

Маслова Вера Владимировна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ
ЖИВОТНЫХ И ТЕЛЯТ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ШАШЕК
«ТАМБЕЙ» И «ВИМАЛ»**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Диссертация выполнена в ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет»

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, профессор
Татарникова Наталья Александровна

Официальные оппоненты:

Бойко Татьяна Владимировна

доктор ветеринарных наук, профессор
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина», заведующая кафедрой диагностики внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства

Удавлиев Дамир Исмаилович

доктор биологических наук, профессор
ФГБОУ ВО " Московский государственный университет пищевых производств, институт ветеринарно-санитарной экспертизы, биологической и пищевой безопасности», профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и биологии

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «__»_____2018г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский аграрный университет имени Н.И.Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, тел. Телефон: (8452)-23-32-92, Факс: (8452)-23-47-81, E-mail: rector@sgau.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Саратовский аграрный университет имени Н.И.Вавилова» и на сайте www.sgau.ru.

Автореферат разослан «__»_____2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ:

1.1 Актуальность исследования. К ветеринарным препаратам в настоящее время предъявляются особые требования, что связано с интенсификацией сельскохозяйственного производства в сфере молочного и мясного животноводства. Заболевания сельскохозяйственных животных, в том числе, заболевания органов дыхания, вызывают снижение продуктивности животных, увеличивают процент их выбраковки, а также приводят к утилизации продукции от больных животных из-за применения различных лекарственных препаратов (И.А. Губанова, 2003; А.Г. Шахов, 2003; А.Я. Батраков, Т.К. Донская, С.В. Винникова, О.А. Ришко, 2015; M.R. Askermann at all, 2010).

В настоящее время для лечения острых респираторных заболеваний сельскохозяйственных животных преимущественно используют антибиотики, сульфаниламиды и их комбинации (Ф.А. Мещеряков, В.Л. Ромм, А.Н. Пилипенко, П.А. Хоришко, В.К. Свистухина, А.Н. Квочко, 1999; А.В. Олейник, 2009; Г.В. Сноз, Г.И. Горшков, Е.Г. Яковлева, Э.А. Кравченко, М.Б. Тарасов, Я.Т. Хмельков, 2010). Использование этих препаратов сопровождается определенными негативными последствиями – возможное формирование устойчивости возбудителей к противомикробным препаратам, возможность попадания в организм человека с продуктами животного происхождения, лечение заболеваний верхних дыхательных путей и легких у животных включается в производственный цикл предприятия, что требует дополнительных затрат (M.R. Askermann at all, 2010). Профилактика заболеваний основана на использовании средств для санации помещений для содержания животных и связана с использованием таких препаратов как формалин, йодистый калий и т.д. (И.Н. Щедров, В.П. Николаенко, Г.В. Ляпохов, 2005; В.Н. Банников, 2007; И. И. Кочиш, 2013; G. Mcdonnell, A.D. Russell, 1999). Препараты применяются в отсутствие животных, что не всегда является удобным, особенно в зимний период. С целью профилактики и лечения можно использовать фумигационные препараты с ингаляционным путем введения (А.И. Фокин, 2010; О.А. Бурова, А.А. Блохин, В.В. Исаев, 2013; А.А. Карташова, 2014).

При ингаляционном пути введения происходит интенсивное всасывание препаратов, достигается депонирование лекарственных веществ лимфатической системой легких и длительное сохранение их высоких концентраций в крови. Возникает непосредственный контакт препарата с возбудителем в очаге поражения, стимулируется выработка антител слизистой оболочкой дыхательных путей, отсутствуют стрессовые состояния у животных из-за фиксации и болевых ощущений, повышается производительность труда и резко снижается трудоемкость лечебной работы (Д.К. Червяков, 1970). Одним из ингаляционных методов лечения заболеваний бронхолегочной системы животных является фумигационно-аэрозольная технология применения лекарственных веществ с использованием термовозгонных шашек. В настоящее время в практическом животноводстве используются шашки, содержащие йод и его соединения в качестве действующих веществ (А.И. Фокин, 2010; О.А. Бурова, А.А. Блохин, В.В. Исаев, 2013; А.А. Карташова, 2014). Терапевтическое действие йода лежит в основе этиотропной терапии, так как он воздействует на возбудителя заболеваний грибковой, вирусной и микробной природы (W. Gottardi, 1991; G. Mcdonnell, A. D. Russell, 1999). В настоящее время существует потребность в разработке новых фумигационных препаратов с иным механизмом действия, с целью их использования в практическом животноводстве взамен традиционной антибиотикотерапии, малотоксичных, удобных в применении и имеющих более низкую стоимость, чем антимикробные препараты в других формах.

Таким требованиям отвечают лекарственные препараты из растительного сырья, являющиеся неизученными и неиспользуемыми в качестве лекарственных средств для лечения животных. Эти препараты являются экологически чистыми, обладают высокими терапевтическими свойствами и не снижают качества молока и мяса (В.В. Николаевский, А.Е. Еременко, И.К. Иванов, 1987; А.В. Червинская, 1999; В.В. Николаевский, 2000; И. А. Буренина, 2009). К числу этих растений относятся все эфирноносные растения, из которых выделяют эссенциальные масла, обладающие биологической активностью (К.А. Hammer, С.Ф. Carbon, Т.В. Riley, 1999; D. Kalemба, А. Kunicka, 2003; М.С. Foti, К.У. Ingold, 2003; С.Ф. Carson, К.А. Hammer, Т.В. Riley, 2006; С.Ј. Papadopoulos, С.Ф. Carson, В.Ј. Chang, Т.В. Riley, 2008; М.А. Saleh, S. Clark, В. Woodard, S.А. Deolu-Sobogun, 2010). В связи с изложенным выше, расширение научных исследований по изучению морфологических аспектов лабораторных и сельскохозяйственных животных по силе воздействия на их организм фумигационных препаратов с различными действующими веществами является актуальной задачей.

1.2 Степень разработанности проблемы. Разработка новых термовозгонных шашек, содержащих в качестве действующих веществ компоненты, обладающие биологическим действием, должна сопровождаться исследованиями их безопасности и биологической активности. Для внедрения новых термовозгонных шашек в ветеринарную практику необходимо исследовать их на безопасность и определить морфофункциональное состояние животных при воздействии шашек.

В настоящее время в практической ветеринарии применяют фумигационные препараты в виде термовозгонных шашек, такие как «Диксам», «Фумийод», «ГААС», которые с успехом используются для лечения и профилактики острых респираторных заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц (А.И. Фокин, 2010; О.А. Бурова, А.А. Блохин, В.В. Исаев, 2013; А.А. Карташова, 2014). Однако, в зависимости от региона, экономически целесообразно использовать термовозгонную смесь определенного состава, которая легкодоступна и дешева для конкретного региона, низкотоксична и способна обеспечивать эффективную возгонку действующих веществ, что позволяет разработать на ее основе новые препараты, содержащий в качестве действующих веществ пихтовое масло и йод. В настоящее время имеются недостаточные данные по токсичности и биологическому действию шашек с йодом. Проблема использования фумигационных ветеринарных препаратов с эссенциальными маслами пока не решена, не изучен механизм действия компонентов шашек на морфофункциональные показатели животных.

1.3 Цель и задачи исследований. Цель исследования – изучить влияние на морфофункциональные и клинические показатели лабораторных животных и телят термовозгонных шашек, содержащих в качестве действующего вещества кристаллический йод и пихтовое масло.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Установить влияние шашек «Тамбей» и «Вимал» на морфофункциональное состояние лабораторных животных.
2. Изучить динамику клинического статуса телят с острым бронхитом при лечении шашкой «Тамбей».
3. Изучить морфологическую структуру внутренних органов (сердце, легкие, трахея, печень, почка) лабораторных животных при воздействии шашек «Тамбей» и «Вимал».
4. Выявить профилактический эффект от применения шашек «Тамбей» и «Вимал», установив влияние их компонентов (действующих веществ) на микрофлору воздуха (модельный опыт в затравочной камере и в условиях хозяйства).

Материалом для исследования являются термовозгонные шашки «Тамбей» и «Вимал». Объекты исследования – лабораторные животные (крысы и мыши), а также телята.

1.4 Научная новизна результатов исследования. Изучено влияние шашек «Тамбей» и «Вимал» на клинические показатели, а также морфологический и биохимический состав крови лабораторных животных и телят. Изучено влияние шашек на центральную нервную систему лабораторных животных. Изучены морфологические особенности органов лабораторных животных (сердце, легкие, трахея, печень, почка) при воздействии шашек «Тамбей» и «Вимал». Дана токсикологическая характеристика шашек «Тамбей» и «Вимал» с определением острой ингаляционной токсичности (CL₅₀). Изучено влияние шашек на микробную обсемененность воздуха помещений для содержания сельскохозяйственных животных, изучено их фунгицидное действие, определены возможные механизмы действия препаратов, шашки внедрены в практическое животноводство.

1.5 Теоретическая и практическая значимость работы. Состоит в изучении морфофункциональных и клинических показателей лабораторных животных и телят при применении термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал». Выявлены антимикробные и фунгицидные свойства шашек, определены действующие концентрации, установлены основные механизмы терапевтического действия, материалы и результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе при подготовке ветеринарных специалистов с высшим и средним ветеринарным образованием, разработанная методология изучения термовозгонных шашек может служить практическим руководством для разработки и изучения аналогичных препаратов. Препараты получили разрешение на промышленное производство («Вимал» - регистрационное удостоверение 40-3-10.15-2862 №ПВР-3.10.15/03204, «Тамбей» - регистрационное удостоверение 40-3-21.13-1517 №ПВР-3-1.8/02139, выданные Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору) и внедрены в ветеринарную практику.

1.6 Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Область диссертации включает изучение влияния термовозгонных шашек, предназначенных для лечения и профилактики острых респираторных заболеваний сельскохозяйственных животных, на морфофункциональное состояние организма животных и соответствует формуле специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных, по пунктам:

2. Вопросы клинической ветеринарии, принципы, методы и технологии обследования, общей, специальной и инструментальной диагностики болезней животных, частная синдроматика (кардио-, нейро-, гепато-, нефропатология, желудочно-кишечные, респираторные, репродуктивные расстройства).

5. Принципы и методы общей и частной лекарственной, физиотерапии и профилактики незаразных болезней, научные основы диспансеризации продуктивных и мелких домашних животных.

9. Структура и функции клеток, тканей и органов животных, взаимосвязь функциональных, структурных и гистохимических изменений в норме и патологии.

1.7 Апробация результатов. Материалы диссертации доложены на Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве», (Екатеринбург, 2017) и X Международной научно-практической конференции «INTERNATIONAL INNOVATION RESEARCH» (Пенза, 2017), а также на ежегодных

заседаниях ученого совета ГНУ Совета Пермского НИИСХ Россельхозакадемии по заслушивании отчетов по научно-исследовательской работе.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 6 работ, из них – 4 в изданиях, рекомендованных ВАК. Общее количество печатных листов составляет 2,91; из них 2,32 п.л. принадлежит автору.

1.8 Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Морфофункциональное состояние организма здоровых лабораторных животных и телят с респираторной патологией при применении им термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал».
2. Морфологическая структура внутренних органов лабораторных животных при воздействии ветеринарных препаратов: термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал».
3. Влияние шашек «Тамбей» и «Вимал» на патогенез респираторных заболеваний сельскохозяйственных животных. Побочные эффекты препаратов термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал», которые следует учитывать при их использовании.

1.9. Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 161 странице печатного текста и включает разделы: введение, обзор литературы, методология и методы исследований, результаты исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы, приложение. Библиографический список включает 167 источник, в том числе 65 – работы зарубежных авторов.

Благодарность. Автор выражает благодарность Солодникову Сергею Юрьевичу, заведующему лабораторией фармакологии Научно-образовательного центра прикладных химических и биологических исследований Пермского национального исследовательского политехнического университета за помощь в проведении экспериментов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ РЕЗУЛЬТАТЫ

2.1 Методология и методы исследования.

Диссертация выполнена на факультете ветеринарной медицины и зоотехнии ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет» и Научно-образовательном центре прикладных химических и биологических исследований Пермского национального исследовательского политехнического университета в соответствии с планом научно-исследовательской работы факультета ФВМиЗ на тему: «Разработка патоморфологических критериев дифференциальной диагностики инфекционных, инвазионных и онкологических заболеваний у животных в Пермском крае», номер государственной регистрации АААА-А16-116021210260-8.

Объектом исследований являлись белые мыши линии CD-1, белые крысы стока SD (Sprague Dawley), стока Wistar и WKY (Wistar-Kyoto) в соответствии с рекомендациями (А. Н. Миронов, 2012). Животные были получены из лицензированного источника, имеющего действующую AAALAC аккредитацию - НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (Московская область, г. Пущино). Также объектом исследований являлись телки черно-пестрой породы, 4-х месячного возраста учебного хозяйства Пермского государственного аграрно-технологического университета. Предмет исследования – термовозгонные шашки «Тамбей» и «Вимал», производства «Санветпрепарат плюс», г.Пермь. Термовозгонная шашка «Тамбей» представляет собой композицию термовозгонной смеси и действующего вещества. Действующее вещество препарата – пихтовое масло с содержанием борнилацетата не менее 22% от массы. Процентное соотношение термовозгонной смеси и действующего вещества – 75 и 25% соответственно. Термовозгонная шашка «Тамбей» зарегистрирована как лекарственное

средство, регистрационное удостоверение 40-3-21.13-1517 № ПВР-3-1.8/02139 (Государственный реестр лекарственных средств и кормовых добавок Минсельхоз РФ). Термовозгонная шашка «Вимал» представляет собой композицию из термовозгонной смеси на основе торфа, аммиачной селитры с регуляторами тления и действующего вещества – гранулированный йод. Процентное соотношение термовозгонной смеси и действующего вещества – 80 и 20% соответственно. Термовозгонная шашка «Вимал» зарегистрирована как лекарственное средство, регистрационное удостоверение 40-3-10.15-2862 № ПВР-3.10.15/03204 (Государственный реестр лекарственных средств и кормовых добавок Минсельхоз РФ).

Для внедрения термовозгонных шашек в ветеринарную практику необходимо исследовать их на безопасность и определить морфофункциональное состояние животных при воздействии шашек. Для этого в двух сериях опытов было изучено морфофункциональное состояние лабораторных животных, патологоанатомическая и гистологическая картина их внутренних органов при использовании препаратов «Тамбей» и «Вимал» в двойной терапевтической и максимальной терапевтической концентрации, в четырех сериях экспериментов изучили действие шашек «Тамбей» и «Вимал» в токсических концентрациях с определением параметров острой ингаляционной токсичности (CL_{50}). В трех сериях опытов было изучено функциональное состояние нервной системы лабораторных животных при воздействии термовозгонных шашек в терапевтической концентрации, в одной серии опытов изучили динамику клинического статуса у телок, больных острым бронхитом, при лечении препаратом «Тамбей», в трех сериях опытов изучили антигипоксическое действие шашек «Тамбей» и «Вимал», в двух сериях опытов изучили антимикробное действие, в двух сериях изучили фунгицидное действие шашек, а также исследовали механизм патогенеза воспалительного процесса при использовании препаратов «Тамбей» и «Вимал» в одной серии экспериментов.

Опытные и контрольные группы животных были сформированы методом сбалансированных групп-аналогов, используя в качестве критерия отбора возраст, пол животных, тяжесть течения заболевания, а также гомогенность групп по массе тела так, чтобы индивидуальная масса животных не отличалась более чем на 15% от средней массы животных одного пола. Действие шашек оценивали на основании клинического осмотра, морфофункционального состояния животных и гистологической картины их внутренних органов.

Животным опытных групп применяли термовозгонные шашки «Тамбей» и «Вимал» в терапевтической, двукратной терапевтической, максимальной терапевтической и токсических концентрациях согласно схеме опытов (Таблица 1). Животных контрольных групп шашками не обрабатывали. При исследовании антимикробного и фунгицидного действия применяли шашки в терапевтической концентрации, используя время экспозиции 30 и 120 минут.

Таблица 1 – Схема опытов

Эксперимент	Объект исследования	Группы животных/количество животных в группе	Количество серий опытов	Схема опыта
Изучение влияния шашек «Тамбей» и «Вимал» в двукратной и максимальной терапевтической концентрации	Крысы	Контрольная, 1 опытная, 2 опытная/12	2	Шашки «Тамбей» «Вимал» ингаляционно, в 2-х концентрациях, курс 7 дней, экспозиция 30 минут
Изучение влияния шашек на центральную нервную систему (методика «Открытое поле»)	Крысы	Контрольная, 1 опытная, 2 опытная/10-12	2	Шашки «Тамбей» «Вимал» ингаляционно, в 2-х концентрациях, экспозиция 30 минут, методика «Открытое поле»
Изучение влияния шашек на центральную нервную систему (методика «Темная камера с отверстиями»)	Крысы	Контрольная, 1 опытная, 2 опытная/10	1	Шашка «Тамбей» ингаляционно, в 2-х концентрациях, экспозиция 30 минут, методика «Темная камера с отверстиями»
Терапевтическое действие шашки «Тамбей»	Телята	Контрольная, опытная/6	1	Шашка «Тамбей» ингаляционно, в концентрации 1 мг/л, двукратная обработка, экспозиция 30 минут
Антигипоксическое действие шашек «Тамбей» и «Вимал», пихтового масла и термовозгонной основы	Мыши	Контрольная, 1 опытная/6-10	3	Термовозгонная смесь, пихтовое масло, шашки «Тамбей» и «Вимал» ингаляционно, в концентрации 0,8 мг/л, 0,25 мг/л, 1 мг/л, 0,1 мг/л соответственно, экспозиция 30 минут
Острая токсичность шашек «Тамбей» и «Вимал»	Мыши	4-6 опытных групп в каждой серии экспериментов/6-20	4	Шашки «Тамбей», «Вимал» и термовозгонная основа ингаляционно, в 4-6 концентрациях, экспозиция 30 и 240 минут.

Противомикробное действие шашек «Тамбей» и «Вимал»	Тест-системы	Контрольная, опытных/10 повторов	4	2	Эксперимент с шашками «Тамбей» и «Вимал» в затравочной камере и телятнике, седиментационный метод
Фунгицидное действие шашек «Тамбей» и «Вимал»	Тест-системы	Контрольная, опытных/4-6 повторов	4	2	Обработка поверхностей из дерева, железа и кафеля в затравочной камере шашкой «Тамбей» и «Вимал», в концентрации 1 и 0,1 мг/л, экспозиция 120 минут
Системное противовоспалительное действие шашек «Тамбей» и «Вимал»	Крысы	Контрольная, опытных/6	3	1	Обработка в затравочной камере шашкой «Тамбей» и «Вимал», в концентрации 1 и 0,1 мг/л, экспозиция 30 минут. Препарат сравнения – диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг

В ходе эксперимента выполняли клинико-гематологические и гистологические исследования. Материалом для исследования служили кровь, сыворотка крови, моча и внутренние органы крыс. Исследование крови проводили с использованием морфологических и биохимических методов. Кровь у животных забирали после 12 - часового голодания из хвостовой вены в объеме 1,5 мл в пробирки с ЭДТА. Сбор мочи крыс осуществлялся отдельно от фекалий с использованием метаболических клеток (TSE Systems, Германия). Вес тела животных определяли с помощью весов ScoutPro, США. Анализ мочи проводили общепринятыми методами и на полуавтоматическом анализаторе LabUreaderPlus (77 Elektronika, Венгрия) фотометрическим методом. Для проведения гистологического исследования внутренние органы фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Гистологическое исследование полученных образцов осуществляли с использованием следующего оборудования: система гистологической проводки (гистологический процессор Leica), аппарат заливки парафином (заливочная станция ESD 2800), микротом (ротационный микротом ThermoScientific HM 325), машина для окрашивания препаратов (автоматический стейнер Leica 4020), аппарат для заключения образцов после окрашивания (ThermoScientific CTM6). Окраску препаратов проводили гематоксилином и эозином. Для микроскопического исследования гистологических препаратов был использован микроскоп Axioimager A1 («Zeiss», Германия). При изучении действия препарата «Вимал» на морфофункциональное состояние крыс в верхних дыхательных путях, легких, сердце, печени, почках и селезенке титриметрическим методом количественно

определяли наличие йода. Количественное определение йода проводили по фармакопейной статье (ФС) ФС.2.2.0007.15 Йод (Государственная фармакопея XIII).

Для оценки влияния ингаляций пихтового масла, шашек с пихтовым маслом и йодом на центральную нервную систему был использован тест "Открытое поле" (Т.Д. Gould, 2009; С.С. Hall, 1936). Тест "Открытое поле" проводили в течение 5 минут, с использованием установки круглой формы. Для углубленной оценки действия шашки «Тамбей» на уровень эмоциональной реактивности использовали установку "Темная камера с отверстиями". Метод является модернизированным аналогом методики «Темная-светлая камера» (Г.Т. Саркисов, Р.Ш. Саркисян, Л.М. Карапетян, Н.Э. Акопян, Ж.С. Саркисян, И.Р. Мадатова, 2010; В.Ф. Киричук, О.Н. Антипова, Я.А. Крылова, Е.В. Андронов, 2012). Регистрировались показатели за 4-х минутный период наблюдения. Изучение влияния шашки «Тамбей» на течение острого респираторного заболевания осуществляли на целевых группах животных (телки). Эффективность лечения определяли на основании клинического осмотра и морфологического исследования крови. Взятие крови для исследований реализовывали пункцией яремной вены в средней трети шеи, кровь собирали в пробирки с ЭДТА.

Антигипоксическое действие шашек «Тамбей» и «Вимал» изучали в модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией («баночная» гипоксия), в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств» ФК МЗ СССР (Л. Д. Лукьянова, 1990). Регистрировали продолжительность жизни мышей, которую выражали в минутах.

Исследование острой токсичности препаратов было проведено в соответствии с методическими рекомендациями (А. Н. Миронов, 2012) на мышах линии CD-1. В экспериментах использовались мыши в возрасте 3-4 месяцев, экспериментальные группы состояли из особей обоего пола. В первой и второй серии опытов была изучена токсичность термовозгонной шашки «Тамбей», в третьей серии опытов была изучена токсичность термовозгонной основы шашек. В опытах по изучению острой токсичности шашки «Тамбей» и термовозгонной смеси количество животных в группе – 6-8. Для определения показателей острой токсичности шашки «Тамбей» и термовозгонной смеси исследуемые вещества вводили мышам ингаляционно однократно в четырех различных концентрациях, с использованием затравочной камеры объемом 0,16 м³. Животные находились в затравочной камере в течение 30 и 240 минут в эксперименте с шашкой «Тамбей» и 30 минут в эксперименте с термовозгонной основой шашки.

В четвертой серии опытов была изучена острая ингаляционная токсичность шашки «Вимал». В эксперименте использовали мышей линии CD-1, в возрасте 3 месяцев. Экспериментальные группы состояли из животных обоего пола, количество животных в группе – 15-20. Препарат вводился мышам ингаляционно однократно в шести различных концентрациях, использовалась затравочная камера объемом 1 м³. Животные находились в затравочной камере в течение 30 минут. Общая продолжительность наблюдения за животными в эксперименте составляла 14 дней, причем в первый день после ингаляции животные находились под непрерывным наблюдением. При определении острой токсичности шашек оценивались показатели: общее состояние животных, особенности поведения, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, нарушение координации движений, реакция на тактильные раздражители, глубина дыхательных движений состояние шерстного и кожного покрова, цвет слизистых оболочек, изменение цвета мочи, консистенция фекальных масс, потребление корма и воды. Регистрировались сроки развития интоксикации и

гибели животных. Проводилось макроскопическое исследование органов погибших животных.

Определение параметров острой токсичности проводилось с использованием методов Кербера и Беренса с определением значений CL_{16} , CL_{50} , CL_{84} (М.Н. Аргунов, В.С. Бузлама, М.И. Рецкий, С.В. Середя, С.В. Шабунин, 2005; М.Л. Беленький, 1963).

Исследование противомикробного действия термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал» проводили в лабораторных условиях и в помещениях для содержания крупного рогатого скота учебного хозяйства «Липовая гора» Пермского аграрно-технологического университета. Противомикробное действие исследуемых препаратов оценивали по изменению общей микробной обсемененности воздушной среды помещений до и после обработки соответствующими препаратами. Для оценки общей микробной обсемененности воздуха использовали метод седиментации клеток из воздуха на чашки Петри (Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева, 1993).

Фунгицидное действие термовозгонной шашки «Тамбей» оценивали в модельных опытах в двух сериях экспериментов, с использованием затравочной камеры, на базе лаборатории «Бактерицид» Пермского государственного научно-исследовательского университета. Использовали 7-ми суточные культуры плесневых грибов *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclopium* и *Mucor spp.*, взятых со стен помещения для содержания телят учебного хозяйства «Липовая гора» Пермского государственного аграрно-технологического университета. Препарат «Вимал» на фунгицидную активность тестировали на грибах *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclopium* и *Candida albicans*. Дрожжевые грибы вида *Candida albicans* были получены в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздравсоцразвития России, в исследованиях использованы 2-х суточные культуры. Определение родовой и видовой принадлежности плесневых и дрожжевых грибов было проведено методом микроскопирования путем изучения морфологических признаков с использованием определителей (В.Л. Омелянский, 1940; Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди, 2001). В качестве питательных сред использовали селективные среды Чапека-Докса, Сабуро. Суспензию спор грибов готовили по ГОСТ 9.048-89. Концентрацию спор грибов подсчитывали при помощи счетной камеры Горяева под микроскопом и определяли по методике, изложенной в руководстве под редакцией Егоровой (Н.С. Егорова, 1983).

Противовоспалительное действие шашек «Тамбей» и «Вимал» изучали в модели острой воспалительной реакции, вызванной субплантарным введением в лапу крыс 0,1 мл 1% раствора каррагинана (λ -Carrageenan фирмы Sigma). У животных онкометрически измеряли объем правой лапы на приборе «VolumeMeter-602060» (TSE Systems, Германия). Выраженность отека лапы вследствие развивающейся воспалительной реакции измеряли через 1 и 3 часа после введения каррагинана.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ GraphPadPrism 6 методом «Multiplet tests» (GraphPadSoftware, Inc., USA) и Statistica 5.0, для оценки статистической значимости различий применяли метод *t*-критериев для множественных сравнений (StatSoftInc., Tulsa, OK). Для всех количественных данных вычисляли среднее арифметическое (*M*), ошибку среднего (*SEM*). Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

2.2 Морфофункциональное состояние лабораторных животных при применении шашек «Тамбей» и «Вимал»

2.2.1. Морфофункциональное состояние лабораторных животных при применении шашки «Тамбей»

Морфофункциональное состояние лабораторных животных при применении шашки «Тамбей» исследовали при ингаляционном введении в двух концентрациях (2 и 10 мг/л), что составляет двукратную и десятикратную терапевтическую концентрацию, с экспозицией 30 минут в течение 7 дней. Оценивали общее состояние животных в ходе эксперимента и в течение 7 дней после завершения курса введения препарата. Анализы крови, мочи и гистологические исследования проводили после завершения 7 - дневного курса введения препарата.

При воздействии шашки «Тамбей» в концентрациях 2 и 10 мг/л у крыс не выявлено отклонений в габитусе, состоянии шерстного покрова и кожи, характере выделений, незначительное угнетение двигательной активности и реакции на внешние раздражители в опытных группах, по-видимому, связано с реакцией животных на дым. Использование шашки «Тамбей» в концентрациях 2 и 10 мг/л в течение 7 дней статистически достоверно не повлияло на динамику прибавки массы тела животных в сравнении с контрольной группой.

У животных, получавших шашку «Тамбей» в концентрациях 2 и 10 мг/л, количество эритроцитов, гемоглобина, цветной показатель, количество лейкоцитов, СОЭ и лейкоцитарная формула в крови статистически достоверно не отличались от показателей животных контрольной группы и находились в пределах физиологической нормы для белых крыс (А.А. Кудрявцев, 1969). Количество тромбоцитов у животных, получавших препарат в концентрациях 2 и 10 мг/л, статистически достоверно уменьшилось в сравнении с количеством тромбоцитов животных контрольной группы. Некоторое снижение количества тромбоцитов, не выходящее за рамки физиологической нормы для белых крыс, возникло от введения лекарственного вещества – пихтового масла, входящего в состав шашки «Тамбей». Эти изменения мы расцениваем как симптоматические.

Установлено, что уровень ферментов АСТ и АЛТ у животных, получавших шашку «Тамбей» ингаляционно в концентрациях 2 и 10 мг/л, статистически достоверно не отличался от аналогичных показателей крови животных контрольной группы. Наблюдали статистически достоверное увеличение концентрации глюкозы в крови у животных, получавших препарат в концентрациях 2 и 10 мг/л, по сравнению с контрольной группой. В опытных и контрольной группах уровень глюкозы составил $6,0 \pm 0,22$, $6,3 \pm 0,21$ и $5,1 \pm 0,11$ ммоль/л соответственно ($p < 0,05$). Количество общего белка у животных, получавших препарат, статистически достоверно увеличилось в сравнении с животными контрольной группы. В контрольной группе уровень общего белка составил $64,2 \pm 1,95$ г/л, у животных, получавших препарат в концентрациях 2 и 10 мг/л, уровень общего белка составил $88,2 \pm 7,85$ г/л и $86,5 \pm 7,35$ г/л ($p < 0,05$).

Уровень мочевины в крови животных, получавших препарат в концентрациях 2 и 10 мг/л, составил $4,9 \pm 0,40$ ммоль/л и $4,2 \pm 0,38$ ммоль/л и статистически достоверно увеличился в сравнении с животными контрольной группы ($2,4 \pm 0,43$ ммоль/л). Уровень креатинина в крови животных опытной группы под действием препарата в концентрации 2 мг/л увеличился по сравнению с контрольной группой и составил $84,1 \pm 8,36$ мкмоль/л ($p < 0,05$). В группе животных, получавших препарат в концентрации 10 мг/л статистически достоверного увеличения концентрации креатинина в крови не установлено.

Наблюдаемое статистически достоверное увеличение уровня глюкозы, общего белка, мочевины и креатинина в крови животных опытных групп мы связываем с изменением метаболизма печеночных клеток. Механизм действия обусловлен антиоксидантными свойствами пихтового масла и требует дальнейшего изучения. Уровень глюкозы,

общего белка, мочевины и креатинина находился в пределах физиологической нормы для крыс (А. М. Линева, 2001; S. Uhino, I. Bellomo, D. Goldsmith, 2012; I. U.Iba, O. E. Etim, N. U. Ebe, Q. A. Eghianruwa, 2014).

Показатели общего анализа мочи – рН, белок, глюкоза, лейкоциты, эритроциты, наличие эпителия и микроэлементный состав осадка у животных, получавших препарат в концентрациях 2 и 10 мг/л, не отличались от показателей общего анализа мочи животных контрольной группы. Они не выходили за рамки физиологической нормы для белых крыс (K. Quesenberry, J. W. Carpenter, 2003).

2.2.2. Морфофункциональное состояние лабораторных животных при применении шашки «Вимал»

Морфофункциональное состояние лабораторных животных при применении термовозгонной шашки «Вимал» исследовали при ингаляционном введении в течение 7 дней в концентрациях 0,063 мг/л и 0,127 мг/л, что составляет 1/10 и 1/20 от LC₅₀.

Наблюдение за животными в течение всего эксперимента не выявило отклонений в габитусе, состоянии шерстного покрова и кожи, характере выделений, установлено незначительное изменение поведенческих реакций в опытных группах в виде угнетения двигательной активности и реакции на внешние раздражители. Использование шашки «Вимал» в концентрациях 0,127 и 0,063 мг/л в течение 7 дней статистически достоверно не повлияло на динамику прибавки массы тела животных в сравнении с контрольной группой.

В группах животных, получавших препарат в концентрациях 0,063 и 0,127 мг/л, количество эритроцитов, гемоглобина и гематокрит незначительно увеличилось. Этот эффект связан с тем, что йод, хорошо всасываясь со слизистых оболочек и эпителия верхних дыхательных путей, поглощается щитовидной железой, участвует в синтезе гормонов, тем самым усиливая обменные процессы в организме, в том числе эритропоэз (М.В. Велданова, А.В. Скальный, 2001). У животных группы, получавшей препарат в концентрации 0,127 мг/л, несколько увеличилось содержание эозинофилов в крови. У животных опытных групп произошло изменение лейкоцитарной формулы крови: снизилось процентное содержание сегментоядерных лейкоцитов и моноцитов, а также в небольшом количестве увеличилось процентное содержание лимфоцитов. Мы считаем, что эти изменения произошли вследствие токсического действия йода в повышенных концентрациях на костный мозг, это привело к угнетению иммунной системы организма, которое проявляется повышением содержания лимфоцитов в крови и уменьшением макрофагальной реакции (В.С. Постников, 1979). Другие исследованные показатели периферической крови у животных опытных групп статистически достоверно не отличались от аналогичных показателей в контрольной группе и находились в пределах физиологической нормы для белых крыс (А.А. Кудрявцев, 1969; С. Johnson-Delaney, 1996). При анализе биохимических показателей крови крыс статистически достоверных различий между показателями опытных и контрольных групп не установлено.

При анализе мочи установлено, что шашка «Вимал» не влияет на показатели общего анализа мочи крыс опытных и контрольных групп.

2.3. Морфофункциональное состояние некоторых органов и систем организма животных при применении шашек «Тамбей» и «Вимал» в качестве лечебного средства

2.3.1. Действие термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал» на центральную нервную систему белых крыс

При исследовании поведенческих реакций и двигательной активности крыс в тесте «Открытое поле» установлено статистически достоверное уменьшение количества пересеченных секторов первого уровня при применении препарата в концентрации 1 мг/л по сравнению с контролем, что говорит о снижении двигательной активности у животных. Количество актов длинного груминга при применении препарата в концентрации 10 мг/л статистически значимо увеличилось по сравнению с контролем. Уменьшение горизонтальной двигательной активности и увеличение актов длинного груминга у крыс под действием шашки с пихтовым маслом, возможно, связано со снижением уровня тревожности у животных (А. V. Kalueff, P. Tuohimaa, 2004).

Для оценки действия термовозгонной шашки «Тамбей» на эмоциональную реактивность животных был использован тест «Темная камера с отверстиями». Установлено статистически достоверное уменьшение латентного периода заглядывания в верхнее отверстие под действием шашки с пихтовым маслом в концентрациях 1 мг/л и 10 мг/л, увеличение числа заглядываний в верхнее отверстие в концентрации 1 мг/л и общее число полувыходов в боковое отверстие в концентрациях 1 и 10 мг/л по сравнению с контролем. При использовании шашки в концентрации 10 мг/л появились случаи выхода крыс в боковое отверстие. Полученные результаты показывают стимулирующее влияние препарата термовозгонная шашка «Тамбей» на двигательную, исследовательскую активность и снижение уровня тревожности белых крыс. Препарат термовозгонная шашка «Вимал» не оказывает влияния на центральную нервную систему белых крыс в изученных концентрациях. В тесте «Открытое поле» не установлено влияния термовозгонной шашки «Вимал» на центральную нервную систему, поэтому тест «Темная камера с отверстиями», используемый для углубленной оценки влияния препарата на эмоциональную сферу животных, проведен не был.

2.3.2. Влияние шашки «Тамбей» на динамику клинического статуса и морфологический состав крови телят, больных острым бронхитом

Оценку терапевтического действия препарата «Тамбей» проводили на телятах чернопестрой породы в возрасте четырех месяцев, на базе учебного хозяйства «Липовая гора» Пермского государственного аграрно-технологического университета. Были отобраны двенадцать телят со следующими клиническими признаками заболевания: выделения из носа слизистого характера, умеренный сухой непродолжительный кашель, который проявлялся в покое. Одышка отсутствовала. Частота дыхательных движений соответствовала норме (25–30 дыхательных движений в минуту). Температура тела соответствовала норме (38,5 – 39,0 °С). При аускультации в предлопаточной области прослушивались сухие гудящие хрипы, при аускультации легочных полей – везикулярное дыхание. При перкуссии легочных полей очаги притупления отсутствовали. У всех телят сохранялся аппетит. Одна телка больше лежала, вставала редко. По результатам клинического осмотра и выявленных симптомов поставлен диагноз острого макробронхита.

Через сутки после обработки опытной группы телят шашкой «Тамбей» в концентрации 1 мг/л установлено: слизистые выделения из носа уменьшились у всех животных, частота кашля сократилась, после повторной обработки через сутки у всех животных опытной группы исчез кашель, общее состояние оценивалось как удовлетворительное. У одного животного вынужденная поза сменилась на естественную. Температура тела соответствовала норме (38,5 – 39,0 °С). При аускультации в предлопаточной области хрипы прослушивались реже, при

аускультации легочных полей - дыхание везикулярное, очаги притупления при перкуссии легочных полей отсутствовали. Клинический осмотр телят опытной группы через 7 дней после применения шашки «Тамбей» не выявил отклонений их состояния здоровья от нормы. У телят контрольной группы через 7 дней наблюдения признаки острого макробронхита сохранялись. Гематологические исследования проводили за день до применения и через 7 дней после повторного применения шашки. Забор крови проводили у телят контрольной группы (без лечения) и у телят опытной группы. Морфологический анализ крови показал, что до применения шашки «Тамбей» в опытной группе телят количество гемоглобина было выше, чем в контрольной группе на 20 %, но соответствовало нормальному значению для этого вида животных ($p < 0,05$). Остальные показатели крови телят опытной группы статистически достоверно не отличались от показателей крови телят контрольной группы. Количество эритроцитов, тромбоцитов и моноцитов у телят всех групп находилось ниже границ нормы для этого вида животных. Количество лимфоцитов у телят контрольной группы соответствовало верхней границе нормы, у телят опытной группы превышало верхнюю границу для этого показателя на 6 %, что может наблюдаться при анемии (В.С. Постников, 1984). Мы считаем, что анемия и тромбоцитопения у телят обусловлена интоксикацией из-за наличия плесневых грибов *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclopium*, *Mucor spp.*, которые были нами обнаружены в помещении телятника.

Через 7 дней после лечения опытной группы телят шашкой «Тамбей» показатель скорости оседания эритроцитов в контрольной группе был выше, чем в опытной в 1,7 раза ($p < 0,05$). Показатель скорости оседания эритроцитов в контрольной группе увеличился с $6,0 \pm 0,70$ до $8,33 \pm 1,44$ мм/24 часа, в опытной группе не изменился и составил $4,8 \pm 0,31$ мм/24 часа. Это свидетельствует об усилении активности воспалительного процесса у телят контрольной группы (В.С. Постников, 1984). Через 7 дней наблюдения количество эритроцитов в контрольной и опытной группах статистически достоверно увеличилось с $3,9 \pm 0,26$ до $6,0 \pm 0,66$ и $4,0 \pm 0,34$ до $7,0 \pm 0,24 \times 10^{12}$ соответственно. Эти изменения мы связываем со сменой рациона и изменением питьевого режима в телятнике. Количество тромбоцитов у телят опытной группы через 7 дней наблюдения статистически достоверно увеличилось и соответствовало физиологической норме ($p < 0,05$). Через 7 дней от начала эксперимента количество лимфоцитов у телят контрольной группы статистически достоверно не изменилось, у телят опытной группы снизилось до нормы. Мы считаем, что динамика лимфоцитов и СОЭ в опытной группе показывает снижение воспалительного процесса у телят с острым бронхитом. Улучшение клинического состояния телят опытной группы, больных острым бронхитом, возможно связано с иммуномодулирующим, антиоксидантным, противовоспалительным и противогрибковым действием терпеноидов, входящих в состав пихтового масла – действующего вещества шашки «Тамбей» (О.А. Князева, И.Г. Конкина, А.В. Князев, 2009; M.Y. Huang, M.H. Liao, Y.K. Wang, Y.S. Huang, H.C. Wen, 2012; Z. Zeng, S. Zhang, H. Wang, X. P. Zeng et al, 2015).

2.4. Антигипоксическое действие шашек «Тамбей» и «Вимал»

Были проведены исследования антигипоксического действия шашки «Тамбей», пихтового масла, шашки «Вимал» и термовозгонной основы этих шашек в модели нормобарической гипоксии. Результаты изучения антигипоксического действия термовозгонных шашек «Тамбей», «Вимал», пихтового масла и термовозгонной смеси представлены в таблице 2. Под действием шашки «Тамбей» в концентрации 1 мг/л продолжительность жизни мышей статистически достоверно увеличилась с $17,4 \pm 0,2$ до

29,0±1,0 минут ($p<0,05$). При исследовании антигипоксических свойств пихтового масла установлено, что масло в концентрации 0,25 мг/л статистически достоверно увеличивает продолжительность жизни животных с 17,4±0,2 до 25,0±1,4 минут ($p<0,05$). При исследовании антигипоксических свойств термовозгонной шашки «Вимал» установлено, что под действием препарата в концентрации 0,1 мг/л статистически достоверно увеличилась продолжительность жизни животных с 21,9±0,2 до 25,1±1,0 минут ($p<0,05$). Установлено, что термовозгонная смесь статистически достоверно не изменила продолжительность жизни мышей по сравнению с контролем. В контрольной группе продолжительность жизни составила 20,3±0,6 минут, а под действием термовозгонной смеси - 18,4±1,2 минут ($p=0,189$).

Таблица 2 - Влияние термовозгонных шашек «Тамбей», «Вимал», пихтового масла и термовозгонной основы на продолжительность жизни мышей в модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией ($M\pm m$).

№ п/п	Группа	Количество животных в группе	Продолжительность жизни мышей, мин.	% прироста по отношению к контролю
1	Контроль	10	20,3±0,6	
	Термовозгонная смесь 0,75 мг/л	10	18,4±1,2	-9,08
2	Контроль	6	17,4±0,2	
	Пихтовое масло 0,25 мг/л	6	25,0±1,4*	44,0*
	Шашка «Тамбей» 1,0 мг/л	6	29,0±1,0*	66,8*
4	Контроль	7	21,9±0,2	
	Шашка «Вимал» 0,1 мг/л	7	25,1±1,0*	14,9*

Антигипоксическое действие шашки «Вимал» мы связываем с улучшением метаболизма в организме животных под действием йода и увеличением кислородной емкости крови (М.В. Велданова, А.В. Скальный, 2001). Антигипоксическое действие шашки «Тамбей» обусловлено биологическим действием пихтового масла, входящего в состав шашки, обладающего антиоксидантными и антигипоксическими свойствами (М.С. Foti, К.У. Ingold, 2003; М.А. Saleh, S. Clark, В. Woodard, S.A. Deolu-Sobogun, 2010). Эти свойства связаны с кислородсодержащими монотерпеновыми углеводородами: линалилацетатом, линалолом, цинеолом (I.N. Zilfikarov, V.A. Chelombitko, 2007).

2.5. Механизм патогенеза воспалительного процесса при использовании шашек «Тамбей» и «Вимал»

Противовоспалительное действие шашек «Тамбей» и «Вимал» изучали в модели каррагинан-индуцированного воспаления в сравнении с препаратом сравнения (диклофенак натрия). В модели каррагинан-индуцированного воспаления установлено, что процент подавления отека лап через 3 часа после индукции воспаления при применении шашки «Тамбей» составил 4,50 % ($p=0,77$). В результате эксперимента установлено, что термовозгонная шашка «Тамбей» системным противовоспалительным действием не обладает. Шашка «Вимал» в модели каррагинан-индуцированного воспаления также системным противовоспалительным действием не обладает, процент подавления воспаления составил 6,3 % ($p=0,77$).

2.6. Клиническое состояние лабораторных животных и патологоанатомическая картина их внутренних органов при использовании шашек «Тамбей» и «Вимал»

Действие термовозгонной шашки «Тамбей» в токсических дозах изучалось при ингаляционном введении. Во время затравки шашкой «Тамбей» у животных в затравочной камере первые 5 минут наблюдалось беспокойство, двигательное возбуждение, одышка. Через 5 минут состояние ухудшалось, активность резко снижалась, нарастала одышка, наблюдалась атаксия. Наблюдение за общим состоянием в течение 14 дней после «затравки» показало, что в первые сутки у всех животных, которых обрабатывали шашкой «Тамбей» в концентрации 63 мг/л, наблюдалась одышка и покраснение слизистых оболочек. У выживших животных, получавших препарат в концентрациях 103 и 106 мг/л, наблюдалась одышка и покраснение слизистых оболочек, эти симптомы сохранялись в течение двух суток. Дальнейшее наблюдение за выжившими животными в течение двух недель показало, что изменений в поведении и характере двигательной активности не регистрировалось. У животных не было судорог и нарушений координации движений, реакция на тактильные раздражители была адекватной. Изменений в состоянии шерстного и кожного покровов, цвета слизистых оболочек, цвета мочи, консистенции фекальных масс, глубины дыхательных движений, потребления корма и воды не зафиксировано.

По данным макроскопического исследования внутренних органов животных, погибших в ходе эксперимента, отмечены признаки, характерные для отравления оксидом углерода (II): ярко-розовая окраска слизистых оболочек, несвернувшаяся кровь, выраженное трупное окоченение. Все внутренние органы и скелетные мышцы имели розовый оттенок. Полости сердца были расширены, содержали алую жидкую кровь. Ткань легких отечна. Под плеврой, брюшиной — множественные кровоизлияния. Такие же кровоизлияния обнаруживались в слизистой оболочке желудка и кишечника (В.Ф. Тимофеев, Н.В. Прокопьева, Ф.И. Руднев, 2003).

При использовании препарата в концентрации 63 мг/л летальных эффектов не наблюдалось. В концентрациях 103, 106 и 109 мг/л летальность составляла 50, 75 и 100 %. Концентрация препарата, вызывающая 50 % гибели животных (CL_{50}) равна $73,2 \pm 5,3$ мг/л по Беренсу (по Керберу 94,5 мг/л).

Концентрация основы шашек – термовозгонной смеси, вызывающая 50 % гибели животных (CL_{50}), составила $25,4 \pm 4,8$ мг/л по Беренсу (по Керберу 33,9 мг/л).

Для определения терапевтической широты препарата «Тамбей» была изучена острая токсичность при экспозиции 240 минут согласно методическим рекомендациям (А. Н. Миронов, 2012).

У животных в затравочной камере при экспозиции препарата 240 минут наблюдалась одышка, двигательное возбуждение. Продолжительность одышки у выживших животных зависела от концентрации термовозгонной смеси в затравочной камере. Максимальная продолжительность одышки (более 2-х дней) была при концентрации 52 и 61 мг/л. Наблюдение за выжившими животными в течение 14 дней не выявило каких-либо изменений в их состоянии. Концентрация шашки «Тамбей» при экспозиции 4 часа, вызывающая 50 % гибели животных (CL_{50}), составила $60,2 \pm 2,93$ мг/л по Беренсу (по Керберу 59,3 мг/л). Острая ингаляционная токсичность шашки «Тамбей», рассчитанная с использованием двух методов, показала, что CL_{50} находится в интервале концентраций от 59,3 – 94,5 мг/л. С увеличением времени экспозиции CL_{50} уменьшается и составляет 59,3 – 60,2 мг/л.

При изучении действия шашки «Вимал» в концентрации 0,6 мг/л у животных в затравочной камере через 15 - 30 минут развивались легкая одышка. При этом не было отмечено гибели мышей. Повышение концентрации приводило к тяжелым приступам судорог, адинамии, гибели мышей. У погибших животных наблюдали признаки общей токсической реакции с быстрой смертью. В последующие 14 дней наблюдения гибели животных не регистрировали. Наблюдение за выжившими животными в течение 14 дней показало, что изменений в поведении и характере двигательной активности, в том числе судорог и нарушений координации движений не отмечалось. Реакция на тактильные раздражители была сохранена, изменения глубины дыхательных движений, состояния шерстного и кожного покровов, цвета слизистых оболочек, а также цвета мочи, консистенции фекальных масс, потребления корма и воды не установлено. Острая токсичность шашки «Вимал» (CL_{50}) определялась методом Беренса-Кербера и составила 1,3 (1,2–1,4) мг/л.

2.7. Морфометрический анализ и гистологическая картина органов крыс при применении шашки «Тамбей»

При макроскопическом исследовании внутренних органов животных (сердце, легких, печени, почек, селезенки, кишечника) не обнаружено каких-либо патологических изменений, свидетельствующих о неблагоприятном воздействии испытуемого препарата «Тамбей» при применении его в максимальных терапевтических концентрациях. Сердце, печень, почки, селезенка — характерной окраски, умеренно полнокровны. Легкие - розового цвета на разрезе. Желудок и кишечник – светло-серого цвета, без кровоизлияний и наложений. Проведенный морфометрический анализ не обнаружил отличий в относительной массе внутренних органов животных, которым вводили препарат в дозах 2 и 10 мг/л, от аналогичных показателей для контрольных животных.

Гистологическая картина органов животных, получавших шашку «Тамбей» в концентрациях 2 и 10 мг/л и животных контрольной группы

Почки: капсула тонкая, состоит из коллагеновых волокон. Корковое вещество представлено диффузно расположенными мелкими клубочками и почечными канальцами, выстланными кубическим эпителием. В корковом слое эпителий канальцев в состоянии белковой дистрофии. Отмечаются участки кровоизлияний. На границе коркового и мозгового вещества, в мозговом веществе обнаруживаются полнокровные кровеносные сосуды с утолщенными стенками. В мозговом веществе скопления собирательных трубочек, выстланных кубическим эпителием.

Сердце: эндокард представлен тонкой прослойкой коллагеновых волокон, покрытых эндотелием. Миокард построен из кардиомиоцитов с отсутствием поперечной исчерченности, эозинофильной цитоплазмы и центрально расположенными ядрами. В строме полнокровные капилляры.

Печень: дольковое строение сохранено. Гепатоциты содержат округлые центрально расположенные ядра и эозинофильную цитоплазму. Центральные венулы местами расширены. Синусоидные капилляры, центральные венулы и сосуды портальных трактов неравномерно полнокровные. Артерия и вена триады полнокровна, желчный проток выстлан 1-слойным железистым эпителием, не расширен, просвет свободен. Звездчатые эндотелиоциты (клетки Купфера) хорошо визуализируются.

Легкие: альвеолярное строение сохранено. Стенки альвеол утолщены за счет полнокровных капилляров. Отмечена лимфоидная инфильтрация стенок альвеол, в просвете альвеол эритроциты. Часть бронхиол спазмирована. В просвете бронхиол гемолизированные эритроциты, у животных № 1, № 4, обработанных шашкой «Тамбей» в концентрации 2 мг/л, небольшое количество отечной жидкости, у животных № 2, № 4, обработанных шашкой «Тамбей» в концентрации 2 мг/л, скопления гемосидерофагов. Вблизи стенок бронхиол лимфоидные структуры с признаками гиперплазии. Кровеносные сосуды полнокровные.

Трахея: многоядный мерцательный эпителий местами десквамирован у животных № 1, № 5 (опытные группы - шашка «Тамбей» в концентрации 2 и 10 мг/л), в других образцах многоядный мерцательный эпителий сохранен (Рисунок 1, 2). В слизистой оболочке единичные железы расширены, отмечается лимфоидная гистиоцитарная инфильтрация. Сосуды неравномерного полнокровия.

Таким образом, в образцах № 1-6 (животные получали шашку «Тамбей» в концентрации 2 мг/л) и № 7-12 (концентрация препарата 10 мг/л) разница в морфологической картине не прослеживается. Во всех образцах отмечаются изменения в стенке трахеи и в ткани легкого в виде венозного полнокровия и гиперплазии лимфоидных структур, что связано, на наш взгляд, с реакцией иммунной системы легких на введение препарата.

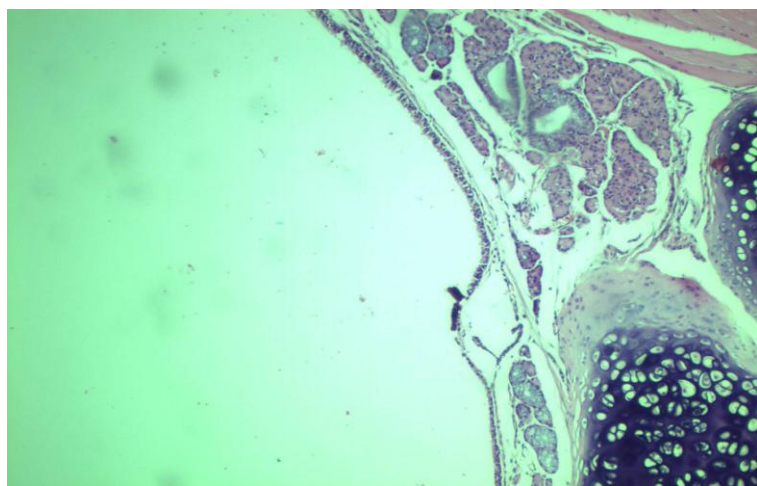


Рис.1. Трахея крысы (концентрация 2 мг/л). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Десквамация многоядного мерцательного эпителия.

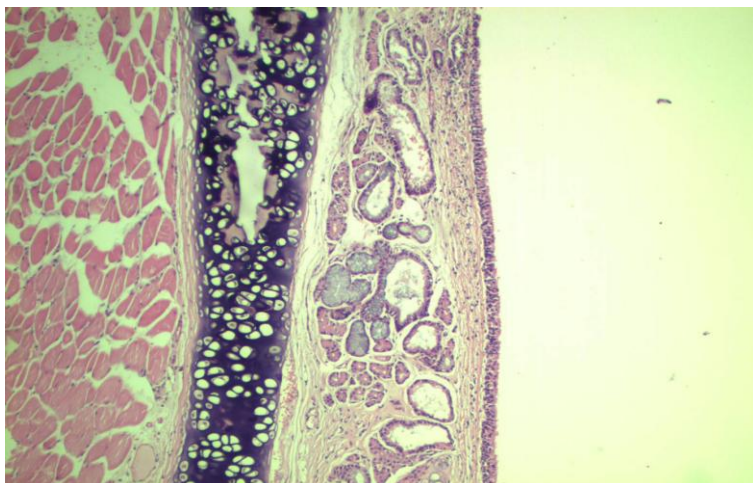


Рис.2. Трахея крысы (контрольная группа). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$. Многорядный мерцательный эпителий сохранен.

2.8. Морфометрический анализ и гистологическая картина органов крыс при применении термовозгонной шашки «Вимал»

При макроскопическом исследовании внутренних органов животных (сердце, легких, печени, почек, селезенки, кишечника) не обнаружено каких-либо патологических изменений, свидетельствующих о неблагоприятном воздействии испытуемого препарата «Вимал» в максимальных терапевтических концентрациях. Сердце, печень, почки, селезенка — характерной окраски, умеренно полнокровны. Легкие - розового цвета на разрезе, надпочечники – не увеличены, умеренно полнокровны. Желудок и кишечник – светло-серого цвета, без кровоизлияний, без наложений.

При макроскопическом и гистологическом исследовании не обнаружено существенных изменений в изученных органах и тканях животных, получавших шашку «Вимал», в сравнении с животными контрольной группы.

Гистологическая картина органов животных, получавших шашку «Вимал» в концентрациях 0,063 и 0,127 мг/л и животных контрольной группы.

Сердце. Эпикард, эндотелий, подэндотелиальный слой, миокард — без изменений. Кардиомиоциты сохраняли строение. Капилляры миокарда умеренного кровенаполнения.

Легкие, трахея. Сохранена нормальная структура эпителия слизистой оболочки бронхов. Подслизистая основа, фиброзно-хрящевая и адвентициальная оболочка без изменений. Альвеолы не расширены. Капиллярная сеть умеренного кровенаполнения.

Печень. Сохранена дольчатая структура органа и ядра гепатоцитов. Пространства Диссе и межуточная ткань без изменений. Сосуды полнокровны. Структура междольковых трабекул сохранена. Капиллярная сеть умеренного кровенаполнения. Эндотелий сосудов хорошо просматривается. Отмечено типичное расположение звездчатых эндотелиоцитов (клетки Купфера).

Почки. Отмечено типичное четкое деление на корковый и мозговой слои. В мозговом веществе сохраняется пирамидальное строение. Почечные канальцы и клубочки без изменений. Сохраняется кровенаполнение дуговых, терминальных, междольковых и прямых артерий. Венозная система без изменений. На границе коркового и мозгового слоев отмечается пролиферация интерстициальной ткани.

Проведенный морфометрический анализ не обнаружил отличий в относительной массе внутренних органов животных, которым вводили шашку «Вимал» в двух

исследованных концентрациях, от аналогичных показателей для контрольных животных.

При изучении действия шашек «Тамбей» и «Вимал» на морфофункциональное состояние крыс установлено, что препараты, вводимые в концентрациях, превышающих терапевтические, существенно не влияют на общее состояние и основные органы и системы организма.

2.8.1. Определение содержания йода в органах крыс при воздействии шашки «Вимал»

Содержание йода в тканях определяли через 22 часа после забора органов животных. В верхних дыхательных путях, легких, сердце, печени, почках и селезенке титриметрическим методом йод не обнаружен.

2.9. Выявление профилактического действия шашек «Тамбей» и «Вимал»

2.9.1. Изучение антимикробной активности шашек «Тамбей» и «Вимал»

Оценку противомикробного действия шашек проводили в затравочной камере и в помещении для выращивания телят учебного хозяйства «Липовая гора» Пермского аграрно-технологического университета. В условиях затравочной камеры процент уменьшения общего микробного числа в воздухе составил под действием препарата «Вимал» в концентрации 0,1 мг/л - 41,15 %, под действием препарата «Тамбей» в концентрации 1 мг/л процент подавления - 28,46 %, а в концентрации 2 мг/л - процент подавления составил 48,85 % ($p \leq 0,05$), в контроле общее микробное число на 1 м³ принято за 100 %. При сравнении результатов эффективности шашки «Тамбей» в концентрации 1 и 2 мг/л статистически достоверной разницы в проценте подавления не установлено. Результаты исследования противомикробной активности препаратов в модельных опытах представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты изучения противомикробного действия препаратов «Тамбей» и «Вимал» в «затравочной» камере

№ п/п	Препарат, концентрация	Подавление роста м/орг., в % к контролю
1	«Тамбей» 1 мг/л	28,46
2	«Тамбей» 2 мг/л	48,85*
3	«Вимал» 0,1 мг/л	41,15

В результате исследований влияния препаратов на микробную обсемененность воздуха помещений для содержания сельскохозяйственных животных установлено, что антимикробную активность проявила шашка «Тамбей» в концентрации 1 мг/л при экспозиции 120 минут ($p=0,03$), термовозгонная шашка «Вимал» не проявила активность при 30 - минутной экспозиции в концентрации 0,1 мг/л.

2.9.2. Изучение противогрибкового действия шашек «Тамбей» и «Вимал»

Изучение противогрибкового действия термовозгонных шашек «Тамбей» и «Вимал» проводили в модельных опытах. В помещении для содержания телят были отобраны

смывы со стен для идентификации, выделения и культивирования грибов с целью изучения антигрибковой активности шашек «Тамбей» и «Вимал». Для оценки фунгицидного действия препаратов были отобраны и выделены 3 вида возбудителей: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclospium*, *Mucor* spp. и *Candida albicans*. Воздействие термовозгонной шашки «Тамбей» при 120 - минутной экспозиции привело к обеззараживанию поверхностей из кафеля и железа, контаминированных спорами плесневых грибов *Aspergillus fumigatus* и *Penicillium cyclospium* на 47,7%, 47,2%, 50,3% и 49,4% соответственно, поверхности из дерева были обеззаражены на 35,3 и 34,0 %. Плесневые грибы рода *Mucor* spp. оказались более устойчивые к воздействию препарата «Тамбей» на всех видах поверхностей. Процент обеззараживания составил от 11,82 до 19,88 %. При исследовании препарата «Вимал» на фунгицидную активность в отношении дрожжевых и плесневых грибов установлено, что 100% обеззараживание поверхностей из кафеля отмечено при контаминации плесневыми грибами *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclospium* и дрожжевыми грибами *Candida albicans*, 100% гибель грибов *Penicillium cyclospium* и *Candida albicans* выявлена на поверхностях из железа, обеззараживание поверхностей, контаминированных *Aspergillus fumigatus*, составила 99,99%. Поверхности из дерева, инфицированные грибами *Penicillium cyclospium* и *Candida albicans*, были обеззаражены на 99,99 и 100% соответственно, а поверхности, контаминированные *Aspergillus fumigatus*, обеззаражены на 99,92%.

Выводы.

1. Выявлено действие шашки «Тамбей» на морфологический состав крови крыс при применении в концентрациях 2 и 10 мг/л, при этом количество тромбоцитов составило $313,3 \pm 19,5$ в контрольной группе и $265,0 \pm 10,1$ и $260,0 \pm 12,6 \times 10^9$ /л в опытных группах. Снижение количества тромбоцитов в опытных группах по сравнению с контрольной расцениваем как симптоматическое.
2. При применении шашки «Вимал» в концентрациях 0,063 и 0,127 мг/л количество эритроцитов составило $6,7 \pm 0,4$ в контрольной группе и $7,9 \pm 0,2 \times 10^{12}$ в опытных группах. Количество гемоглобина в контрольной группе составило $128,8 \pm 0,8$ г/л, $138,0 \pm 1,9$ и $137,2 \pm 4,2$ г/л в опытных группах. Гематокрит в опытных группах был выше, чем в контрольной - $43,8 \pm 1,1$, $43,8 \pm 0,8$ и $36,5 \pm 1,7$ % соответственно. Этот эффект связываем с улучшением обменных процессов в организме, в том числе эритропоэза.
3. Выявлено действие шашки «Тамбей» на биохимические показатели крови крыс. В опытных и контрольной группах уровень глюкозы составил $6,0 \pm 0,22$, $6,3 \pm 0,21$ и $5,1 \pm 0,11$ ммоль/л соответственно. В контрольной группе уровень общего белка составил $64,2 \pm 1,95$ г/л, у животных, опытных групп уровень общего белка составил $88,2 \pm 7,85$ и $86,5 \pm 7,35$ г/л. Уровень мочевины в крови животных опытных групп составил $4,9 \pm 0,40$ ммоль/л и $4,2 \pm 0,38$ ммоль/л, статистически достоверно увеличился в сравнении с животными контрольной группы ($2,4 \pm 0,43$ ммоль/л). Уровень креатинина в крови животных опытной группы под действием препарата в концентрации 2 мг/л увеличился по сравнению с контрольной группой и составил $84,1 \pm 8,36$ мкмоль/л. Изменение биохимических показателей крови под действием шашки «Тамбей» связано с изменением метаболизма гепатоцитов.
4. Шашка «Тамбей» в терапевтической концентрации оказывает положительное влияние на динамику клинического статуса и морфологическую картину крови телят, больных острым респираторным заболеванием. При применении шашки «Тамбей» у телят с острым бронхитом произошло улучшение состояния здоровья. Скорость оседания

эритроцитов в контрольной группе телят через 7 дней наблюдения увеличилась с $6,0 \pm 0,7$ до $8,33$ мм/24 часа, в группе телят опытной группы не изменилось.

5. Выявлено незначительное раздражающее действие шашки «Тамбей» на верхние дыхательные пути лабораторных животных в виде десквамации мерцательного эпителия трахеи, гиперплазии лимфоидных структур легких. При применении шашки «Вимал» раздражающего действия на верхние дыхательные пути не выявлено.

6. Установлено анксиолитическое действие шашки «Тамбей». Шашка «Вимал» на функциональное состояние нервной системы лабораторных животных не повлияла.

7. Шашка «Тамбей» в концентрации 1 мг/л обладает выраженными антигипоксическими свойствами, процент прироста времени жизни животных составил 66,8% по сравнению с контролем. Антигипоксические свойства шашки «Вимал» в дозе 0,1 мг/л минимальны, процент прироста составил 14,9%.

8. Выявлен профилактический эффект от применения шашек, установлено их противомикробное и фунгицидное действие. Шашка «Тамбей» обладает относительно невысокой противомикробной (процент подавления роста микроорганизмов составил от 2,7 до 15,3%) и фунгицидной активностью (процент подавления роста грибков составил от 11,8 до 50,3%). Термовозгонная шашка «Вимал» обладает выраженной фунгицидной активностью, процент подавления плесневых грибков составляет 99,92–100%, дрожжевых грибков *Candida albicans* - 100%.

Практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы.

Термовозгонные шашки «Тамбей» и «Вимал» внедрены в практическое животноводство. Для лечения заболеваний верхних дыхательных путей шашку «Тамбей» следует использовать в концентрации 1 мг/л с экспозицией 30 минут. Время обработки шашкой «Тамбей» можно увеличивать при необходимости. Шашку «Вимал» для лечения заболеваний верхних дыхательных путей следует использовать в концентрации 0,1 мг/л. На основе термовозгонной смеси возможна разработка препаратов для ветеринарии с другими действующими веществами.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ В РЕЦИНЗИРУЕМЫХ ЖУРНАЛАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ ВАК РФ

1. Маслова В.В. Изучение параметров безопасности шашки с пихтовым маслом / В.В. Маслова, Г.А. Люшина, С.Ю. Солодников, В.В. Литвинов, Н.А. Татарникова, Г.А. Терехин//Ветеринария. - 2016. - № 7. - С. 47-51
2. Маслова В.В. Сравнительная токсичность термовозгонных шашек «Вимал» и «Тамбей» / В.В. Маслова, С.Ю. Солодников, Н.А. Татарникова, Г.А. Люшина / Научная жизнь. - 2017 - № 3. - С. 66-75.
3. Маслова В.В. Влияние термовозгонной шашки с пихтовым маслом на центральную нервную систему крыс линии Wistar и телят / В.В. Маслова, С.Ю. Солодников, Г.А. Люшина, Н.А. Татарникова / Ветеринария. – 2017. - № 9. - С.49-53.
4. Баландина С.Ю. Изучение антимикробной и фунгицидной активности термовозгонных препаратов «Тамбей» и «Вимал» / С.Ю. Баландина, В.В. Маслова, Ю.А. Павлова, С.Ю. Солодников, Г.А. Люшина, Н.А. Татарникова, А. В. Ахова, М.В. Минтель, П.А. Кузнецов / Научная жизнь. –2017. - № 8. - С.100 – 109.

В НАУЧНЫХ ИЗДАНИЯХ

5. Маслова В.В. Острая токсичность и влияние на центральную нервную систему сельскохозяйственных животных термовозгонной шашки с пихтовым маслом/В.В. Маслова, Г.А. Люшина, С.Ю. Солодников, Н.А. Татарникова//Материалы научно-практической конференции «Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве». – Екатеринбург. - 2017. - С. 269-273.
6. Маслова В.В. Опыт использования термовозгонных шашек с пихтовым маслом/В.В. Маслова, Н.А. Татарникова, С.Ю. Солодников, Г.А. Люшина, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова//Материалы X Международной научно-практической конференции «INTERNATIONAL INNOVATION RESEARCH». - Пенза. - 2017. - С.258-262.