

На правах рукописи

Мифтахутдинов Алевтин Викторович



**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЗИМУН 4.24
ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ
БРОНХОПНЕВМОНИИТЕЛЯТ**

16.00.04 - Ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Троицк - 2005

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук
Самородова Инна Моисеевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор
Сунагатуллин Фарук Ахмадулович

доктор ветеринарных наук,
профессор
Ноздрин Григорий Антонович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Уральская
государственная
сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «2» марта 2005г. в 13³⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.066.01 в ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины». Адрес: 457100, Челябинская область, г. Троицк, ул. Гагарина, 13, тел. 2-19-89.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

Автореферат разослан «17» января 2005г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Прокофьева Т.В.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. По данным официальной статистики из всех болезней крупного рогатого скота 97% составляют незаразные заболевания, которые вызываются главным образом условно патогенной микрофлорой. Наибольший удельный вес из них занимают болезни органов пищеварения и органов дыхания (В. Д. Баранников и др., 1997; В.В. Шитиков, 2001; А.Г. Шахов, 2002 и др.).

Длительное неконтролируемое применение антибиотиков для подавления патогенной и условнопатогенной микрофлоры при лечении болезней незаразной этиологии ещё более усугубило проблему, приведя к образованию лекарственной устойчивости бактерий (В.В. Смирнов, 1998 и др.; Г.А. Ноздрин, А.И. Леляк, 1999). Именно это и наблюдается в большинстве хозяйств нашего региона, где и без этого в связи с неблагоприятной экологической обстановкой отмечается низкий уровень естественной резистентности молодняка.

Поэтому большой теоретический и практический интерес представляет поиск лекарственных препаратов обладающих высокой эффективностью, свойствами повышать гуморальный и клеточный иммунитет, при этом не обладающих отрицательными последствиями. Всем этим требованиям отвечают пробиотические препараты.

Важным механизмом в антимикробном действии пробиотиков на основе *Bacillus Subtilis* является высокая конкурентоспособность бациллы за факторы питания, рецепторы связывания и образование бактериоцинов и антибиотикоподобных веществ. У бактериоцинов, в отличие от антибиотиков, установлена высокая избирательность действия в отношении патогенной и условно патогенной микрофлоры и синергидные взаимоотношения с нормофлорой. *Bacillus Subtilis* препятствует адгезии патогенных бактерий на рецепторы клеток эпителия слизистой оболочки, также синтезирует протеазы, лизирующие бактериальные токсины, лизоцим и органические кислоты, проявляющие антагонистическую активность в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Разрушаясь, бактерии служат источником антигенов для поддержания нормального уровня антител (В.В. Смирнов и др. 1982; В.И. Никитенко и др., 2000; Г.А. Ноздрин и др. 2003).

Механизм действия пробиотиков неразрывно связан с транслокацией бактерий из пищеварительного тракта во внутреннюю среду организма и является естественным защитным механизмом даже более древним, чем клеточные системы иммунитета, так как имеется не только у теплокровных животных, но и у насекомых и растений (В.И. Никитенко, 1986). Живые бактерии сенной палочки, примерно 1 из 1000, при введении их в желудок проникают в кровь, лимфу, накапливаются в селезенке, лимфатических узлах, печени, в области очагов воспаления или других повреждений и через несколько часов происходит полное исчезновение жизнеспособных бактерий из кровотока (R.D.Berg, 1985; L. de Souza et al., 1996; Г.А. Ноздрин с соавт., 1997; В.И.Никитенко и др., 2001 и др.).

Парентеральное введение препаратов на основе генетически модифи-

цированных штаммов *Bacillus Subtilis* может разрешить указанные проблемы.

Цель и задачи исследования. Целью работы является оценка безопасности препарата Зимуна 4.24 при парентеральном применении для теплокровных животных и определение оптимальных доз и способов введения при лечении и профилактике неспецифической бронхопневмонии телят в сравнительном аспекте с антибиотикотерапией.

Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Дать токсикологическую характеристику Зимуна - 4.24 при различных способах введения в организм лабораторных животных.
2. Выявить наиболее эффективные способы введения и терапевтические дозы Зимуна 4.24 при лечении неспецифической бронхопневмонии телят.
3. Сравнить эффективность антибиотикотерапии и лечения Зимуном 4.24 при неспецифической бронхопневмонии телят.
4. Изучить динамику изменений морфо-биохимических показателей крови, факторы естественной резистентности и показатели продуктивности телят до и после лечения.
5. Исследовать профилактическую эффективность Зимуна 4.24 при респираторных болезнях телят.
6. Рассчитать экономическую эффективность лечебных и профилактических мероприятий.

Научная новизна. Проведено комплексное изучение нового препарата Зимуна 4.24, включающее определение, острой и хронической токсичности, мутагенных, эмбриотоксических свойств. Дано обоснование парентерального применения препарата на основе живых бацилл для лечения и профилактики респираторных заболеваний телят с указанием оптимальных доз, кратности, способа введения в сочетании с симптоматическим лечением. Проведена сравнительная эффективность Зимуна 4.24 и антибиотика ципрофлоксацина в сочетании с симптоматическим лечением при неспецифической бронхопневмонии телят. Изучены изменения морфо-биохимических показателей крови, факторов естественной резистентности и продуктивности телят до и после терапии. Исследована профилактическая эффективность Зимуна 4.24.

Практическая значимость работы. Обоснование возможности парентерального применения препаратов на основе генетически модифицированных штаммов *Bacillus Subtilis* (в частности Зимуна - 4.24) открывает возможности для профилактики и лечения болезней различной этиологии. Разработана методика лечения телят с использованием Зимуна 4.24 и симптоматической терапии, позволяющая повысить эффективность терапии при бронхопневмонии, интенсивность роста и неспецифическую резистентность организма телят. Материалы работы могут быть использованы при чтении лекций по курсам фармакологии, токсикологии и терапии для студентов ветеринарных факультетов, а также написании учебников и монографий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Токсикологическая характеристика препарата Зимуна 4.24.
2. Выбор оптимальных доз и способов введения Зимуна 4.24 при лече-

нии неспецифической бронхопневмонии телят.

3. Сравнительный анализ эффективности лечебных мероприятий при бронхопневмонии телят с использованием ципрофлоксацина и Зимуна 4.24.
4. Эффективность профилактических мероприятий с использованием Зимуна 4.24.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на VII и VIII межрегиональной научно - практической конференции «Перспективные направления научных исследований молодых учёных и специалистов Урала и Сибири» (Троицк - 2003, 2004), на межкафедральном совещании УГАВМ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 работ.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, выводов, практических предложений, списка использованной литературы, который включает 205 источников, в том числе 43 на иностранном языке, приложения. Работа изложена на 173 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 таблицами и 17 рисунками.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследований

Научно-исследовательская работа выполнена в период 2002-2004 г.г. в колхозе «Карсы» Троицкого района Челябинской области, на базе кафедр фармакологии и токсикологии, микробиологии и вирусологии, патологической анатомии ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины», межкафедральной лаборатории УГАВМ, Троицкой ветеринарной бактериологической лаборатории.

В соответствии с поставленными задачами материалом для исследований служили испытуемый препарат, здоровые и больных острой формой катаральной бронхопневмонии телята, нелинейные интактные клинически здоровые белые мыши, кролики породы шиншилла и беспородные кошки, кровь, внутренние органы и эмбрионы белых мышей.

При выполнении экспериментальной части работы использованы клинические, фармакологические, токсикологические, микробиологические, вирусологические, патологоанатомические, гистологические методы исследований.

Во всех экспериментах по определению токсических свойств Зимуна 4.24, где в качестве объекта исследований использовались интактные белые мыши, придерживались общей схемы деления на опытные и контрольные группы, в соответствие со способом введения препарата. Мышам 1,2 и 3 опытных групп вводили Зимун 4.24 соответственно внутривенно, внутримышечно и внутрь. Мышам 4,5 и 6 контрольных групп вводили аналогичное количество изотонического раствора натрия хлорида соответственно внутривенно, внутримышечно и внутрь. Применение данной схемы обеспечивает полную тождественность условий выполнения опыта.

Исследование токсичности при нанесении на кожу и слизистые оболочки проводили на 5 кроликах породы шиншилла и 3-х беспородных

кошках по общепринятой методике.

Острую токсичность определяли сначала при однократном, а потом при четырёхкратном введении с интервалом 6 часов в течение суток в максимальных дозах для каждого из способов применения. Мышам опытных групп внутривенно вводили 0,5 мл, внутримышечно 0,7 мл, внутрь 1,0 мл Зимуна 4.24. Мышам контрольных групп вводили аналогичное количество изотонического раствора натрия хлорида.

Влияние препарата при длительном воздействии изучали в опытах на 78 нелинейных белых мышах обоего пола живой массой 18,9-22,5 грамма. Животных разделили по принципу аналогов на 6 групп по 13 животных в каждой. Введение осуществляли один раз в сутки в течение 30 суток в следующих дозах: внутривенно 0,1 мл, внутримышечно 0,2 мл, внутрь 0,5 мл. Выбор данных доз обусловлен тем, что они являются максимальными дозировками, не вызывающими повреждающего действия при длительном введении мышам физиологического раствора и превышают терапевтические приблизительно в 150 раз.

Определение массы тела проводили у всех животных до начала опыта и по его окончании с помощью торзионных весов. На 28 сутки от начала эксперимента на 3 мышах из каждой группы проводили тиопенталовую пробу. Для определения мышечной работоспособности на 29 сутки эксперимента на 3 мышах из каждой группы проводили пробу с плаванием по М.Л. Рыловой. В последние сутки опыта у 4-х животных из каждой группы брали кровь, отрезая кончик хвоста, и готовили мазки для подсчёта лейкоцитарной формулы. По 7 животных из каждой группы умерщвляли неполной декапитацией. Осуществляли взятие крови, патологоанатомическое вскрытие, гистологические исследования почек, печени, сердца, лёгких и селезёнки; определяли относительную массу печени, сердца, почек и селезёнки.

Опыт по определению эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата проводили на 30 беременных самках мышей по схеме аналогичной предыдущему эксперименту. Убой самок осуществляли на 18 сутки беременности. Показатели гибели эмбрионов определяли по результатам подсчёта числа мест имплантации и резорбции эмбрионов, подсчётом количества мертвых и живых плодов. Тератогенные факторы исследовали осмотром аномалий строения лицевого черепа, позвоночника, конечностей, пальцев, хвоста и брюшной стенки.

Оценку мутагенного эффекта осуществляли методом подсчёта аномальных головок сперматозоидов у 30 самцов 70-100 дневного возраста.

Лечебную и профилактическую эффективность Зимуна 4.24 исследовали в трёх сериях опытов на 2 — 5 месячных здоровых телятах и больных острой формой катаральной бронхопневмонии.

На первом этапе испытывали различные дозировки и способы введения Зимуна 4.24 в сочетании с симптоматическим лечением при терапии неспецифической бронхопневмонии телят. Для этого сформировали 7 групп подопытных животных по 5 голов в каждой. 1-6 группа включала телят с признаками острой формы неспецифической катаральной бронхопневмонии. Здоровые телята служили контролем.

В процессе опыта учитывали клиническое состояние. До и на 10 сутки

после лечения проводили морфологические и биохимические исследования крови по общепринятым методам.

Для проведения второй серии научно-производственных опытов по сравнению эффективности Зимуна 4.24 и антибиотикотерапии в сочетании с симптоматическим лечением при терапии неспецифической бронхопневмонии телят сформировали 4 группы подопытных телят по 5 голов в каждой. Здоровые животные служили контролем.

До лечения, через 30 и 60 суток проводили контрольное взвешивание телят всех групп. До лечения и через 15 суток после первого дня терапии проводили, морфологические и биохимические исследования крови. Все исследования проводили по общепринятым в ветеринарии методикам.

Для изучения клеточных факторов естественной резистентности определяли фагоцитарную активность нейтрофилов крови по методу В.С. Гостева. Гуморальные факторы исследовали изучением бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови. Бактерицидную активность определяли фотонейлометрическим методом по О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966) в модификации Ю.М. Маркова (1968) с соавт. Лизоцимную активность сыворотки крови исследовали по Ю. М. Маркову (1974)

Для определения фагоцитарной активности клеточных элементов и потенциальных возможностей естественной резистентности у телят использовали внутрикожную пробу с гистамином по Д.Д. Новаку (1965). Гистаминовую пробу проводили до лечения, через 5, 15 и 30 суток после первого дня терапии.

При введении Зимуна 4.24 телятам больным бронхопневмонией отмечали незначительный пирогенный эффект. Поэтому для оценки пирогенного эффекта проводили измерение температуры тела у телят в течение 4-х суток лечения утром до введения препарата и через 30, 60, и 120 минут после введения.

Для оценки профилактической эффективности препарата Зимун 4.24 при неспецифической бронхопневмонии было сформировано 2 группы телят — опытная и контрольная. Опытная группа включала 25 голов телят 20 - 50 суточного возраста. Им осуществляли 3-х кратное внутримышечное введение Зимуна 4.24 в дозе 1 мл на голову с интервалом 48 часов. Контрольная группа включала 25 телят того же возраста. Наблюдение осуществляли в течение 6 месяцев с момента постановки на опыт. В течение этого срока осуществляли контроль за клиническим состоянием животных опытной и контрольной групп. До и во время опыта все телята подвергались плановым обработкам и вакцинации, согласно плану ветеринарных мероприятий. До и после проведения эксперимента проводили взвешивание телят.

Статистическую обработку полученных цифровых данных осуществляли с помощью программы BIOSSTAT для ЭВМ. Степень достоверности между сравниваемыми средними величинами оценивали с помощью критерия Стьюдента.

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Фармакологическая характеристика Зимуна 4.24

Зимун 4.24 препарат, разработанный учёными НПФ «Исследовательский центр» и сотрудниками кафедры фармакологии и общей патологии Новосибирского аграрного университета содержит генетически модифицированную спорую биомассу бактерий *Bacillus Subtilis* штамм ВКПМ-7048 и наполнитель. Препарат представляет собой прозрачную мутноватую жидкость, при хранении допускается образование осадка желтовато-белого цвета на дне флакона, который при встряхивании легко разбивается на равномерную взвесь. Препарат имеет слабовыраженный специфический запах и солоноватый специфический вкус. Выпускают в стерильных герметически упакованных флаконах по 10 мл. Срок хранения не менее 1 года при температуре 6 - 10 °С.

Штамм *Bacillus Subtilis*, входящий в состав препарата обладает высокой антагонистической активностью к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. На непатогенные штаммы *E. Coli* антагонистическим действием не обладает. Помимо этого стимулирует регенерационные процессы в организме, активизирует обменные процессы и биосинтез белка, нормализует окислительно-восстановительные процессы, повышает интенсивность роста молодняка и сохранность животных.

Спектр показаний для применения Зимуна 4.24 широк. Его можно использовать для стимуляции клеточных и гуморальных факторов иммунитета, профилактики и лечения заболеваний инфекционной и не инфекционной этиологии, нормализации микробиоценозов организма животных после лечения антибиотиками и другими антибактериальными химиотерапевтическими средствами, а так же для повышения продуктивности животных.

2.2.2. Токсикологическая характеристика препарата Зимун 4.24

В эксперименте по определению острой токсичности Зимуна 4.24 гибели подопытных животных не наблюдалось, что говорит об отсутствии токсических свойств при непродолжительном применении препарата. Результаты исследования токсичности при нанесении на кожу и слизистые оболочки указывают на отсутствие раздражающего действия Зимуна 4.24.

Оценивая степень опасности Зимуна 4.24 при длительном воздействии на лабораторных животных так же не удалось обнаружить каких-либо негативных последствий, а наоборот был выявлен стимулирующий эффект на прирост живой массы, дыхательную функцию крови и фагоцитарную активность нейтрофилов белых мышей.

При оценке отдалённых последствий применения больших доз Зимуна 4.24 доказано, что он не обладает негативным действием на репродуктивную функцию и не вызывает мутаций половых клеток лабораторных животных. Следовательно, препарат Зимун 4.24 можно считать безопасным средством для энтерального и парентерального применения.

2.2.3. Клиническое состояние, морфо-биохимический статус и показатели естественной резистентности подопытных телят

При проведении двух серий опытов по определению терапевтической

эффективности Зимуна 4.24 у телят больных неспецифической бронхопневмонией обнаружены характерные клинические признаки соответствующие острой катаральной форме болезни. Серологической диагностикой исключены вирусные респираторные болезни - парагрипп — 3 и инфекционный ринотрахеит.

Обнаруженные клинические проявления бронхопневмонии сопровождались существенными сдвигами в морфо-биохимическом статусе больных телят. Они касались достоверного снижения количества гемоглобина в крови на 12,9 — 22,7 %, эритроцитов на 10,3 — 24,2 %. Соответственно снижены цветной показатель и среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, что может говорить о нарушении дыхания и транспорта кислорода к органам и тканям организма.

Количество лейкоцитов в крови больных животных было повышено на 30,3 - 67,2 %. В лейкограмме отмечаются явления базофилии, эозинофилии, нейтрофилии со сдвигом ядра влево, а также моноцитоз.

Содержание общего белка в сыворотке крови больных телят ниже показателя здоровых животных на 5,8 — 16,7 %. Во фракционном составе белков наблюдаются изменения, характеризующиеся достоверным снижением доли альбуминовой фракции на 9,6 - 29,1%, повышением аглобулинов на 11,2 - 23,0 %, Р-глобулинов на 33,9 - 51,2 % и углобулинов на 4,9 - 10,4 %. Содержание Р-липопротеидов в сыворотке крови больных телят достоверно увеличено по сравнению со здоровыми животными на 16,3 — 23,5 %. Достоверно снижен в сыворотке крови больных телят уровень глюкозы на 41,1 - 50,4 %, активность аланинаминотрансферазы возростала на 88,2 - 111,8 %, аспартатаминотрансферазы на 31,3-50,0%.

При анализе показателей минерального обмена можно отметить снижение кальция в сыворотке крови на 10,1 - 14 %. Щелочной резерв у телят опытных групп достоверно снижен на 16,6 - 23,7 %.

Фагоцитарная активность крови и бактерицидная активность сыворотки крови у больных телят достоверно ниже показателей здоровых животных, а лизоцимная активность сыворотки крови повышена. При проведении внутрикожной гистаминовой пробы у больных телят утолщение кожной складки было ниже контрольных и составляло 1,3 - 1,5 мм, что является отрицательной реакцией, указывающей на низкую барьерную функцию организма.

2.2.4. Определение оптимальной дозы и способов введения Зимуна 4.24 для лечения неспецифической бронхопневмонии телят

Для постановки эксперимента по определению оптимальной дозы и способа введения Зимуна 4.24 для лечения неспецифической бронхопневмонии телятам 1-ой группы в качестве основного лечения применяли внутримышечное введение Зимуна 4.24 в дозе 0,035 мл/кг живой массы два раза в сутки. Телятам 2-ой группы внутримышечно инъецировали препарат в дозе 0,07 мл/кг живой массы один раз в сутки. Телятам 3-ей группы внутримышечно в дозе 0,14 мл/кг живой массы один раз в сутки. Телятам 4-ой группы вводили внутривенно Зимун 4.24 в дозе 0,017 мл/кг живой массы два раза в сутки, 5-ой группе - внутривенно 0,035 мл/кг жи-

вой массы один раз в сутки, 6-ой группе телят - 0,07 мл/кг живой массы внутривенно один раз в сутки. Телятам всех опытных групп в качестве симптоматического лечения применяли мукалтин внутрь в дозе 100 мг на голову 2 раза в сутки; аскорбиновую кислоту внутрь по 300 мг на голову 2 раза в сутки и тривит внутримышечно 2 мл на голову однократно.

Все предложенные для испытания дозы и способы введения в организм препарата в сочетании с симптоматическим лечением обладали положительным влиянием на состояние больных бронхопневмонией телят. Клиническое выздоровление наступало на 4 - 6 сутки терапии.

Под действием проведённой терапии изменялись морфо-биохимические показатели крови. Так, в крови телят увеличивалось содержание гемоглобина и эритроцитов, снижалось количество лейкоцитов, что указывает на повышение дыхательной и защитной функций крови.

После лечения телят произошло повышение уровня общего белка и нормализация его фракционного состава, выражающееся в увеличении процентного содержания альбуминов, уменьшении общего содержания глобулинов, что свидетельствует о положительном лечебном эффекте. Содержание глюкозы, каротина и общих липидов в сыворотке крови после лечения повышалось и недостоверно отличалось от показателей здоровых телят.

При использовании Зимуна 4.24 один раз в сутки внутримышечно в дозах 0,07 и 0,14 мл/кг живой массы и внутривенно в дозе 0,035 и 0,07 мл/кг живой массы, сокращались сроки клинического выздоровления приблизительно на 24 часа, чем при внутримышечном введении в дозе 0,035 мл/кг живой массы и внутривенном в дозе 0,017 мл/кг живой массы два раза в сутки.

Наиболее выраженные изменения морфо-биохимических показателей крови и прироста живой массы отмечались при использовании Зимуна 4.24 один раз в сутки внутримышечно в дозах 0,07 и 0,14 мл/кг живой массы и внутривенно в дозе 0,035 и 0,07 мл/кг живой массы.

Достоверных различий в результатах лечения телят Зимуном 4.24 при внутримышечном и внутривенном введении не наблюдалось. Из-за трудоёмкости и определённого риска, возникающего при нарушении методики внутривенного введения лекарственных средств, наиболее приемлемым можно считать применение Зимуна 4.24 внутримышечно в дозах 0,07 и 0,14 мл/кг живой массы.

2.2.5. Сравнительная эффективность комплексной терапии с использованием антибиотика и препарата Зимун 4.24

При проведении эксперимента телят 1 группы лечили антибиотиком ципрофлоксацином — внутрь в дозе 250 мг на голову 2 раза в сутки. Выбор данного препарата обусловлен чувствительностью к нему микрофлоры (метод диффузии в агар), выделенной из носовых истечений больных телят. Вокруг 20-ти других антибиотиков зона задержки роста микробов отсутствовала.

Телятам 2 группы применяли внутримышечное введение Зимуна 4.24 в дозе 0,07 мл/кг живой массы один раз в сутки. Телятам 3 группы Зимун 4.24 вводили так же, но с кратностью 2 раза в сутки. Телят 4 группы лечи-

ли Зимуном 4.24 внутримышечно в дозе 0,14 мл/кг живой массы один раз в сутки. Животным всех групп применяли симптоматическое лечение аналогичное предыдущему эксперименту. Препараты вводили до полного клинического выздоровления.

В результате лечения телят ципрофлоксацином клиническое выздоровление регистрировали на $7,0 \pm 0,45$ сутки, а при терапии Зимуном 4.24 на 4-5 сутки. Зависимость от дозы и кратности введения Зимуна 4.24 отсутствовала.

В процессе лечения телят всех групп произошли существенные изменения показателей крови телят (табл. 1).

1. Показатели крови телят на 15 сутки после начала лечения

Показатели	Стат. показ.	Группы				Здоровые
		Контроль	Опыт			
			1	2	3	
Гемоглобин, г/л	$X \pm S_x$	$98,7 \pm 5,28$	$108,5 \pm 6,59$	$109,6 \pm 5,91$	$111,0 \pm 6,64$	$109,2 \pm 6,46$
	%	-	+9,9	+11,04	+12,5	+10,6
Эритроциты, 10^{12} л	$X \pm S_x$	$5,97 \pm 0,10$	$6,27 \pm 0,16$	$6,22 \pm 0,14$	$6,29 \pm 0,16$	$6,24 \pm 0,12$
	%	-	+5,03	+4,2	+5,4	+4,5
Цветной показатель	$X \pm S_x$	$0,99 \pm 0,01$	$1,04 \pm 0,01^*$	$1,06 \pm 0,02^*$	$1,06 \pm 0,01^*$	$1,05 \pm 0,01^*$
	%	-	+5,1	+7,1	+7,1	+6,1
СГЭ, пг	$X \pm S_x$	$16,5 \pm 0,14$	$17,3 \pm 0,13^*$	$17,6 \pm 0,16^*$	$17,6 \pm 0,15^*$	$17,5 \pm 0,12^*$
	%	-	+4,8	+6,7	+6,7	+6,1

Примечание: * разница между опытом и контролем достоверна

При терапии ципрофлоксацином количество гемоглобина, эритроцитов по сравнению с показателями здоровых животных различались не достоверно. Цветной показатель, находящийся у больных телят ниже физиологической нормы, после терапии увеличивался на 19,3 %, а среднее содержание гемоглобина в одном эритроците на 19,6 %. Перечисленные показатели достоверно ниже таковых у здоровых животных, но при этом соответствуют нормативным значениям.

При лечении Зимуном 4.24 данные показатели так же достигают значений здоровых животных. При этом данные величины выше по сравнению с животными из группы, где применяли антибиотик.

После лечения телят с использованием антибиотика ципрофлоксацина происходит достоверное снижение общего числа лейкоцитов на 39,9 % по сравнению с показателем больных животных и на 23,6 % по сравнению со здоровыми животными (табл. 2).

В лейкограмме происходят сдвиги, направленные на увеличение процента базофилов и нейтрофилов, особенно палочкоядерных и снижения лимфоцитов и моноцитов. По сравнению с показателями здоровых животных отмечаются явления эозинопении, нейтрофилии со сдвигом ядра влево и моноцитопении. Указанные изменения лейкограммы характерны для животных с пониженным иммунитетом и антитоксической функций.

После лечения телят Зимуном 4.24 количество лейкоцитов по сравнению со здоровыми животными ниже на 7,3 - 11,4 %, по сравнению с телятами, которых лечили ципрофлоксацином количество лейкоцитов повышено на 9,6 - 14,6 %. В лейкограмме после лечения Зимуном 4.24 проис-

ходит снижение базофилов, эозинофилов, юных и палочкоядерных нейтрофилов; повышение доли лимфоцитов и моноцитов и незначительно сегментоядерных нейтрофилов. В сравнении с группой здоровых телят повышено число лимфоцитов и моноцитов. По сравнению с животными из группы, где применяли ципрофлоксацин достоверно повышено число эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов; снижено палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Указанные изменения говорят о благоприятном исходе болезни и усилении защитных сил организма у телят, которым применяли Зимун 4.24.

2. Количество лейкоцитов и лейкограмма крови телят после лечения

Показатели	Группы				
	Контроль	Опыт			Здоровые
		1	2	3	
Лейкоциты, 10^9 л %	7,41±0,60 -	8,12±0,42* +9,6	8,49±0,63* +14,6	8,23±0,38* +11,1	9,16±0,46* +23,6
Базофилы, %	2,1±0,29	0,7±0,18	1,1±0,40	0,9±0,33	0,6±0,20
Эозинофилы, %	2,9±0,28	4,2±0,22	4,4±0,48	4,6±0,40	4,6±0,34
Юные, %	0,8±0,41	0,4±0,24	0,6±0,29	0,4±0,19	0,4±0,24
Палочкоядерные, %	8,2±0,28	2,8±0,39	2,2±0,37	2,1±0,24	2,6±0,32
Сегментоядерные, %	33,1±2,32	24,4±2,13	25,1±2,11	23,7±2,28	29,1±2,54
Лимфоциты, %	51,5±2,47	62,4±2,23	60,3±2,16	62,2±2,42	57,8±2,33
Моноциты, %	1,3±0,68	5,4±0,24	5,2±0,78	6,0±0,69	3,8±0,72

Примечание: * разница между опытом и контролем достоверна

После лечения телят всех групп происходит нормализация биохимических показателей, характеризующих состояние белкового, углеводного, минерального обменов и активность ферментов переаминирования (табл.3).

Так, после лечения телят 1-ой группы содержание общего белка в сыворотке крови повышалось на 3,8 %, а β -липопротеидов понижалось на 7,3%. По сравнению со здоровыми животными показатели недостоверны. Соотношение белковых фракций после лечения направлено на повышение доли альбуминов до 41,6%, α -глобулинов на 11,6% и снижения γ -глобулинов на 24,2%. По сравнению со здоровыми животными достоверно повышен процент α и β -глобулинов.

После лечения телят 2-ой группы изменения носили ту же направленность, что и в 1 группе, но степень выраженности более достоверна. После терапии Зимун 4.24 количество общего белка, альбуминов и γ -глобулинов достоверно выше, а α и β -глобулинов и β -липопротеидов ниже, чем у животных, которых лечили ципрофлоксацином, а количество общего белка выше, чем у здоровых телят, за счёт γ -глобулиновой фракции.

После лечения телят 1-ой группы происходит повышение уровня глюкозы в сыворотке крови на 28,1 %, общего кальция на 6,8 %, неорганического фосфора на 2,2 % и щелочного резерва на 14,6 %; понижение активности ферментов АЛАТ и АсАТ на 40,7 и 7,7 %. Разница показателей

по сравнению со здоровыми животными не достоверна.

3. Биохимические показатели сыворотки крови телят после лечения

Показатели	Стат. показ.	I группы				Здоровые
		Контроль	Опыт			
		1	2	3	4	
Общий белок, г/л	X ± S _x %	64,37±0,65 -	73,50±0,59* +14,2	75,12±0,67* +16,7	75,00±0,68* +16,5	70,17±0,81* +9,0
Альбумины, %	X ± S _x %	38,2±0,46 -	44,6±1,01* +16,8	40,2±0,66* +5,2	47,3±1,24* +23,8	41,4±1,01* +8,4
α-глобулины, %	X ± S _x %	24,1±0,57 -	16,2±0,49* -32,8	17,7±0,58* -26,6	15,3±0,44* -36,5	20,1±0,48* -16,6
β-глобулины, %	X ± S _x %	15,3±0,58 -	11,6±0,81* -24,2	14,6±0,54 -4,6	11,0±1,13* -28,1	12,8±0,71* -16,3
γ-глобулины, %	X ± S _x %	21,3±1,46 -	29,6±1,12* +39,0	29,4±1,56* +38,0	27,6±1,21* +29,6	25,4±1,24 +19,2
β-липопротеиды, мг%	X ± S _x %	146,8±2,19 -	136,1±3,27* -7,3	132,4±4,12* -9,8	137,6±3,01* -6,3	130,4±3,21* -11,2
Глюкоза, ммоль/л	X ± S _x %	1,87±0,15 -	2,16±0,20 +15,5	2,10±0,24 +12,3	2,08±0,18 +11,2	2,21±0,17 +18,2
Общий кальций, ммоль/л	X ± S _x %	2,19±0,09 -	2,17±0,08 -0,9	2,21±0,09 +0,9	2,14±0,06 -2,3	2,27±0,06 +3,7
Неорганический фосфор, ммоль/л	X ± S _x %	1,86±0,06 -	1,81±0,06 -2,7	1,86±0,05 -	1,87±0,07 -0,5	1,85±0,05 -0,5
АлАТ, ммоль/л	X ± S _x %	0,54±0,07 -	0,45±0,09 -16,7	0,41±0,08 -24,1	0,42±0,10 -22,2	0,36±0,08 -33,3
АсАТ, ммоль/л	X ± S _x %	0,84±0,16 -	0,68±0,18 -19,0	0,67±0,15 -20,2	0,70±0,18 -16,7	0,69±0,15 -17,9
Щелочной резерв, об% CO ₂	X ± S _x %	47,1±2,6 -	45,4±2,1 -3,6	46,5±1,18 -1,3	46,1±2,0 -2,12	46,6±2,0 -1,1

Примечание. * разница между опытом и контролем достоверна

Изменения биохимических показателей сыворотки крови у телят 2,3 и 4-ой групп отличались друг от друга недостоверно. После лечения происходили аналогичные изменения, что и после лечения телят 1-ой группы. Так, у телят 2,3 и 4 групп на 15 сутки после начала терапии происходило увеличение концентрации глюкозы в сыворотке крови соответственно на 34,2; 40,0 и 42,5 %, общего кальция на 5,9; 9,4 и 15,8 % и щелочного резерва на 10,5; 20,5 и 22,6 %; понижалась активность ферментов АлАТ на 31,8; 33,9 и 43,7 % и АсАТ на 19,0; 20,2 и 19,5 %. Разница показателей по сравнению со здоровыми животными не имеет достоверных различий.

Обнаруженные изменения биохимических показателей сыворотки крови указывают на восстановление нарушенных звеньев в обменных процессах после лечения. Увеличение содержания общего белка в сыворотке крови указывает на нормализацию белкового обмена и является показателем, характеризующим восстановление продуктивности телят после выздоровления. Повышение доли альбуминовой фракции связано с повышением онкотического давления, снижением выхода жидкой части крови в легочную ткань и просвет дыхательных путей, улучшением в конечном

итоге дренажной функции воздухоносных путей и легочного газообмена. Повышение γ -глобулинов после лечения телят Зимунот 4.24 говорит о повышении образования антител и стимуляции неспецифической резистентности, снижение этого показателя после терапии ципрофлоксацином может служить следствием иммуносупрессивного действия данного антибиотика. Снижение β -липопротеидов в сыворотке крови после лечения телят является следствием повышения функциональной активности легочной ткани, восстановления липидного и белкового обменов.

Увеличение количества глюкозы в сыворотке крови и достижение нормы после лечения говорит о нормализации функции печени и почек, отсутствии ацидоза. Концентрация глюкозы ниже у телят, которых лечили ципрофлоксацином, при этом разница по сравнению со здоровыми животными не достоверна.

Повышение концентрации общего кальция в сыворотке крови и достижении нормы кальций-фосфорного соотношения может служить показателем нормализации минерального обмена и говорит о положительных результатах лечения.

Снижение активности ферментов переаминирования, свидетельствует о восстановлении функциональной активности печени и сердечной мышцы. Повышение щелочного резерва до уровня здоровых телят указывает на отсутствие ацидоза вследствие восстановления функции легочной ткани и дыхательной функции крови.

Терапия с использованием ципрофлоксацина и Зимунот оказала выраженное влияние на показатели неспецифической резистентности телят (рис. 1,2).

Под действием ципрофлоксацина произошло подавление защитных сил организма, выражающееся снижением фагоцитоза, лизоцимной активности сыворотки крови и отрицательным результатом гистаминовой пробы. Повышение под действием ципрофлоксацина бактерицидной активности сыворотки крови возможно связано с циркуляцией его продуктов в организме телят.

Под действием терапии с использованием Зимунот 4.24 произошло высокодостоверное повышение всех показателей неспецифической резистентности телят. Оценивая результаты гистаминовой пробы, на 5-ые сутки после начала лечения происходит значительное утолщение кожной складки до 5,5-6,5 мм - это положительная реакция, свидетельствующая о стимуляции фагоцитарной активности клеточных элементов и потенциальных возможностей естественной резистентности.

Все показатели неспецифической резистентности телят выше показателей здоровых животных, что указывает на стимуляцию иммунитета Зимунот 4.24. Характер происходящих изменений неспецифической резистентности телят не зависел от кратности и схемы назначения препарата. Однако гистаминовой пробой выявлено, что внутримышечное введение Зимунот 4.24 в дозе 0,07 мл/кг живой массы 2 раза в сутки обладает более продолжительным стимулирующим эффектом на активность клеточных элементов, чем использование аналогичной дозы один раз в сутки, а под действием дозы 0,14 мл/кг наблюдается несколько менее выраженная реакция со стороны иммунной системы.

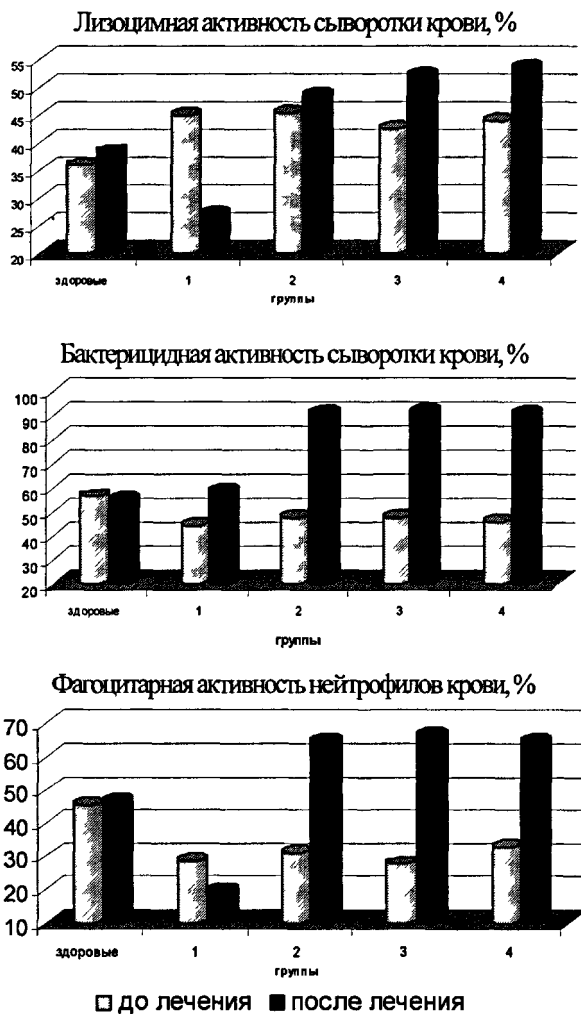


Рис 1. Показатели неспецифической резистентности телят до и после лечения

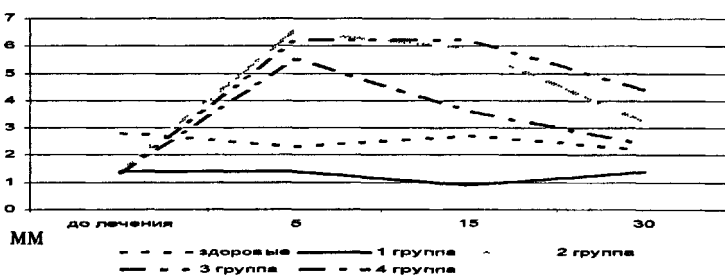


Рис. 2. Результаты внутрикожной гистаминовой пробы

После лечения телят всех групп происходило повышение живой массы, что говорит о положительных результатах лечения. Парентеральное введение препарата Зимун 4.24 помимо лечебного действия обладает стимулирующим влиянием на прирост живой массы телят, что выражается большей интенсивностью роста через 30 суток после начала лечения по сравнению со здоровыми животными (рис 3).

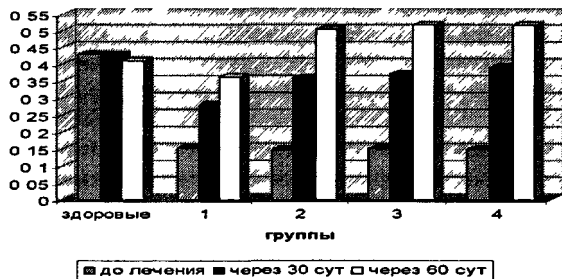


Рис. 3. Среднесуточный прирост живой массы до на 30 и 60 сутки после начала лечения, кг

Экономическая эффективность на один рубль затрат при лечении ципрофлоксацином составляет 5,71 руб., при лечении Зимуном 4.24 в дозе 0,07 мл/кг ж.м. один раз в сутки - 9,26 руб., при использовании аналогичной дозы два раза в сутки - 7,49 руб. и при использовании дозы 0,14 мл/кг ж.м. один раз в сутки - 7,28 руб.

При проведении эксперимента отмечено, что при внутримышечном введении Зимуна 4.24 телятам больным бронхопневмонией наблюдался непродолжительный пирогенный эффект. Максимальное повышение температуры тела происходило на 1-2 сутки лечения через 30 минут после введения (на 0,79 - 1,24 °С), через 60 минут температура понижалась (повышение на 0,11 - 0,32 °С), а через 120 минут возвращалась к исходному значению. При выздоровлении телят происходит снижение пирогенного эффекта. Какой - либо зависимости повышения температуры тела от дозы препарата не наблюдалось. В меньшей степени пирогенный эффект связан с количеством инъекций препарата. Это следует из того, что при лечении телят 3 группы число инъекций препарата было в 2 раза больше, чем при лечении телят 2-ой и 4-ой групп, а разность температур в зависимости от сроков измерения не имела достоверных отличий.

2.2.6. Эффективность препарата Зимун 4.24 при профилактике неспецифической бронхопневмонии телят

В течение 6 месяцев наблюдения за телятами отмечали, что ни один телёнок из опытной группы не заболел, а из контрольной заболело 7 телят с признаками поражения органов респираторного тракта. При диагностике был поставлен диагноз острая катаральная бронхопневмония. Заболеваемость составила 28 %.

Больных телят лечили Зимуном 4.24 в сочетании с симптоматическим лечением (аскорбиновая кислота, мукалтин и тривит в вышеуказанных

дозах). Зимун 4.24 вводили внутримышечно в дозе 0,07 мл/кг живой массы 1 раз в сутки. В результате терапии все больные телята выздоровели на 4-6 сутки лечения, падежа не было.

У телят опытной группы среднесуточный прирост живой массы был выше в среднем на 18,5 %, чем у животных контрольной группы. При этом для профилактики телят опытной группы израсходовано 75 мл препарата Зимун 4.24, что в среднем составляет 3 мл на 1 голову, а для лечения телят контрольной группы потрачено около 200 мл препарата, что в среднем составляет 8 мл на 1 голову. При этом за 6 месяцев наблюдения в среднем с каждого телёнка дополнительно получено 14,8 кг живой массы, чем при проведении лечебных мероприятий с использованием аналогичного препарата.

Экономическая эффективность проведённых профилактических мероприятий на 1 рубль затрат составляет 19,2 руб.

ВЫВОДЫ

1. Препарат Зимун - 4.24 не обладает острой и хронической токсичностью, кумулятивным эффектом, не вызывает развития септических процессов и воспалительных реакций. Его длительное парентеральное применение в высоких дозах не оказывает повреждающего воздействия на внутренние органы и картину крови белых мышей, он не обладает негативным влиянием на репродуктивную функцию и не вызывает мутаций половых клеток.
2. Введение белым мышам Зимуну 4.24 в течение 30 суток оказывает стимулирующий эффект на прирост живой массы, дыхательную функцию крови и фагоцитарную активность нейтрофилов.
3. Препарат Зимун 4.24 обладает непродолжительным (30-60 минут) пирогенным действием на больных бронхопневмонией телят. В процессе выздоровления происходит ослабление пирогенного эффекта.
4. Зимун 4.24 при внутримышечном и внутривенном способах введения в сочетании с симптоматическим лечением обладает выраженным терапевтическим эффектом при острой катаральной бронхопневмонии телят. Наиболее эффективным и экономически оправданным оказалось внутримышечное введение Зимуну 4.24 в дозе 0,07 мл/кг живой массы один раз в сутки в течение 5 суток. Экономическая эффективность на один рубль затрат составляет 9,26 руб.
5. Под действием Зимуну 4.24 происходит стимуляция прироста живой массы, дыхательной функции крови, белкового обмена и неспецифической резистентности телят.
6. Лечение неспецифической бронхопневмонии телят ципрофлоксацином в сочетании с симптоматическим лечением менее эффективно, чем Зимуну 4.24. Под действием ципрофлоксацина происходит угнетение неспецифической резистентности и функциональной активности печени телят. Экономическая эффективность на один рубль затрат составляет 5,71 руб.

7. Эффективность Зимуна 4.24 при профилактике неспецифической бронхопневмонии телят составила 100 %. При этом прирост живой массы оказался на 18,5 % выше, а препарата израсходовано в 2,7 раза меньше, чем при проведении лечебных мероприятий. Экономическая эффективность на один рубль затрат составила 19,2 руб.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения телят, больных острой формой катаральной бронхопневмонии, рекомендуем внутримышечное введение Зимуна 4.24 в дозе 0,07 мл/кг живой массы 1 раз в сутки до выздоровления в сочетании с мукалтином из расчёта 100 мг на голову 2 раза в сутки, аскорбиновой кислотой по 300 мг на голову 2 раза в сутки и внутримышечным введением тривитамина в дозе 2 мл на голову однократно.
2. С профилактической и ростостимулирующей целью рекомендуем введение Зимуна 4.24 трёхкратно внутримышечно с интервалом 48 часов в дозе 1 мл на 1 голову.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мифтахутдинов А.В. Изучение острой токсичности и раздражающего воздействия пробиотического препарата Зимун - 4.24. Актуальные проблемы ветеринарной медицины. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной юбилею П.С. Лазарева. УГАВМ - 2003, с. 78-79.
2. Мифтахутдинов А.В. Влияние длительного воздействия препарата Зимун - 4.24 на некоторые гематологические показатели и фагоцитарную активность белых мышей. Материалы VII межрегиональной научно-практической конференции «Перспективные направления научных исследований молодых учёных и специалистов Урала и Сибири». Троицк - 2003, с. 22-25.
3. Мифтахутдинов А.В. Токсическое действие препарата Зимун - 4.24 на лабораторных животных. Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных. Троицк - 2003, с 48-52.
4. Мифтахутдинов А.В. Оценка отдалённых действий препарата Зимун - 4.24 на белых мышах. Материалы Российской научно-практической конференции «Новые пробиотические и иммунотропные препараты в ветеринарии». Новосибирск-2003, с 69-71
5. Мифтахутдинов А.В. Скрининг препарата Зимун - 4.24 на лабораторных животных/ А.В. Мифтахутдинов, И.М. Самородова, Н.Т. Мифтахутдинов, С.Ж. Гюрджи-Оглы// Материалы Российской научно-практической конференции «Новые пробиотические и иммунотропные препараты в ветеринарии». Новосибирск-2003, с. 65-68.
6. Мифтахутдинов А.В. Токсикологическая характеристика препарата Зимун 4.24 // БИО - №07. - 2004. - с. 21-24.
7. Мифтахутдинов А.В., Десятник В.И., Самородова И.М. Патоморфология органов и тканей белых мышей при длительном воздействии препарата Зимун - 4.24. Материалы VIII межрегиональной научно-практической конференции «Перспективные направления научных исследований молодых учёных и специалистов Урала и Сибири». Троицк - 2004, с 76-79.

На правах рукописи

Мифтахутдинов Алевтин Викторович

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЗИМУН 4.24
ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ
БРОНХОПНЕВМОНИИТЕЛЯТ**

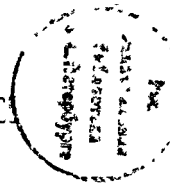
16.00.04 - Ветеринарная фармакология с токсикологией
Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Сдано в набор 11.01.2005 г. Подписано в печать 13.01.2005 г.
Формат 60x84/16. Объем 1 печ. л. Тираж 100 экз.
Заказ № 571. Гарнитура Times New Roman

Издательский центр УГАВМ, лицензия ЛР №01252 от 31 октября 1997 г.
457100, г. Троицк, Челябинская обл., ул. Гагарина 13.
Тел.(35163)2-64-75

BT.

16 FEB 2003



1842