Практическое занятие № 13
ИССЛЕДОВАНИЕ КОРМОВ НА БЕЗВРЕДНОСТЬ

Цель занятия. Ознакомиться с показателями безвредности кормов, их характеристиками и методами определения.

Материалы и оборудование. Лабораторные весы; мельница; фарфоровая ступка; шприц с иглами; химические стаканы; автоклав; субстрат и экстракт корма; сыворотка крови; лабораторные животные (крысы, кролики, цыплята); оплодотворенные куриные яйца на 9—13-й день инкубации; культура инфузорий.

Общие сведения. **В соответствии с Законом Российской Федерации «О ветеринарии» все корма, предназначенные для кормления животных, должны быть безопасными (безвредными) для здоровья животных и окружающей среды, соответствовать ветеринарно-санитарным требованиям и нормам.** Безвредность кормов можно определять по характеру и степени минимальной выраженности вредности: токсичности, токсигенности, аллергенности, морфогенности, тератогенности, канцерогенности и др.

Токсичность и токсигенность — способность веществ корма действовать угнетающе на процессы жизнедеятельности организма вплоть до его гибели.

Токсичность кормов может быть обусловлена: минеральными ядами (удобрения, поваренная соль и др.), фосфорорганическими, хлорорганическими веществами, в том числе пестицидами и другими синтетическими соединениями; ядовитыми растениями, содержащими алкалоиды, гликозиды, сапонины и др.; грибными токсинами (микотоксинами); токсинами микробов (ботулизма и др.); токсинами, накапливающимися в кормах (нитраты, нитриты, соланин, госсипол, глюкозинолаты и др.).

Аллергия представляет собой измененную иммунобиологическую реакцию организма, отклоняющуюся в сторону повышения (гиперэргия, анафилаксия, септическое воспаление) или понижения (гипоэргия, анэргия) от нормального физиологического уровня.

Все вещества, изменяющие реактивную способность организма, называются аллергенами. Ими могут быть различные белковые вещества животного или растительного происхождения (сыворотка крови, чешуйки кожи или шерсти, цветочная пыльца); липоиды; сложные углеводы; различные лекарственные препараты и др. В организме могут образовываться аутоаллергены. В крови появляются аутоантитела, и развивается клиническая

картина поражения соответствующих органов и тканей. Белки крови и тканей при различных патологических состояниях приобретают аллергенные, чужеродные для организма свойства.

Морфогенность — это способность веществ кормов вызывать морфологические изменения в организме, что отрицательно сказывается не только на продуктивности, но и на развитии потомства.

Для оценки веществ, вредных для организма животных и человека, особенно вызывающих рождение уродов (феномен тератогенности), в качестве объекта исследования используют куриные эмбрионы.

К канцерогенным веществам относят различные химические соединения, которые способны при воздействии на организм вызывать новообразования. К ним относят полициклические углеводороды, особенно производные антрацена и фенантрена, содержащиеся в каменноугольных смолах, дегте, азокрасители, ароматические амины, уретан, некоторые алкалоиды, синтетические полимеры, биологически активные вещества (стерины, кортикостероиды, половые гормоны, желчные кислоты и др.). Канцерогенные вещества могут накапливаться в организме при нарушении липоидного и стеринового обменов.

Определение вышеперечисленных веществ, входящих в корма, возможно только в хорошо оборудованных специализированных лабораториях.

Содержание занятия. **Определение токсичности и токсигенности** на цыплятах. Пробу корма (5—20 г) растирают в ступке до размера частиц, свободно проходящих через толстую иглу шприца. Часть корма переносят в химический стакан и разводят водой до консистенции сметаны. Шприцем набирают 1 — 3 мл полученной суспензии и вводят внутрибрюшинно цыплятам недельного возраста (5 голов) I опытной группы.

II опытной группе цыплят (5 голов) вводят то же количество охлажденной суспензии корма, но предварительно прокипяченной в течение 20—30 мин или автоклавированной.

Цыплятам контрольной группы вводят аналогичное количество кипяченой воды.

Каждого цыпленка помещают в отдельную клетку, обеспечивая свободный доступ к воде, но лишают корма на 1—2 сут, в течение которых отмечают общее состояние птицы. Случаи гибели выражают в процентах к общему числу цыплят, которым вводили исследуемый корм.

Каждые 20 % гибели оценивают в 1 балл: 100%-ная гибель (5 баллов) — корм очень высокотоксичен; 80 % (4 балла) — корм высокотоксичен; 60 % (3 балла) — корм токсичен; 40 % (2 балла) — корм среднетоксичен; 20 % (1 балл) — корм малотоксичен.

Если гибель цыплят отмечают после введения предварительно нагретого корма, то корм считают токсигенным, т.е. токсичным из-за наличия в нем термолабильных микроорганизмов и их токсичных продуктов метаболизма.

Отсутствие острой токсичности кормов еще не дает полной гарантии их безвредности, так как в них могут присутствовать вредные вещества, которые начинают действовать постепенно по мере их накопления (кумуляции) в организме. Для этого исследуют корм на подострую (длительность опыта 2 нед) или хроническую (длительность опыта более 4 нед) токсичность. Корм скармливают птице без ограничения и при свободном доступе к воде. В качестве контроля в зависимости от целей исследования берут стандартный полноценный рацион, рубленое вареное яйцо или дробленую пшеницу.

За время опыта учитывают общее состояние птицы, выживаемость, прирост живой массы, в том числе на единицу потребленного корма.

Определение аллергенности на инфузориях. Принцип и суть метода заключаются в известной реакции «антиген-антитело», где антителом являются антитела сыворотки крови теплокровных лабораторных животных (крыс, кроликов), иммунизированных культурой (Tetrachimena periformis), а антигеном — сами инфузории. На сенсибилизированную культуру инфузории путем выращивания ее на аллергенном субстрате воздействуют антисывороткой, содержащей антитела против самой инфузории. Под ее действием инфузории постепенно гибнут и лизируются. По силе активности этих реакций на фоне контроля судят о наличии аллергенного действия, его характера и степени.

Определение морфогенности на инфузориях. Инфузории четко реагируют на морфогенные (мутагенные, терато-генные, бластомогенные) факторы. При этом обращают внимание на форму инфузорий и характер их движения.

Продолжительность опыта 7 сут. Инфузорий выращивают в среде с добавлением исследуемого субстрата (500 мг на 1 мл среды). Концентрация субстрата не должна вызывать гибели инфузорий, т.е. не должна быть токсичной и токсигенной. Один раз в сутки из инкубируемого субстрата берут по капле и просматривают под микроскопом для выявления измененных форм (выпячиваний, вздутий и др.) инфузорий. При наличии отмечают примерное их число. Показатель «аномалии развития» выражают в баллах или процентах: 0 — нормальные формы; 1 — слабоизмененные; 2 — среднеизмененные; 3 — сильноизмененные формы. Кроме этого определяют характер их движения (быстрое, замедленное), а также изменения, произошедшие во внутренних структурах (величина, цвет вакуолей).

Определение эмбриотоксичности и тератоген ности на куриных эмбрионах. В оплодотворенное яйцо на 9—13-е сут инкубации с соблюдением

всех правил асептики вводят 0,1—0,5 мл экстракта с токсином. В контроле вместо токсина используют такое же количество растворителя, воды или масла.

Учитывают число проклюнувшихся цыплят и погибших эмбрионов. Если отмечен высокий процент гибели, опыт повторяют с меньшими дозами токсина, которые не вызывали бы гибели, с тем чтобы можно было четко отделить токсический эффект от тератогенного. Выживших цыплят осматривают, отмечая наличие возможных деформаций скелета, ног, крыльев, глаз, клюва, твердого нёба.

Полученные результаты в опыте и контроле сравнивают между собой и делают соответствующие выводы о наличии и степени тератогенности исследуемых кормов.

ОТРАВЛЕНИЯ ФОСФОР И ХЛОРОРГАННЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Отравления фосфорорганическими соединениями (ФОС).

По токсичности ФОС делятся на 4 группы:

1) сильнодействующие - тиофос, октаметил;
2) высокотоксичные - метафос, метилмеркаптофос, М-81, ДДВФ;
3) средней токсичности - фосфамид, хлорофос, трихлорметафос-3, карбофос, метилнитрофос, метилацетофос, бутифос;
4) малотоксичные - авенин.

ФОС нашли применение в качестве инсектицидных, акарицидпых средств борьбы с растительными клещами, тлями, трипсами, клопом-черепашкой и другими вредителями растений. Отравление животных может наступить при попадании ядов на кожу, через дыхательные пути (при применении аэрозолей) и пищеварительный тракт (при скармливании растений и семян, обработанных фосфорорганическими ядами, или при использовании воды из водоемов, загрязненных этими ядохимикатами).

Октаметил - темно-коричневая или бесцветная жидкость со слабо выраженным запахом. Высокотоксичен при всасывании через кожу, дыхательные пути; обладает выраженными кумулятивными свойствами. Применяют для обработки плодовых культур, хлопчатника.

Метафос - белое кристаллическое вещество, плохо растворимое в воде. Быстро разрушается щелочами. Выпускается в виде 2,5%-ного дуста и 30%-ного концентрата-эмульсии. Применяется для борьбы с клопом-черепашкой на посевах злаковых культур, а также как инсектицид и акарицид.

Метилнитрофос - светло-желтая жидкость с резким запахом. Выпускается 30%-ный концентрат, содержащий эмульгаторы ОП-7, ОП-10. Применяется в качестве инсектицида и акарицида.

Карбофос - бесцветная или темно-бурая маслянистая жидкость, в воде не растворяется. Токсичность средняя. Эффективный инсектицид с широким диапазоном действия.

ДДВФ - бесцветная жидкость. Эффективный инсектицид и акарицид.

Трихлорметафос-3 (ТХМФ-3) - бесцветная маслянистая жидкость с неприятным запахом. Плохо растворяется в воде. Выпускается в виде 50%-ного концентрата-эмульсии. Эффективный инсектицид и акарицид.

Тролен - белое кристаллическое вещество. Малотоксичный препарат. Применяется как инсектицид.

Метилмер каптофос - темно-бурая жидкость с неприятным запахом. Высокотоксичный препарат. Применяется как инсектицид и акарицид.

Хлорофос - белое кристаллическое вещество, хорошо растворяется в воде. Токсичность средняя. Эффективный инсектицид и акарицид.

Фосфамид - белое твердое вещество с неприятным запахом, растворяется в воде. Токсичность средняя. Эффективный инсектицид и акарицид.

Фталафос. Белое кристаллическое вещество, в воде растворяется плохо. Эффективный инсектицид и акарицид.

Все органические соединения фосфора высоколипидотропны. Они хорошо всасываются через слизистые оболочки органов пищеварения, дыхания и через кожу. При попадании в организм ФОС накапливаются преимущественно в печени, в легких, головном мозге, сердечной мышце.

В основе механизма токсического действия ФОС лежит избирательное и необратимое угнетение фермента ацетилхолинэстеразы, в результате чего в организме происходит накопление медиатора нервного возбуждения - ацетилхолина. Последнее вызывает чрезвычайно сложную картину отравления. Прежде всего этот медиатор возбуждает холинореактивные структуры во всех органах и тканях и тем самым вызывает нарушение деятельности центральной и вегетативной нервной системы. В этом отношении ФОС как антихолинэстеразные вещества во многом напоминают по токсическому действию прозерин. В токсическом действии ФОС следует различать два вида эффектов; 1) мускариноподобные - миоз (сужение зрачка), бронхоспазм, слюнотечение, усиленное потоотделение, бурная перистальтика кишечника, понос; 2) пикотиноподобные - подергивание мышц, клонико-тонические судороги, возбуждение, а затем паралич центральной нервной системы.

Отравление ФОС может протекать молниеносно, остро и хронически, при этом клиническая картина имеет много общего у всех видов животных.

Симптомы. При молниеносном отравлении животное гибнет от асфиксии в результате бронхоспазма или паралича дыхательного центра. При остром отравлении наблюдаются обильная саливация, общее беспокойство, нарушение координации движения, сужение зрачков, урежение ритма сердечных сокращений, слезотечение, скрежет зубами, бурная перистальтика, частый акт дефекации, мышечная дрожь, короткие приступы судорог клонико-тонического типа, цианоз слизистых оболочек носа и рта, затрудненное дыхание, угнетение рефлекторной возбудимости.