных доз азометина «С – 18» проводили в хозяйстве ООО «Ашыт» Арского района. При этом использовали 48 телят 6 месячного возраста, спонтанно зараженных нематодирусами. Животных разделили на шесть групп. “С-18” вводили индивидуально перорально в форме 1% раствора на подсолнечном масле в дозах от 1 до 20 мг/кг. До и через 15 дней после введения “С-18” у животных

брали пробы фекалий для копроовоскопии (для определения интенс- и экстенсэффективности “С-18”).

Установили, что азометин “С-18” в дозах 2, 5, 10, 15 и 20 мг/кг показал примерно одинаковую лечебную эффективность. Интенсэффективность его при этих дозах варьировала от 95,3 до 97,9%, а экстенсэффективность составила 87,5% . В качестве терапевтической была выбрана доза 2 мг/кг.

2.2.3 Изучение сравнительной антигельминтной эффективности азометина «С-18» при нематодирозе крупного рогатого скота

Антигельминтную эффективность азометина «С-18» при нематодирозе крупного рогатого скота изучали в сравнении с известными препаратами тетрамизол гранулят и альбендазол в форме 10% суспензии. В опыте использовали 40 телят 6 месячного возраста, естественно зараженных нематодирусами. Животных разделили на 4 группы. Телятам первой и второй групп вводили перорально раствор тетрамизол гранулята и суспензию альбендазола согласно инструкции. Животные третьей группы получали перорально 1% раствор «С-18» на подсолнечном масле в дозе 2 мг/кг. Телята 4 группы служили контролем и не подвергались лечению. Результаты изучения сравнительной антигельминтной эффективности азометина «С-18» показали, что он является более эффективным, чем известные препараты тетрамизол гранулят и альбендазол. Через 30 дней после дегельминтизации интенсэффективность и экстенсэффективность «С-18» составили 95,0 и 90,0% соответственно, против 82,9 и 60,0% у тетрамизол гранулята и 90,4 и 80,0% у альбендазола.

2.2.4 Изучение сравнительной эффективности азометина «С-18» при эймериозе крупного рогатого скота

Антиэймериозную эффективность «С-18» изучали в сравнении с известными препаратами (толтарокс и диакокс). В опыте использовали 24 телят 6 месячного возраста, естественно зараженных эймериями. Животных

разделили на 4 группы. Телятам первой группы скармливали диакокс групповым методом в смеси с комбикормом. Животным второй группы вводили индивидуально внутрь толтарокс в форме суспензии. Телята третьей группы получили внутрь раствор азометина «С-18» на подсолнечном масле индивидуально в дозе 2 мг/кг массы тела. Животные четвертой группы служили контролем и их не подвергали лечению.

Исследования показали, что «С-18» также обладает антиэймериозным действием. Через 15 дней после лечения интенсэффективность его составила 88,6% при экстенсэффективности 83,3%.

2.2.5 Изучение гематологических показателей больных нематодирозом телят после лечения их антигельминтными препаратами

Высокая антигельминтная эффективность азометина «С-18» в отношении гельминтов рода *Nematodirus* служила основанием для изучения его влияния на гематологические показатели у крупного рогатого скота.

У телят, на которых изучали сравнительную антигельминтную эффективность различных препаратов, брали кровь для гематологических исследований.

Установлено, что у телят, зараженных нематодирусами, в крови отмечается уменьшение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, лейкоцитоз, эозинофилия, лимфоцитопения, гипопротеинемия, гипогликемия, повышение активности трансаминаз. Морфологические и биохимические показатели крови телят, больных нематодирозом, полностью восстанавливались на 30 день после лечения. Динамика восстановления гематологических показателей у телят, леченных азометином «С-18» протекала быстрее, чем у животных, которых лечили тетрамизол гранулятом и альбендазолом.

2.2.6 Изучение гематологических показателей у здоровых телят после введения им различных доз азометина «С-18»

В опыте использовали 20 телят в возрасте 4 месяцев с живой массой 100 кг. Животные клинически были здоровыми. Копроскопическими исследованиями установили отсутствие их зараженности паразитами. Телят разделили на 2 группы. Первой группе животным вводили 1% раствор «С-18» на подсолнечном масле индивидуально внутрь в дозе, составляющей 1/40 часть от максимально вводимой белым крысам дозы (50 мг/кг). Животные второй группы служили контролем и получали внутрь подсолнечное масло. Через 7 дней телятам первой группы дозу увеличили в 2 раза (100 мг/кг). После введения обоих доз изучаемого соединения у телят не отмечалось никаких изменений клинического состояния, они охотно принимали корм, как и животные контрольной группы, адекватно реагировали на внешние раздражители. До введения «С-18» и через 7 дней после введения 1/40 части максимальной дозы и после двукратного ее повышения у телят подопытной и контрольной групп брали кровь для гематологических исследований.

Установили, что после введения азометина «С-18» в дозах 50 и 100 мг/кг (1/40 и 1/20 часть от максимально вводимой белым крысам дозы), в крови у телят отмечается достоверное снижение числа лимфоцитов (на 2,2%), повышение числа палочкоядерных нейтрофилов (на 8,3%) и базофилов (на 22,2%). При биохимическом анализе крови у них отмечали достоверное снижение уровня глюкозы (на 4,0%) и мочевины (2,8%), а также повышение активности щелочной фосфатазы (на 2,0%).

2.2.7 Ветеринарно-санитарная оценка мяса телят после перорального введения азометина «С-18»

В опыте по ветеринарно-санитарной оценке мяса животных, получавших азометин «С-18» (1 группа), и альбендазол (2 группа), использовали по 2 теленка из группы. Проводили вынужденный убой 2 телят из контрольной

группы. Пробы мяса брали из различных групп мышц в количестве 200 г с каждой туши.

Исследования показали, что азометин «С-18» в дозе 2 мг/кг не оказывает отрицательное влияние на органолептические, физико-химические показатели мяса телят. Содержание микроорганизмов в поверхностном и глубоком слоях мышечной ткани не превышало допустимых норм, показатели pH, содержание амино-аммиачного азота соответствовали категории свежего мяса, продукты первичного распада белков отсутствовали, реакция на наличие аммиака и солей аммония была отрицательной, а фермент мышечной ткани пероксидаза был активным. Мясо животных, получавших альбендазол, имел мутный бульон со специфическим запахом лекарства.

2.2.8 Экономическая эффективность применения азометина «С-18» для лечения телят, больных нематодирозом

Экономическую эффективность от применения азометина «С-18» при нематодирозе телят рассчитывали по методике И.Н. Никитина и В.А. Апалькина («Организация и экономика ветеринарного дела, 2006) на основе проведенного научно-хозяйственного опыта в хозяйстве ООО «Ашыт» Арского района Республики Татарстан.

Установили, что экономическая эффективность от применения азометина «С-18» составила 4110,5 рубля, против 4108,68 рублей у альбендазола 10% и 3933,9 рубля у тетрамизол гранулята. Эффективность лечения телят азометином «С-18» на 1 рубль затрат равнялась 69,10 рублей, против 16,66 рублей у тетрамизол гранулята и 67 рублей у альбендазола.

2.2.9 Изучение распространения нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан некоторых районов Республики Татарстан

Установили, что нематодироз и эймериоз крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан Республики Татарстан имеют широкое

распространение с интенсивностью инвазии от 88,9±12,9 до 184,7±57,8 яиц (ооцист) в 1 г фекалий, и с экстенсивностью инвазии от 30,0% до 73,3%. В весенний период года интенсинвазированность и экстенсинвазированность животных минимальная, с наступлением теплого времени года они начинают повышаться и достигают пика осенью. Нематодирусами и эймериями крупный рогатый скот интенсивно заражается в возрасте до одного года.

Также была изучена сравнительная диагностическая эффективность следующих гельминтоовоскопических методов: Фюллеборна, Маллори, Котельникова-Хренова и модифицированного. Установили, что модифицированный метод, в состав флотационной жидкости которого входят растворы насыщенных солей хлористого цинка, сахара и поваренной соли, является более эффективным, чем методы Фюллеборна, Маллори и Котельникова-Хренова.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые исследован азометин ониевая соль n-бензоальдегид – $C_{18}H_{37}Br$ («С-18»), активным компонентом которого является N-4-бромбензилиден-октадекан-1-амин. Он обладает низкой токсичностью, высокой антигельминтной и антиэймериозной активностью, что дает возможность использовать его для лечения стронгилятозов пищеварительного тракта и эймериоза крупного рогатого скота. В дозе 2000 мг/кг «С-18» не обладает токсичностью. В 0,5 и 1,0% концентрациях оно не оказывает местно-раздражающее действие, характеризуется слабой аллергенной активностью. Коэффициент кумуляции равен 2,02. В дозе 10 мг/кг не оказывает существенное влияние на антенатальное и постнатальное развитие плодов у белых крыс.

2. При нематодирозе крупного рогатого скота интенсэффективность азометина «С – 18» в дозах 2, 5, 10, 15 и 20 мг/кг варьировала от 95,3 до 97,9%. В качестве терапевтической была выбрана доза 2 мг/кг, экстенсэффективность которого составила 87,5%.

3. Через 30 дней после дегельминтизации крупного рогатого скота, естественно зараженного нематодирусами, интенсэффективность и экстенсэффективность азометина «С-18» составили 95,0 и 90,0%, против 82,9 и 60,0% у тетрамизол гранулята и 90,4 и 80,0% у альбендазола. Азометин «С-18» обладает также антиэймериозным действием. Через 15 дней после лечения крупного рогатого скота, зараженного эймериями, он показал 88,6% интенсэффективность и 83,3% экстенсэффективность.

4. У телят, зараженных нематодирусами, в крови отмечены изменения некоторых морфологических и биохимических показателей, которые восстанавливаются на 30 день после лечения.

После введения «С-18» здоровым телятам в дозах 50 и 100 мг/кг, у животных в крови установлено достоверное снижение числа лимфоцитов, повышение количества палочкоядерных нейтрофилов и базофилов. При биохимическом анализе сыворотки крови у животных отмечали достоверное снижение уровня глюкозы, мочевины и повышение активности щелочной фосфатазы.

5. Азометин «С-18» в дозе 2 мг/кг не оказывает отрицательное влияние на органолептические, физико-химические показатели мяса телят.

6. Нематодироз и эймериоз крупного рогатого скота в личных хозяйствах граждан Республики Татарстан имеют широкое распространение с интенсинвазированностью от 88,9±12,9 до 184,7±57,8 яиц (ооцист) в 1 г фекалий, и с экстенсинвазированностью от 30,0% до 73,3%.

7. Экономическая эффективность от применения «С-18» составила 4110,5 рублей, против 4108,68 рублей у альбендазола 10% и 3933,9 рублей у тетрамизол гранулята. Эффективность на 1 рубль затрат у тетрамизол гранулята равнялась 16,66; альбендазола – 67,0; соединения «С-18» - 69,10 рублей.

Практические предложения

1. Азометин «С-18» в дозе 2 мг/кг индивидуально внутрь в форме 1% раствора на подсолнечном масле рекомендуется использовать для лечения нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота.
2. При копроскопической диагностике нематодироза и эймериоза крупного рогатого скота рекомендуется использовать модифицированный метод, в состав флотационной жидкости которого входят насыщенные растворы хлористого цинка, сахара и поваренной соли в соотношении 2:1:1.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шангараев, Р.И. Мониторинг эпизоотической ситуации по паразитозам у жвачных животных в личных хозяйствах граждан Арского и Атнинского районов Республики Татарстан / Р.И. Шангараев, М.Х. Лутфуллин, Н.А. Лутфуллина, Р.Р. Гиззатуллин // Ветеринарный врач. – 2017. –№6. – С. 40-47 *.
2. Шангараев, Р.И. Паразитозы жвачных животных в личных хозяйствах Высокогрского и Лаишевского районов Республики Татарстан / Р.И. Шангараев, М.Х. Лутфуллин, Н.А. Лутфуллина // Российский паразитологический журнал. – 2018. – Т.12. – Выпуск 3. – С. 18-23 *.
3. Шангараев, Р.И. Противоэймериозная эффективность соединения «С-18» / Р.И. Шангараев, М.Х. Лутфуллин, Р.Р. Галяутдинова // Мат. науч.-прак. конф. «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК», Казань. – 2018. – С. 212-216.
4. Шангараев, Р.И. Раздражающее и аллергезирующее свойства соединения «С-18» / Р.И. Шангараев, С.А. Зеленская, Р.Р. Галяутдинова // Мат. науч.- прак. конф. «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК», Казань. – 2018. – С. 207-212.
5. Лутфуллин, М.Х. Результаты исследования острой и хронической токсичности противопаразитарного соединения «С-18» / М.Х. Лутфуллин, Р.И. Шангараев, Р.Р. Галяутдинова, З.Х. Терентьева // Известия Оренбургского ГАУ. – 2018. – №6 (74). – С. 145-148 *.

6. Ravilov, R. Kh. Studying of Toxicological Properties of the «C-18» connection Possessing Antiparasitic Action / R. Kh. Ravilov [and other] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Vol. 9 (6). – P. 1502-1506 **.

* - издания, рекомендованные ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертации.

** - журнал перечня Web of Science.