

На правах рукописи

ЧЕСКИДОВА ЛИЛИЯ ВАЛЕРЬЕВНА

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ
ПЕННЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АЭРОЗОЛЕЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ
У КОРОВ И СВИНОМАТОК**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

16 МАЯ 2018



Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в отделе фармакологии Государственного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук

Научный консультант доктор биологических наук
Востроилова Галина Анатольевна

Официальные оппоненты: **Абрамов Владислав Евгеньевич**
доктор ветеринарных наук, профессор ФГБНУ
«Всероссийский научно-исследовательский
институт фундаментальной и прикладной
паразитологии животных и растений имени К.И.
Скрябина», лаборатория иммунокоррекции при
паразитозах, ведущий научный сотрудник

Коба Игорь Сергеевич

доктор ветеринарных наук, ФГБОУ ВО
«Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина», кафедра
терапии и фармакологии, заведующий кафедрой

Конопельцев Игорь Геннадьевич

доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО
«Вятская государственная сельскохозяйственная
академия», кафедра хирургии, акушерства и
заразных болезней, профессор кафедры

Ведущая организация ФГБОУ ВО «Белгородский государственный
аграрный университет имени В.Я. Горина»

Защита диссертации состоится «14» июня 2018 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» и на официальном сайте организации: <https://spbgavm.ru>.

Автореферат разослан « 3 » мая 2018 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Белова Лариса Михайловна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Рентабельное производство животноводческой продукции зависит от интенсивности использования маточного поголовья в воспроизводстве, которое обеспечивается нормальным функционированием органов и систем организма животных [А.Г. Нежданов и др., 2009; С.В. Шабунин и др., 2009; В.П. Хлопицкий, 2011; С.С. Абрамов и др., 2011; М. Pantaleo et al., 2014, С.G. Walker et al., 2015]. Однако часто регистрируемое нарушение функциональной деятельности и развитие воспалительных процессов в половых органах коров и свиноматок приводит к снижению их плодovitости, продуктивности и преждевременной выбраковке [В.Д. Мисайлов и др., 2001; В.П. Хлопицкий, 2010; Л.Г. Войтенко, 2011; О.С. Епанчинцева и др., 2013; И.С. Коба и др., 2015; В.И. Михалёв, 2015; J.J. Bromfield et al., 2015; N. Gundling et al., 2015].

Так как воспалительные процессы в половых органах самок обусловлены условно-патогенной микрофлорой [А.Г. Нежданов и др., 2005; И.Г. Конопельцев и др., 2005; С.В. Шабунин и др., 2012; В.П. Хлопицкий, 2015; С.В. Николаев и др., 2016; H.U. Bertschinger et al., 1977; N. Korudzhiiński et al., 1987; G. Eggemann et al., 2000; N. Kemper et al., 2013; K. Asmare, 2014; V.S. Machado et al., 2014; M. de Boer et al., 2015; K. Wagener et al., 2014], лечение больных животных требует комплексного подхода, включающего нормализацию обмена веществ в организме животных и в поражённом органе, а также подавление жизнедеятельности патогенных микроорганизмов путём обязательного применения антимикробных средств [В.Д. Мисайлов, 2003; В.С. Коба, 2009; В.И. Михалёв и др., 2011; А.Г. Нежданов и др., 2016; А.В. Филатов и др., 2017].

При лечении гнойно-воспалительных заболеваний репродуктивных органов основная проблема связана с развитием резистентности микрофлоры к наиболее часто используемым антимикробным средствам. Чем длительное в ветеринарной практике применяется препарат, тем меньше к нему чувствительны возбудители инфекции. Это приводит к бесконечному поиску и разработке новых антимикробных лекарственных средств. Научно обоснованным в этом плане направлением в гуманной и ветеринарной медицине является разработка комплексных антибактериальных препаратов, содержащих в своём составе несколько веществ различной фармакологической природы и, как следствие, обладающих широким спектром действия [В.И. Кулаков и др., 2003; Р.У. Хабриев и др., 2004; В.Д. Мисайлов и др., 2005; В.И. Михалёв и др., 2012; В.Д. Соколов и др., 2010].

В настоящее время наблюдается качественное изменение подхода к созданию ветеринарных и медицинских препаратов. При объяснении сложных взаимосвязей между основными и вспомогательными компонентами лекарственных средств и их влияния на организм особое внимание уделяется лекарственной форме. К лекарственной форме предъявляются требования обеспечивать рациональную фармакотерапию, оптимальное действие лекарственного вещества и его биологическую доступность. Одной из таких форм являются пены – газо-жидкостные дисперсии с высоким содержанием

газовой фазы. Пенные аэрозоли нашли широкое применение в гуманной медицине, в том числе, в гинекологии. Технология производства лекарственного препарата в форме пенного аэрозоля и конструкция аэрозольного баллона позволяет формировать мелкодисперсную и высокостабильную пену, которая обеспечивает быстрое достижение эффекта и длительное удерживание веществ на постоянном уровне в терапевтической концентрации [Г.С. Башура и др., 1978; В.И. Чуешов и др., 2002; З.Д. Хаджиева, 2007]. Однако, несмотря на многочисленные положительные качества данной лекарственной формы, на ветеринарном фармацевтическом рынке пенные аэрозоли мало представлены.

Так как обеспечение животноводства эффективными лекарственными средствами является важной задачей ветеринарной фармакологии, то разработка методологических подходов к их созданию актуальна и способна расширить перечень препаратов для лечения сельскохозяйственных животных.

Степень разработанности темы исследования. Наиболее эффективными при болезнях половых органов сельскохозяйственных животных являются антимикробные средства, применяемые внутриматочно. В ветеринарном акушерстве для этих целей чаще всего используются лекарственные препараты в форме растворов, суппозиториев и таблеток, состоящих из активнодействующих веществ и основы, которая влияет на фармакодинамику и фармакокинетику препарата, и, следовательно, на его эффективность [А.И. Тихонов и др., 2003].

В последние годы возрос интерес к проблеме разработки новых препаратов с модифицированным высвобождением лекарственных веществ и направленной системой доставки: в частности, к пенным терапевтическим системам (ПТС). Существенный вклад в развитие концепции формирования ПТС и их классификации внесли учёные Пятигорской государственной фармацевтической академии: З.Д. Хаджиева и др. [2003, 2006, 2007].

Пенные аэрозоли широко применяются в медицине, в частности в гинекологии, так как данная лекарственная форма имеет много преимуществ. Например, слизистые не испытывают давления со стороны пены, так как при нанесении образуется сетка, покрывающая их дискретно, что оказывает щадящее воздействие на больной орган и обеспечивает более быстрое восстановление слизистой оболочки матки. Пена обеспечивает экономичное дозирование и лучший контакт препарата с эндометрием, так как способна растекаться между складками слизистой оболочки, что позволяет снизить дозы лекарственных веществ, уменьшить возможное токсическое и побочное действие на организм животных. Пена может перемещаться в проксимальном направлении, обеспечивая высокую концентрацию лекарственного вещества и пролонгируя его [Г.С. Башура и др., 1978; В.И. Чуешов и др., 2002]. При этом данная лекарственная форма обеспечивает быструю наступления фармакологического действия и высокую терапевтическую эффективность, экономия время и материальные средства. Наличие пропеллента обеспечивает легкий обезболивающий эффект, так как, испаряясь со слизистой матки, он оказывает охлаждающее действие. При обработке животных пенными

аэрозолями персонал не подвергается ингаляционному воздействию, так как пены содержат значительно меньшее количество пропеллента, чем обычные аэрозоли. Аэрозольный баллон герметично закрыт, что обеспечивает стабильность и стерильность препарата в течение всего срока хранения.

Несмотря на положительные качества данной лекарственной формы, которые могут быть использованы при лечении животных с гнойно-воспалительными заболеваниями матки, в ветеринарной медицине пенные аэрозоли мало представлены. Возможно, это связано с тем, что теоретические основы пенообразования в фармацевтической технологии недостаточно изучены, а процесс создания лекарственной формы крайне сложен.

Цель и задачи исследований. Целью нашего исследования было теоретическое и экспериментальное обоснование разработки комплексных антимикробных препаратов в форме пенного аэрозоля с высокой терапевтической эффективностью для лечения воспалительных заболеваний половых органов у коров и свиноматок, их химико-фармацевтическая оценка, фармако-токсикологическое, клинико-биохимическое изучение и внедрение в ветеринарную практику.

Для реализации цели поставлены следующие **задачи исследования:**

Обосновать рецептуру и технологию изготовления комплексных антимикробных лекарственных препаратов в форме пенных аэрозолей — виапен, флоропен, примапен.

Провести фармакотоксикометрическую оценку разработанных препаратов — виапен, флоропен, примапен.

Обосновать применение препаратов виапен, флоропен и примапен для лечения и профилактики воспалительных заболеваний матки у коров и свиноматок.

Изучить способность разработанных препаратов при внутриматочном введении проникать в организм коров и свиноматок и установить сроки каренции остаточных количеств действующих веществ в продуктах животного происхождения.

Оценить клиническую эффективность препаратов виапен, флоропен и примапен для профилактики и лечения воспалительных заболеваний матки у коров и свиноматок.

Подготовить нормативную документацию на разработанные препараты для их производства и применения в ветеринарной медицине.

Научная новизна работы. Впервые на основе комплекса микробиологических, фармакологических, токсикологических, морфологических, биохимических и клинических исследований сформулированы методологические принципы создания комбинированных антимикробных препаратов в форме пенных аэрозолей, предназначенных для терапии послеродовых заболеваний репродуктивных органов сельскохозяйственных животных. Научно обоснован состав и рецептура новых препаратов виапен, флоропен, примапен и предложены методы контроля показателей их качества. В процессе доклинических и клинических испытаний доказана безопасность, высокая терапевтическая эффективность новых

препаратов при лечении и профилактике воспалительных процессов в матке у коров и свиноматок.

Научная новизна подтверждена патентами РФ на изобретение: № 2455992 «Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита у коров» и № 2464979 «Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита и синдрома метрит-мастит-агалактии у свиноматок».

Теоретическая, практическая значимость и реализация результатов исследования. Теоретически обоснована разработка новых комплексных антимикробных препаратов в форме пенного аэрозоля для лечения и профилактики воспалительных процессов матки у коров и свиноматок. На основании результатов проведенных исследований разработаны новые лекарственные препараты виапен, флоропен и примапен и налажено их серийное производство.

В Российской Федерации проведена регистрация виапена (номер регистрационного удостоверения 15-3-31.11-3288№ПВР-3-31.11/02817), флоропена (15-3-27.12-1068№ПВР-3-27.12/02866) и утверждены инструкции по их применению. Разработан проект инструкции и СТО на примапен. Препараты поставляются сельскохозяйственным предприятиям РФ и странам ближнего зарубежья.

Результаты исследований используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I.

Методология и методы исследований. Методологический подход к выполнению диссертационных исследований основан на комплексном системном изучении объектов исследования, математической обработке, анализе и синтезировании полученных результатов.

Объектом исследований служили лабораторные животные (белые мыши, белые крысы, морские свинки, кролики) разведения вивария ГНУ ВНИВИПФиТ и сельскохозяйственные животные (коровы и свиноматки) хозяйств Воронежской, Липецкой, Белгородской, Орловской, Тульской и Тамбовской областей.

Исследования проводились с использованием химико-фармацевтических, фармако-токсикологических, клинических, акушерско-гинекологических, микробиологических, гематологических, биохимических, патологоанатомических и статистических методов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

Составы и технология создания новых комплексных антибактериальных препаратов в форме пенных аэрозолей.

Показатели качества и методы контроля создаваемых лекарственных средств.

Фармакотоксикометрическая оценка препаратов: острая, подострая, субхроническая, хроническая токсичность, безвредность, раздражающее, аллергенное, эмбриотоксическое и тератогенное действие.

Способность действующих веществ разработанных препаратов проникать в организм коров и свиноматок, сроки выведения их остаточных количеств из организма сельскохозяйственных животных.

Показания и эффективность применения препаратов в условиях производства.

Степень достоверности результатов работы. Степень достоверности подтверждается повторяемостью, воспроизводимостью и статистической обработкой экспериментальных данных, полученных в результате опытов, а также результатами лабораторных и производственных исследований.

Математическая обработка полученных результатов исследований выполнена с помощью программ StatPlus Statistical Analysis Software; Statistica 5.5; Статистика +2003 и ExStat.

Апробация работы. Основные положения диссертации были представлены и обсуждены на III, IV и V съездах фармакологов и токсикологов России (Санкт-Петербург, 2011; Москва, 2013; Витебск, 2015); I и X Международных научно-практических конференциях (Благовещенск, 2012; София, 2014); XI Сибирской ветеринарной конференции (Новосибирск, 2012); Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию создания школы ветеринарных акушеров (Воронеж, 2012); Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора В.Р. Филиппова (Улан-Удэ, 2013); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 85-летию юбилею Ставропольского государственного аграрного университета (Ставрополь, 2015); Международной научно-практической конференции 26-27 февраля 2015 г. (Екатеринбург, 2015); Международных научно-практических конференциях молодых ученых и специалистов (Екатеринбург, 2014; Троицк, 2015).

Личный вклад автора. Диссертация выполнена автором самостоятельно и является результатом многолетних научных исследований. Автором лично сформулирована проблема, определены цель и задачи исследований, пути их реализации, проведена постановка и выполнение эксперимента, обработка и интерпретация результатов.

В проведении ряда исследований принимали участие д.в.н., проф. А.Г. Нежданов, д.б.н. Г.Н. Близнецова, д.в.н., проф. В.Н. Коцарев, д.в.н. В.И. Михалёв, д.в.н. Н.Т. Климов, к.в.н. Д.А. Ерин, к.б.н. Т.Е. Рогачёва, д.в.н. Л.Ю. Сашнина, которым автор выражает огромную благодарность за оказанную помощь и плодотворное сотрудничество.

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 44 научные работы, в том числе, 15 в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ, и 2 патента на изобретение.

Объём и структура диссертации. Работа изложена на 332 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, обсуждения, заключения, практических предложений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 375 источников, в том числе 127 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 85 таблицами и 50 рисунками.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в 2008-2017 г.г. в отделе фармакологии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии в соответствии с планом научно-исследовательских работ по заданию 08.04.02.01 - Разработать новый эффективный способ терапии и профилактики послеродового эндометрита у коров и свиноматок, программ фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации Россельхозакадемии на 2006-2010 и 2011-2015 г.г. и в НИП «Агрофарм».

В проведении экспериментальных исследований использовали самцов и самок мышей белых беспородных и линейных СВА с массой тела $21,0 \pm 2,0$ г ($n=726$); самцов и самок белых крыс беспородных и линии Wistar с массой тела $200,0 \pm 20,0$ г ($n=1180$); морских свинок ($n=72$); кроликов породы шиншилла и белый великан с массой тела от 2,0 до 3,2 кг ($n=54$), разведения вивария ГНУ ВНИВИПФит Россельхозакадемии. Опыты на сельскохозяйственных животных были поставлены на коровах голштино-фризской, симментальской, черно-пёстрой, красно-пёстрой породы и помесей ($n=1856$); свиней крупной белой породы и помесей ($n=2523$) в условиях сельхозпредприятий Воронежской, Липецкой, Белгородской, Тамбовской, Тульской и Орловской областей.

Лабораторному анализу было подвергнуто 878 образцов крови. Эритроциты, лейкоциты, лейкограмму, СОЭ определяли, используя стандартные методики, а также гематологический анализатор ABX MICRO S60. Фракции белка определяли электрофорезом в агарозном геле, концентрацию общего белка, липидов и билирубина наборами фирмы «Витал» (Санкт-Петербург), концентрацию мочевины, фосфора, холестерина, глюкозы, креатинина, кальция, активность аспартат- и аланинаминотрансфераз, щелочной фосфатазы и γ -глутамилтрансферазы – на биохимическом анализаторе «Hitachi-902», молочную кислоту по реакции с параоксидифенилом, пировиноградную кислоту по модифицированному методу Фрейдмана и Хаугена, магний, связанный с белком йод, железо, витамины А, Е и каротин согласно установленных методик [Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. – М., 2007].

Видовой состав микрофлоры половых путей был определён у 184 больных послеродовым эндометритом коров и 174 свиноматок из сельхозпредприятий Центрально-Чернозёмного региона и определена её чувствительность к различным антимикробным препаратам. После проведения предварительного фармакологического скрининга были отобраны наиболее перспективные композиции, антимикробную активность которых устанавливали согласно Государственной Фармакопее РФ XII, ч. 1, стр. 194-215.

Для выявления оптимального соотношения компонентов в препаратах антимикробную активность различных композиций сравнивали с активностью исходных действующих веществ в отношении *Escherichia coli* 866 и *Staphylococcus aureus* 209P. На основании полученных данных, были отобраны композиции с наиболее выраженными антимикробными свойствами и более детально изучены на следующих штаммах микроорганизмов: *Escherichia coli* 866, *Escherichia coli* 04, *Escherichia coli* 26, *Escherichia coli* 57/856, *Escherichia coli* 0139 (п), *Escherichia coli* A20 (п), *Staphylococcus aureus* 209P, *Staphylococcus aureus* (п), *Staphylococcus cowan-I* ЛСТСС 8530, *Streptococcus porcinus*, *Enterococcus faecium* согласно ОФС 42-0068-07 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

Для изучения виапена, флоропена и примапена на базе производственного отдела НПП «Агрофарм» были изготовлены по три опытные серии препаратов. Для контроля качества препаратов были использованы методы оценки, предъявляемые к аэрозолям [Государственной Фармакопее РФ XI, ч. 2, С. 136-138]: герметичность упаковки, процент выхода содержимого, средняя масса одной дозы, внешний вид и микробиологическая чистота. На основании статьи 1105 Британской Фармакопеи 2009, V. III «Medicated Foams» оценивали объём и стабильность пены. Разработанные критерии легли в основу исследования по изучению стабильности препаратов при хранении, которые были проведены согласно ОФС 42-0075-07 [Государственной Фармакопее РФ XII, ч. 1, С. 488-492].

Острая токсичность виапена, флоропена и примапена была оценена на белых мышах линии СВА массой 20-22 г (618 гол.) и белых крысах линии Wistar 180-200 г (560 гол.) обоего пола. Изучение параметров токсичности препаратов при пероральном, внутримышечном и внутрибрюшинном введении производили с использованием двухэтапного метода, предусматривающего проведение предварительного исследования на ограниченном количестве животных с последующим определением точного показателя ЛД₅₀ по Литчфилду и Вилкоксону. Величину ЛД₁₆, ЛД₅₀, ЛД₈₄, ЛД₁₀₀ рассчитывали с помощью пробит-анализа по методу Прозоровского с использованием прикладной программы «Статистика+2003».

Изучение безвредности (переносимости) виапена, флоропена и примапена проведено на клинически здоровых коровах, которые через 6-8 часов после самопроизвольного отделения последа были разделены на 3 группы (по n=5) в каждой. Изучение переносимости виапена, флоропена и примапена было проведено на клинически здоровых свиноматках, которые через 8-10 часов после завершения родов были распределены по принципу аналогов на 3 группы (по n=7-8) в каждой. Первая группа служила контролем и препараты не получала, животным второй группы внутриматочно вводили испытуемый препарат в терапевтической дозе - 60 г/животное, а третьей - в 3-кратной терапевтической дозе - 180 г/животное. Токсическое действие виапена, флоропена и примапена оценивали по клиническому состоянию животных, морфологическим и биохимическим показателям крови, которую брали через 7

и 14 суток после однократного внутриматочного введения препаратов у коров из яремной вены, а у свиноматок из уха утром до кормления.

Изучение подострой токсичности препаратов проводили на белых крысах (самках) при ежедневном подкожном введении виапена и флоропена в течение 21 дня, а примапена – 14 дней. Животные были поделены на группы (по $n=16$): первой вводили препарат в дозе $1/50 LD_{50}$; второй группе - $1/20 LD_{50}$, третьей - $1/10 LD_{50}$, четвертая группа была контрольной – вводили воду для инъекций. Общетокическое действие препарата оценивали по общему состоянию животных, а также динамике массы тела при взвешивании 1-2 раза в неделю. Половина животных из каждой группы подвергалась эвтаназии по окончании курса инъекций, а другая - через 10 дней восстановительного периода. В эти же сроки проводили аутопсию, брали кровь для морфологического и биохимического анализа. Некropsия включала тщательное исследование наружной поверхности тела, всех отверстий, черепных, грудных, абдоминальных полостей и их содержимого. Печень, почки, надпочечники, тимус, селезенка, легкие и сердце животных были освобождены от прилежащих тканей и определен коэффициент их относительной массы.

Изучение субхронической токсичности виапена, флоропена и примапена проведено на коровах и свиноматках, которые после родов были разделены на 2 группы по 5 животных в каждой. Первая группа была контрольной (препараты не назначали), второй группе внутриматочно вводили в течение 3 дней исследуемый препарат в дозе 60 г на животное 1 раз в сутки. Токсическое действие оценивали по клиническому состоянию животных, морфологическим и биохимическим показателям крови, полученной до опыта и через сутки после последнего введения препаратов.

Раздражающие свойства препаратов. Раздражающее действие на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба). Для эксперимента были отобраны клинически здоровые кролики ($n=3$) массой 2-3 кг, которым в конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали пипеткой по 2 капли подогретого до 40°C исследуемого препарата. Правый глаз у кроликов служил контролем (дистиллированная вода). Через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 и 6 часов после инстилляций препарата учитывали клиническое состояние организма животных (температуру, пульс, дыхание), а также оценивали согласно схеме: нет реакции – 0 баллов – раздражающий эффект отсутствует; слабая реакция – 2 балла – слабый эффект; выраженная реакция – 4 балла – умеренный эффект; лакримация - 6 баллов - слабо выраженный эффект; наличие выделений – 8 баллов – выраженный эффект; отёк век – 10 баллов – сильно выраженный эффект.

Раздражающее действие на кожные покровы. Исследования проведены на клинически здоровых кроликах-альбиносах обоего пола, массой 3,5-4,0 кг, которым за 24 часа выстригали мех со спины (5% от общей поверхности тела). Исследуемый препарат равномерно наносили на кожу животных (по $n=5$) однократно в дозах 0,5 г, 2,5 г и 5,0 г/животное, а необработанная кожа служила контролем. По окончании 4-часового периода воздействия остатки испытываемого вещества были аккуратно удалены и через 1, 24, 48 и 72 часа

фиксируют степень раздражения. Кожные реакции оценивали по образованию эритемы и отёка (балл): 0 – отсутствие эритемы и отёка; 1 – слабая эритема и отёк (едва заметно, розоватый тон); 2 – умеренно выраженная эритема (розовато-красный тон) и отёк (хорошо различим за счёт припухлости); 3 – выраженная эритема (красный тон) и отёк (припухлость примерно 1 мм); 4 – от резко выраженной эритемы до ожога, отёк (припухлость более 1 мм и выход отёка за границы нанесения).

Изучение алергизирующих свойств при накожном нанесении проведено на морских свинках. Животным опытных групп (n=6) на выстриженные участки кожи боковой поверхности ближе к середине туловища в течение 20 дней наносили по 0,5 г исследуемого препарата. Морским свинкам контрольных групп (n=6) аналогично наносили основу. Балльная оценка реакции кожи: видимой реакции нет – 0; бледно-розовая эритема по всему участку или по его периферии – 1; ярко-розовая эритема по всему участку или его периферии – 2; красная эритема по всему участку – 3; инфильтрация и отёк кожи при наличии или отсутствии эритемы – 4; эритема, выраженная инфильтрация, очаговые изъязвления (некроз), возможны геморагии, образование корочек – 5 баллов. Первое тестирование проводили после 10 аппликаций путём нанесения испытуемого препарата в дозе 2,5 г, затем через 14 и 20 суток от начала аппликации.

Изучение алергизирующих свойств (конъюнктивальная проба). Подопытным морским свинкам (n=6) однократно вводили подкожно 100 мг испытуемого препарата, затем – внутримышечно двукратно через день. Контрольным животным (n=6) вводили воду для инъекций. Через 14 дней в конъюнктивальный мешок опытных животных вводили 50 мг препарата, а контрольным – 50 мг стерильной основы. Реакцию учитывали через 15 минут (быстрая реакция) и через 24 часа (гиперчувствительность замедленного типа) и оценивали по следующей шкале: реакции нет – 0; лёгкое покраснение слёзного протока – 1; покраснение слёзного протока и склеры по направлению к роговице – 2; покраснение всей конъюнктивы и склеры, сопровождающееся зудом, расчесыванием, возможным развитием гнойного офтальмита – 3 балла.

Изучение алергизирующих свойств при постановке непрямой реакции дегрануляции тучных клеток. Исследуемый препарат вводили подкожно 2 группам белых крыс (по n=24) один раз в день в течение 14 дней в дозах 1/50 ЛД₅₀ и 1/10 ЛД₅₀, полученных в остром опыте при подкожном введении, а контрольным животным (n=24) – воду для инъекций в том же объёме и в те же сроки. На 2, 8 и 15 день животных выводили из опыта. Внутривенно вводили 5 мл среды 199, аккуратно вскрывали брюшную полость и собирали экссудат в сосуд с гепарином. Тучные клетки отделяли трёхкратным центрифугированием с фосфатным буфером (pH=7,2). В окрашенных по Романовскому мазках подсчитывали по 100 клеток, определяли процент дегранулированных и сравнивали с контролем. Реакция считалась положительной, если процент дегранулированных тучных клеток в опытных мазках превышал показатель контрольных более чем на 10%.

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия проведено по методике, описанной в «Методических указаниях по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ» [Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2005].

Самкам белых крыс подкожно вводили исследуемый препарат. Так как виапен, флоропен и примапен применяются внутриматочно коровам и свиноматкам только в послеродовой период не более 5 раз, для оценки эмбриотоксичности его вводили крысам подкожно с 3 по 6, с 9 по 12 и с 16 по 19 дни беременности в дозе 300 мг/кг ($n=20$) и 900 мг/кг массы тела ($n=20$). Контрольной группе ($n=20$) вводили основу препарата. В течение опыта вели наблюдение за состоянием и поведением беременных животных. Для выявления возможного токсического действия препарата 1 раз в неделю проводили взвешивание. На 20 день беременности для оценки тератогенного действия препарата по 10 самок опытных и контрольной групп подвергали эвтаназии и проводили вскрытие. Подсчитывали количество жёлтых тел, живых и мертвых плодов, мест имплантаций, определяли массу плацент. Проводили морфологическое обследование живых плодов под бинокулярным микроскопом для выявления аномалий развития, взвешивали и определяли кранио-каудальный размер. Затем плоды каждого помета делили на две группы. Одну группу фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов по методике Вильсона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР. Остальные плоды фиксировали в 96° этаноле и использовали для изучения состояния скелета по методике Доусона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР.

Для оценки антенатального влияния препаратов на постнатальный период развития потомства белых крыс вторую половину беременных самок за 3-4 дня до родов рассаживали по индивидуальным клеткам. Исследования после родов включали общие наблюдения за физическим развитием потомства в постнатальном периоде жизни в течение месяца.

Иммунотоксические свойства препарата флоропен оценивали согласно «Методическим указаниям по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ» [Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2005].

Оценка влияния флоропена на гиперчувствительности замедленного типа была осуществлена на 58 белых мышах (самки, масса тела 20-22 г), разделенных на 4 опытных (по $n=10$), 2 контрольные и 1 интактную группы (по $n=6$). Выбор доз препарата флоропен осуществляли исходя из данных, полученных при подкожном введении в остром опыте (1575,0 и 157,5 мг/кг). Флоропен вводили подкожно в объеме 0,5 мл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида: 1 опытной группе однократно в дозе 1575,0 мг/кг, 2 - однократно в дозе 157,5 мг/кг, 3 - трёхкратно с интервалом 48 часов в дозе 1575,0 мг/кг, 4 - трёхкратно с интервалом 48 часов в дозе 157,5 мг/кг. Животным 1 контрольной группы подкожно вводили стерильный изотонический раствор натрия хлорида однократно, 2 контрольной - трёхкратно

с интервалом 48 часов. Мышей иммунизировали подкожно эритроцитами барана в дозе 2×10^8 клеток в межлопаточную область через час после введения флоропена. Вторую (разрешающую) инъекцию антигена производили на 5-е сутки в подушечку задней левой лапы – «опытная лапа» (50 мкл суспензии эритроцитов барана, содержащей 10^8 клеток). В контралатеральную правую лапу вводили 50 мкл стерильного изотонического раствора натрия хлорида («контрольная лапа»). Результаты реакции регистрировали через 24 часа путем определения массы «опытной» и «контрольной» лап. Индекс реакции для каждого животного определяли по формуле:
$$I_p = \frac{M_{оп} - M_k}{M_k} \times 100 \%,$$
 где I_p – индекс реакции, %; $M_{оп}$ – масса «опытной» лапы; M_k – масса «контрольной» лапы.

Влияние флоропена на гуморальный иммунитет. Иммунотоксическое действие препарата флоропен оценивали по изменению способности к синтезу специфических IgG-антител в сыворотке крови мышей [Методические рекомендации, 1989].

В эксперименте было использовано 40 белых мышей, разделенных на 2 опытные, 1 контрольную и 1 интактную группы (по $n=10$). Выбор доз препарата флоропен осуществляли исходя из данных, полученных в остром опыте (1575,0 и 157,5 мг/кг). Препарат вводили подкожно в объеме 0,5 мл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида: животным 1 опытной группы трёхкратно с интервалом 48 часов в дозе 1575,0 мг/кг, 2 опытной группы – трёхкратно с интервалом 48 часов в дозе 157,5 мг/кг. Мышам контрольной группы подкожно вводили стерильный изотонический раствор натрия хлорида трехкратно с интервалом 48 часов. Через сутки после последнего введения препарата мышам опытных и контрольной групп была проведена однократная иммунизация белковым агентом - БСА (бычий сывороточный альбумин, производства компании «ДиА-М», Москва) в дозе 100 мкг/животное, который вводили внутрибрюшинно. Животным интактной группы БСА не вводили. На 7-й и 21-й день после иммунизации мышей (по $n=5$) умерщвляли и в образцах сыворотки крови измеряли пул специфического IgG. Уровень содержания специфических IgG-антител определяли методом иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител против IgG мыши, меченных пероксидазой хрена (производство фирмы «Полигност», г. С.-Петербург). В работе использовались полистироловые планшеты высокой сорбции, анализ проводили на ИФ-анализаторе «УНИПЛАН» (НПО Проплан, Москва) при длине волны 492 нм.

Противовоспалительное и ранозаживляющее действие примапена было изучено на моделях полнослойных кожных ран, которые воспроизводили под лёгким эфирным наркозом. Первая серия опыта была проведена на крысах-самках массой тела 200-240 г, которые были разделены на 3 группы (2 опытные и 1 контрольная) по 8 голов в каждой. На спине у крыс удаляли волосанную покров и иссекали участок кожи размером около 400 мм², через 24 часа начинали лечение. На раневую поверхность первой опытной группы наносили примепен без облепихового масла тонким слоем в количестве 0,5 г один раз в

день в течение 20 дней (осторожно втирая до полного впитывания). Второй опытной группе аналогично наносили на раневую поверхность примепен с облепиховым маслом. Животным контрольной группы лечение не проводили. Площадь ран регистрировали на 1, 5, 10, 15, 20 и 25 сутки после операции и рассчитывали в процентах по отношению к первоначальной ране.

Во второй серии опыта по изучению влияния примепена (опытная группа; $n=8$) на заживление инфицированных полнослойных кожных ран у белых крыс по сравнению положительным контролем (мазь «Левомеколь»; $n=8$) и отрицательным контролем (интактная группа; $n=8$) через 24 часа после операции на раны наносили культуру *Staph. aureus* 209P, а через сутки начинали лечение аналогично первой серии опыта. Площадь ран у животных регистрировали один раз в неделю. На 7 сутки после начала лечения с поверхности ран подопытных крыс были сделаны смывы 0,9% раствором хлорида натрия. Затем их инкубировали в термостате в МПБ, через сутки пересеивали на МПА и через 24 часа оценивали наличие и рост микроорганизмов.

Изучение остаточных количеств действующих веществ после применения виапена, флоропена и примепена было проведено в крови, молоке, мышечной ткани, печени и почках коров и свиноматок, которым внутриматочно вводили препараты однократно или один раз в день в течение 3-5 дней в дозе 60,0 г. Клинически здоровые животные контрольной группы препараты не получали. Пробы крови и молока для определения остаточных количеств изучаемых препаратов брали до и через 24, 48, 72, 96 и 120 ч. после последнего введения. На основании полученных данных определяли срок убоя коров и свиноматок опытных групп для взятия проб печени, почек и мышечной ткани (через 24-120 ч после введения препаратов). У животных контрольной группы кровь и молоко брали до начала и в конце опыта, а пробы органов - в конце опыта.

Определение концентрации норфлоксацина гидрохлорида, диоксидина, флорфеникола было основано на извлечении действующих веществ с помощью жидкостной экстракции и дальнейшей высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления, полученных после экстракции проб органов и тканей ацетонитрилом подкисленного лимонной кислотой (норфлоксацин), трихлоруксусной кислотой с метанолом (диоксидин), этилацетатом и обезжиривании петролейным эфиром (флорфеникол) с дальнейшим упариванием на ротационном испарителе.

Параметры хроматографирования для норфлоксацина и диоксидина: колонка обращеннофазовая, Symmetry C_{18} , 3,9x150 mm, 5 μ m; температура термостатирования хроматографической колонки +25°C; скорость потока элюента - 0,5 мл/мин; объем вводимой пробы - 20 мкл. Параметры хроматографирования для норфлоксацина: элюент - 10% н,п-диметилформамида в 0,01М лимонной кислоте (рН 2,5) и ацетонитрил (94:6); длина УФ волны детектирования - 277 нм, время выхода пика $\approx$ 4 мин.; общее время детектирования - 7 мин. Параметры хроматографирования для диоксидина: элюент (рН 2,5) - ацетонитрил / 0,1 Н раствор лимонной кислоты в

соотношениях 40:60; длина УФ волны детектирования - 254 нм; время выхода пика $\approx$ 5 мин.; общее время детектирования - 8 мин. Параметры хроматографирования для флорфеникола: колонка обращённофазовая Shim-pack XR-ODS; 75x3,0 mm, 2,2 μ m; температура термостатирования хроматографической колонки +25°C; скорость потока элюента 0,4 мл/мин.; объем вводимой пробы - 5 мкл. Параметры хроматографирования: элюент - дистиллированная вода и ацетонитрил (70:30); длина УФ волны детектирования - 230 нм, время выхода пика $\approx$ 3,6-3,7 мин.; общее время детектирования - 10 минут.

Для проведения качественного и количественного анализа полученных экстрактов применяли процедуру градуировки полученных хроматографических данных. Процедура градуировки служила для определения времени удерживания субстанций для последующей идентификации (качественный анализ проб) и взаимозависимости площади пика субстанций на хроматограммах и концентрации в пробах (количественный анализ). Для построения градуировочного графика (зависимости площади пика от концентрации) использовали ряд стандартных разведений норфлоксацина и диоксицина с концентрациями 5-2,5-1,0-0,50-0,05 мкг/мл. Определение коэффициента экстракции (Кэ) изучаемых субстанций проводили на модельных пробах. Хроматографирование модельных проб проводили в сравнении со стандартными растворами (использовали стандарт организации). Чувствительность метода или порог определения субстанций в экстрактах устанавливали путём хроматографирования экстрактов органов и тканей с предварительно внесёнными стандартными образцами различной концентрации.

Определение остаточных количеств линкомицина гидрохлорида и гентамицина сульфата было проведено микробиологическим методом диффузии в агар с тест культурой *Micrococcus luteus* ATCC 9341 и *Bacillus pumilus* NCTC 8241. Тест-культуры и стандартные образцы линкомицина гидрохлорида и гентамицина сульфата были получены в ФГБУ «ВГНКИ».

Клиническая фармакология. Научно-производственные опыты были проведены на коровах больных острым послеродовым эндометритом и свиноматках больных острым послеродовым эндометритом или ММА. Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, результатов клинического и акушерско-гинекологического исследований. Антимикробная терапия у коров пенициллиновыми аэрозолями проводилась на фоне общестимулирующей терапии (подкожно с интервалом 48 часов: ПДЭ в дозе 20 мл пятикратно, 7% стерильный раствор ихтиола в дозах 4-5-6-7-6-5 мл/100 кг массы тела) и симптоматической терапии (с интервалом 24 часа: двукратно 2% масляный раствор синестрола внутримышечно в дозе 0,5 мл/100 кг массы тела и окситоцин подкожно в дозе 8-10 ЕД/100 кг в течение 4 дней). За животными в течение опыта проводили ежедневное клиническое наблюдение, учитывая общее состояние, время исчезновения клинических признаков заболевания, объем и характер выделений из наружных половых органов. Эффективность препаратов оценивали по количеству выздоровевших животных, времени

выздоровления, числу внутриматочных введений препарата, количеству оплодотворившихся коров, периоду от отёла до оплодотворения, коэффициенту оплодотворения.

До и после введения препаратов у подопытных животных была взята кровь для проведения гематологических и биохимических исследований. Содержимое матки коров и свиноматок после лечения было подвергнуто микробиологическому исследованию с целью выявления микрофлоры. Для оценки терапевтической эффективности при ММА у свиноматок до и после лечения было проведено исследование секрета молочной железы на наличие соматических клеток с помощью анализатора «Фоссоматик».

Оптимальную дозу пенных аэрозолей при терапии острого послеродового эндометрита у коров и ММА у свиноматок после постановки диагноза определяли путём введения виапена или примапена внутриматочно в дозе 40,0 г/животное, 50,0 г/животное и 60,0 г/животное с 24-часовым интервалом, флоропена - в дозах 50,0, 60,0 и 70,0 г/животное с 24-часовым интервалом.

Для определения интервала между введениями препаратов первой опытной группе внутриматочно вводили виапен в дозе 60,0 г/животное с интервалом 24 часа, а второй группе – виапен в дозе 60,0 г/животное с интервалом 48 часов. В контрольной группе применяли энроцид согласно инструкции по применению.

Изучение терапевтической эффективности виапена, флоропена и примапена при остром послеродовом гнойно-катаральном эндометрите у коров и при метрит-мастит-агалактии (ММА) и послеродовом эндометрите у свиноматок проведено на животных, разделённых по принципу аналогов на 2 группы. Коровам и свиноматкам опытной группы внутриматочно вводили исследуемые препараты в дозе 60 г на животное один раз в сутки, а животным контрольной группы – энроцид (внутриматочно коровам 100 мл на животное, свиноматкам 50-75 мл на 100 кг массы тела с лечебной целью каждые 48 часов до выздоровления, с профилактической - однократно) или йодопен (с лечебной целью коровам внутриматочно по одному суппозиторию двукратно с интервалом 24-48 часов, с профилактической – однократно после родов). Терапевтическую эффективность виапена, флоропена и примапена при ММА свиноматок в дозе 60 г/животное оценивали при однократном, двукратном и трёхкратном введении.

Эффективность применения пенных аэрозолей для профилактики послеродовых болезней. Коровам опытной группы вводили внутриматочно исследуемый препарат однократно в дозе 60 г/животное через 6-8 часов после самопроизвольного или сразу после оперативного отделения последа. Коровам контрольных групп однократно внутриматочно вводили йодопен или энроцид согласно инструкциям по применению. Животные группы отрицательного контроля препаратов не получали. Свиноматкам подопытной группы через 6-10 часов после завершения родов внутриматочно вводили испытуемый препарат в дозе 60 г/животное, контрольной группе – энроцид, животные третьей группы служили отрицательным контролем. За животными в течение опыта проводили

клиническое наблюдение, учитывали процент заболевших животных, время заболевания, проявление первой охоты, сроки плодотворного осеменения.

Статистическая обработка результатов биологических испытаний проведена с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel», «Статистика+2003», StatPlus v5 с учётом требований статьи «Статистическая обработка результатов химических экспериментов и биологических испытаний» [Государственная Фармакопея XI, вып. 1, С. 199-251].

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 РАЗРАБОТКА СОСТАВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ ПЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ

2.2.1.1 Экспериментальное и теоретическое обоснование антибактериального состава препаратов

При микробиологическом исследовании экссудата матки больных острым послеродовым эндометритом коров (n=184) было установлено, что микрофлора в основном представлена ассоциациями грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Микробный пейзаж проявлялся следующим образом: *E. coli* – 28,8-83,2%, *Enterococcus* spp. – 16,8-66,8%, *Staphylococcus* spp. – 15,6-19,0%, *Streptococcus* spp. – 6,5-16,3%, *Citrobacter diversus* – 7,6-16,3% и *Proteus vulgaris* – 3,3-18,5%, *Bacillus subtilis* – 2,1-3,1%, *Candida* spp., *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. были выделены в 12,5-46,2% случаев. Микробный пейзаж матки больных ММА свиноматок (n=174) также в основном был представлен ассоциациями различных культур (до 76,4%). Видовой состав проявлялся следующим образом: *E. coli* – 41,4-79,9%, *Enterococcus* spp. – 10,3-66,1%, *Staphylococcus* spp. – 20,1-66,1%, *Streptococcus* spp. – 6,3-14,4%, *Citrobacter* spp. – 9,8-39,7%, *Proteus* spp. – 11,5%, *Candida* spp. и *Aspergillus* spp. – 8,6-16,1%.

В целом, выделенные бактерии были чувствительны к аминогликозидам – 71,0-89,1%, фторхинолонам – 51,5-78,8%, фениколам – 50,0-67,6%, тетрациклинам – 27,4-54,5%, хиноксалинам – 33,8-45,8%, линкозамидам – 26,8-52,0%, и цефалоспорином – 25,1-50,5%, пенициллинам и макролидам – менее 10%.

На основании литературных данных и экспериментальных исследований по совместимости различных лекарственных субстанций, был разработан ряд комплексных антибактериальных препаратов. В рецептуру препарата № 1 в качестве антимикробных веществ вошли субстанции норфлоксацина гидрохлорида и диоксида, № 2 – флорфеникол и линкомицина гидрохлорид, № 3 – гентамицина сульфат и диоксидин, а также вспомогательные вещества.

2.2.1.2 Разработка рецептуры и технологии пенных аэрозолей

После определения действующих веществ были подобраны растворители (диметилсульфоксид, монопропиленгликоль и вода), состав масляной фазы (масло растительное, глицерин); выбран эмульгатор (дракорин 100SEP, воск

эмульсионный), консервант (стеариновая кислота), пропеллент – хладон 12 или 134а и экспериментально определено его оптимальное количество.

Технологическая схема производства представляет собой приготовление эмульсии: после растворения всех компонентов водную и масляную фазы смешивают, затем полученный концентрат подаётся в бункер, где расфасовывается в алюминиевые аэрозольные баллоны, которые обкатываются и заправляются расчётным количеством хладона.

2.2.1.3 Определение оптимального соотношения антимикробных веществ

Для дальнейшего исследования были созданы композиции с различным соотношением действующих веществ в препаратах и проведено изучение их антимикробной активности, которую сравнивали с активностью исходных субстанций.

Состав композиций препарата виапен (норфлоксацина гидрохлорид / диоксидин, в мас.%): №1 – 3,5/1,0; №2 – 3,0/1,5; №3 – 2,25/2,25; №4 – 1,5/3,0; №5 – 1,0/3,5.

Установлено, что наиболее выраженным антимикробным действием обладает композиция №2: МБсК в отношении *E. coli* и *Staph. aureus* по сравнению с норфлоксацином была ниже в 2 раза, а по сравнению с диоксидином - в 32 и 16 раз соответственно, что свидетельствует о синергизме действующих веществ. МБцК всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

Состав композиций препарата флоропен (флорфеникол / линкомицина гидрохлорид, в мас.%): №1 – 3,0/1,0; №2 – 2,5/1,5; №3 – 2,0/2,0; №4 – 1,5/2,5; №5 – 1,0/3,0.

Наиболее выраженным антимикробным действием обладает композиция №2: МБсК в отношении *E. coli* и *Staph. aureus* по сравнению с линкомицином была ниже в 16 и 64 раза, а по сравнению с флорфениколом в отношении стафилококков - в 4 раза, что свидетельствует о синергизме действующих веществ. Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

Состав различных композиций препарата примапен (гентамицина сульфат / диоксидин, в мас.%): №1 – 3,25/0,25; №2 – 3,0/0,5; №3 – 2,5/1,0; №4 – 2,0/1,5; №5 – 1,5/2,0; №6 – 1,0/2,5; №7 – 0,5/3,0.

Установлено, что наиболее выраженным антимикробным действием обладает композиция №3: МБсК в отношении *E. coli* и *Staph. aureus* по сравнению с гентамицином была ниже в 8 и 4 раза соответственно, а по сравнению с диоксидином - в 16 и 64 раза соответственно, что свидетельствует о синергизме действующих веществ. МБцК всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

2.2.1.4 Методы качественного и количественного анализа препаратов

Для стандартизации и контроля качества комплексных антибактериальных препаратов, а также изучения стабильности при хранении, были использованы методы оценки, предъявляемые к аэрозолям

Государственной фармакопеей, включающие определение внешнего вида, герметичность упаковки, процент выхода содержимого из упаковки, среднюю массу одной дозы (для двухдозовых баллонов), подлинности и содержания действующих веществ, а также микробиологической чистоты.

Препараты представляют собой эмульсию: виапен - светло-желтого цвета, флоропен - белого цвета, примапен - желтого цвета, образующую при эвакуации из баллона пену. Препараты выдерживают проверку упаковки на герметичность и микробиологическую чистоту; выход содержимого из упаковки - не менее 90%; средняя масса одной дозы составляет $60 \pm 10\%$. После удаления содержимого из баллона образуется не менее $300,0 \text{ см}^3$ пены (при фасовке 60 г) и не менее 600 см^3 пены (при фасовке 120 г), со стабильностью не менее 30 минут.

Подлинность 2,3-Ди(гидроксиэтил)хиноксалин-1,4-диоксида (диоксидина), гентамицина сульфата и норфлоксацина гидрохлорида определяли методом тонкослойной хроматографии по соответствию пятен на хроматограмме стандартов и испытуемого препарата; подлинность флорфеникола - методом высокоскоростной жидкостной хроматографии; подлинность линкомицина - по развитию слабозеленого окрашивания с раствором нитропруссид натрия.

При определении массовой доли диоксидина, гентамицина сульфата, норфлоксацина гидрохлорида (спектрофотометрическим методом), флорфеникола (ВЭЖХ); линкомицина гидрохлорида (микробиологическим методом диффузии в агар) было установлено, что препараты выдерживают испытания.

Срок годности, установленный по результатам исследований показателей качества и стабильности препаратов в условиях долгосрочного хранения, составляет 1,5 года при рекомендуемой температуре хранения от $+5$ до $+20^\circ\text{C}$.

2.2.2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА

2.2.2.1 Антимикробная активность виапена

Виापен обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия. Наибольшую активность виапен проявлял в отношении *E. coli*: МБСК составляла 0,19-0,78 мкг/мл. МБСК в отношении кокковой микрофлоры (*Staph. aureus* и *Strept. pyogenes*) составляла 1,56-3,12 мкг/мл, а для почвенных штаммов и энтерококков - 3,12-6,25 мкг/мл. МБСК была выше в 2 раза.

2.2.2.2 Острая токсичность виапена

При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутримышечно в дозах от 5000,0 до 50000,0 мг/кг массы тела. LD_{50} определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутримышечном введении препарата.

При подкожном способе введения виапен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 16000,0 до 21000,0 мг/кг, а при внутривенном - от 5000,0 до 17000,0 мг/кг массы тела. Были получены

следующие результаты (таблица 1).

Таблица 1 - Параметры острой токсичности виапена для лабораторных животных при подкожном и внутрибрюшинном введении (мг/кг)

Параметры	Подкожное введение		Внутрибрюшинное введение	
	Белые мыши	Белые крысы	Белые мыши	Белые крысы
МПД	16000	16000	5000,00	5000,00
ЛД ₁₀	16790,04	16727,10	6350,13	6831,88
ЛД ₁₆	17224,78	17212,00	7372,19	7802,53
ЛД ₅₀	18767,91 (17366-20170)	18767,91 (17369-20497)	11000,00 (8114-13886)	11247,84 (8507-13989)
ЛД ₈₄	20311,04	20654,29	14627,81	14693,16
ЛД ₉₀	20745,79	21139,19	15649,87	15663,81
ЛД ₁₀₀	21082,61	21514,87	16441,72	16415,82
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	385,78	430,29	811,20	770,40
Уровень надёжности	0,953	0,953	0,953	0,953

Следовательно, виапен в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности (вещества малоопасные) или к 5 классу - по Р 1.2.3156-13 [2014]. По классификации токсических веществ Сидорова К.К. [1977] при подкожном и внутрибрюшинном введении препарат относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

2.2.2.3 Безвредность (переносимость) виапена на сельскохозяйственных животных

В результате проведённых исследований было установлено, что однократное применение виапена в дозах 60 г и 180 г на голову не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса животных, морфологические показатели крови и основные показатели обмена веществ коров опытных групп достоверно не отличались от контрольной группы.

2.2.2.4 Подострая токсичность виапена

Изучение параметров токсичности в подостром опыте показало, что многократное (в течение 21 дня) подкожное введение виапена в дозах 1/50 ЛД₅₀ (n=16) - 378,0 мг/кг, 1/20 (n=16) - 946,0 мг/кг и 1/10 (n=16) - 1892,0 мг/кг массы тела отрицательно не влияло на организм подопытных крыс. Не было отмечено гибели животных, статистически достоверного изменения коэффициента относительной массы внутренних органов, морфологических и биохимических показателей крови по сравнению с контрольной группой.

В 3 группе было зарегистрировано снижение привесов в первую неделю в среднем на 29,1%, в следующую неделю – на 13,3%, через 3 недели опыта – на 11,0%, а через 10 дней восстановительного периода - на 7,4% по сравнению с крысами контрольной группы. В крови отмечалось достоверное увеличение лейкоцитов на 18,9% (P<0,05) и снижение гемоглобина на 10,4% (P<0,05), что носило обратимый характер, так как не фиксировалось после

восстановительного периода.

2.2.2.5 Субхроническая токсичность виапена

В результате проведённых исследований было установлено, что трёхкратное введение виапена в терапевтической дозе (60 г/животное) не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ.

2.2.2.6 Раздражающие свойства препарата виапен

Раздражающее действие виапена на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба). После инстилляций виапена не выявлено изменений основных показателей клинического статуса подопытных кроликов, а также реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Раздражающее действие виапена на кожные покровы. При однократной аппликации на кожные покровы кроликов виапена в дозах 0,5 г, 2,5 г и 5,0 г/животное отсутствуют признаки эритемы или отёка.

Таким образом, виапен не оказывает раздражающего действия на слизистую глаз и кожные покровы.

2.2.2.7 Изучение алергизирующих свойств препарата виапен

Метод накожных аппликаций. При двадцатикратном нанесении на кожные покровы виапен не вызывает явлений сенсибилизации.

Конъюнктивальная проба. При аппликации на конъюнктиву морских свинок виапен не вызывает реакцию гиперчувствительности, как у сенсибилизированных, так и интактных животных.

Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НДТК). Показатель дегрануляции тучных клеток во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже 10% (5,0-8,7%). Следовательно, виапен не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов можно сделать заключение, что виапен не обладает алергизирующим действием.

2.2.2.8 Эмбриотоксическое и тератогенное действие виапена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. В дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг виапен не оказывает существенного влияния на плодовитость крыс опытных и контрольной групп. Количество жёлтых тел и мест имплантаций на одну самку в среднем по группам практически не отличалось. Не установлено достоверных различий по показателям пред- и постимплантационной гибели. Однако общая эмбриональная смертность у крыс опытных групп была несколько ниже, чем в группе контроля.

Наружный осмотр плодов под микроскопом не выявил наличия каких-либо аномалий или задержки развития плодов у подопытных животных. Размер и вес крысят опытных и контрольных групп не имели достоверных различий. Эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы.

Таким образом, виапен не обладает эмбриотоксическим и тератогенным

действием.

2.2.2.9 Определение остаточных количеств виапена

При внутриматочном введении виапена его компоненты всасываются в кровь и выделяются с молоком в более низких концентрациях. Количественное определение норфлоксацина и диоксилина после применения препарата однократного коровам и трёхкратного свиноматкам показало, что активные компоненты содержатся в пробах крови и молока в течение 48 часов, а через 72 часа не обнаруживаются. У коров после пятикратного применения виапена регистрируется аналогичная динамика. Однако остаточные количества норфлоксацина и диоксилина фиксируется ниже предела количественного анализа ($<0,025-0,035$ мкг/мл) более длительное время - в течение 72 часов.

Концентрации норфлоксацина и диоксилина в мышечной ткани коров и свиноматок, близкие к пределам детектирования, отмечается в течение 48 часов, а затем не обнаруживается. Наибольший уровень норфлоксацина и диоксилина обнаруживается в печени и почках коров и свиноматок в течение 48 часов, а через 72 часа регистрируется ниже предела количественного анализа (менее $0,03-0,035$ мкг/г).

Следовательно, после последнего введения виапена концентрация норфлоксацина гидрохлорида в молоке у коров ниже рекомендуемых нормативов [приложение № 21 к СанПиН 2.3.2.1078-01] через 72 часа, в мышцах у коров и свиноматок - через 48 часов, а в печени и почках - через 72 часа. Так как для диоксилина в нормативной документации не прописаны максимально допустимые концентрации в продуктах животноводства, молоко в пищевых целях можно употреблять через 5 суток после последнего введения препарата, а убой животных может быть разрешен через 3 суток.

2.2.3 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА

2.2.3.1 Определение оптимальной дозы виапена и кратности введения при лечении острого послеродового эндометрита у коров

Применение виапена в дозе 60 г/животное ($n=11$) обеспечило выздоровление 90,9% коров, что на 20,9% и 10,9% больше, чем при введении препарата дозах 40 г/животное ($n=10$) и 50 г/животное ($n=10$) соответственно. При этом выздоровление наступило быстрее в 1,3 и 1,2 раза, а количество внутриматочных введений препарата уменьшилось в 1,4 (с $4,54 \pm 0,31$ до $3,36 \pm 0,27$) и 1,2 раза (с $3,89 \pm 0,32$) соответственно. Оплодотворилось на 20,9% и 10,9% больше коров в сравнении с первой и второй группами, период от отёла до оплодотворения сократился на 30,0% и 12,4% соответственно, а коэффициент оплодотворения составил $1,91 \pm 0,08$, что ниже в 1,5 ($2,91 \pm 0,17$) и 1,2 раза ($2,33 \pm 0,12$) соответственно.

При исследовании маточного содержимого после лечения животных с применением виапена в дозе 60 г/животное патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не выявлено.

Эффективность применения виапена с 48-часовым ($n=59$) и 24-часовым ($n=97$) интервалом составила 84,8% и 91,8%, что выше, чем при введении

энроцида ($n=55$) на 13,9% и 20,9% соответственно. При этом период от отёла до оплодотворения по сравнению с базовым вариантом сократился на 22,2% и 22,4%, сроков выздоровления - на 16,4% и 22,6%, оплодотворилось больше на 14,0% и 20,6% коров, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,4 ($2,69 \pm 0,10$ до $1,92 \pm 0,04$) и 1,5 раза ($1,84 \pm 0,03$) соответственно.

Таким образом, рекомендуемая схема лечения острого послеродового эндометрита у коров включает внутриматочное введение препарата виапен в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.3.2 Определение оптимальной дозы виапена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок на примере ММА

Наибольший терапевтический эффект при ММА свиноматок получен после внутриматочного введения виапена в дозе 60,0 г/животное ($n=15$) – 86,7%. Введение препарата в дозе 50,0 г/животное ($n=15$) и 40,0 г/животное ($n=14$) по эффективности уступало в среднем на 6,7% и 15,5% соответственно.

Терапевтический эффект после однократного внутриматочного введения виапена свиноматкам ($n=36$) в дозе 60 г/животное при ММА составил 80,6%, после двукратного – 88,9% и трехкратного - 100,0%.

Таким образом, рекомендуемая схема лечения послеродовых патологий у свиноматок включает введение препарата виапен в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.3.3 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата виапен в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом

Оценка эффективности препарата свидетельствует о том, что при применении в качестве антибактериального средства виапена ($n=98$) в сравнении с энроцидом ($n=90$) эффективность лечения увеличилась на 20,9% (89,8%), сроки выздоровления сократились на 19,6% при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств с $4,0 \pm 0,31$ до $3,2 \pm 0,22$. При этом в опытной группе оплодотворилось на 17,9% больше животных, период от отёла до оплодотворения сократился на 22,3%, а коэффициент оплодотворения – в 1,4 раза ($2,6 \pm 0,19$ - в контрольной группе до $1,9 \pm 0,14$ - в опытной).

В процессе выздоровления в крови у коров опытной группы ($n=20$) увеличилось содержание эритроцитов и гемоглобина на 14,9% ($P<0,05$) и 19,1% ($P<0,001$) соответственно. Динамика изменения витаминно-минерального обмена характеризовалась повышением в крови витаминов Е - на 27,5%, С - на 25,8% и А - на 12,5%, общего кальция - на 6,0%, меди - на 18,4%, железа - на 11,8%, марганца - на 11,6%, связанного с белком йода - на 8,9% и цинка - на 8,7%. Отмечено увеличение общих липидов на 23,8% ($P<0,05$), при уменьшении концентрации холестерина на 8,8%, концентрации мочевины (на 2,1%) и креатинина (на 7,0%) а также активности ЩФ, АлАТ и АсАТ - на 23,5% ($P<0,05$), 26,1% и 6,1%, соответственно.

Таким образом, виапен обладает высокой терапевтической

эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров.

2.2.3.4 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата виапен при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом

После трёхкратного внутриматочного введения виапена больным гнойно-катаральным эндометритом (n=98) и ММА (n=82) свиноматкам, выздоровело 97,0% и 96,3%, что на 18,3% и 10,4% больше по сравнению с энроцидом (n=75 и n=71).

При исследовании проб молозива (n=91) было установлено, что внутриматочное введение антимикробных препаратов способствовало снижению количества соматических клеток. При этом количество поражённых долей у свиноматок после применения виапена оказалось меньше, чем в контрольной группе в 2,0 раза.

У свиноматок после лечения увеличилось содержание в крови эритроцитов на 13,2% (P<0,05), лейкоцитов - на 30,4% (P<0,05) и γ -глобулинов - на 11,8%, при снижении количества β -глобулинов на 15,3% (P<0,01). Также отмечалось уменьшение нагрузки на печень, о чём свидетельствовало снижение активности АсАТ и ЩФ на 42,2% (P<0,01) и 34,6% (P<0,05) соответственно. При этом происходила нормализация витаминно-минерального обмена: отмечалась тенденция повышения в крови содержания витаминов А и Е, повышалась концентрация магния на 20,5% (P<0,05), марганца - на 17,9% (P<0,05), СБЙ - на 13,0% (P<0,05) соответственно.

Таким образом, виапен обладает высокой терапевтической эффективностью при послеродовом эндометрите и ММА у свиноматок.

2.2.3.5 Эффективность применения виапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Эффективность применения виапена для профилактики при самопроизвольном (n=97) и оперативном отделении последа (n=88) составила 92,8% и 81,8%, что выше на 13,6% и на 17,3% соответственно, чем после применения энроцида (n=87 и n=96), и в 1,3 и 5,8 раз выше, чем в отрицательном контроле (n=55 и n=50). В группе, в которой применяли виапен, оплодотворилось на 16,0% больше животных, чем в группе с препаратом сравнения и в 2,0 раза - по сравнению с животными группы отрицательного контроля. При этом период от отёла до оплодотворения сократился на 18,5% и 33,6% соответственно, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,2 и 1,4 раза соответственно (с $2,0 \pm 0,14$ и $2,25 \pm 0,13$ до $1,67 \pm 0,06$).

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность применения виапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров.

2.2.3.6 Эффективность применения виапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок

Наибольшая профилактическая эффективность послеродового эндометрита и ММА установлена в группе животных, которым применяли

виапен (n=129) – 80,6% и 95,3% соответственно. Так, количество заболевших после родов свиноматок в сравнении с отрицательным контролем (n=103) было меньше в 2,6 раза, в том числе: ММА – в 4,6 раза, послеродовым эндометритом - в 2,1 раза, а в сравнении с группой свиноматок, которым применяли энроцид (n=123) - выше в 1,5 раза, в том числе, при ММА – в 2,0 раза, а при эндометрите – в 1,3 раза.

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность применения виапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок.

2.2.4 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА

2.2.4.1 Антимикробная активность флоропена

Флоропен обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия. МБсК в отношении кокков (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.): составила 0,78-3,12 мкг/мл, *Escherichia coli* - 3,12 мкг/мл, а в отношении полевых штаммов эшерихий и стафилококков - 3,12-6,25 мкг/мл. МБЦК в зависимости от возбудителя превышала бактериостатическую в 2-4 раза.

2.2.4.2 Острая токсичность флоропена

При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутрижелудочно в дозах от 5000,0 до 30000,0 мг/кг массы тела. Среднелетальную дозу (ЛД₅₀) определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутрижелудочном введении препарата.

При подкожном способе введения флоропен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 10000,0 до 25000,0 мг/кг, при внутривенном - от 5000,0 до 19000,0 мг/кг массы тела. Были получены следующие результаты (таблица 2).

Таблица 2 - Параметры острой токсичности флоропена для лабораторных животных при подкожном и внутривенном введении (мг/кг)

Параметры	Подкожное введение		Внутривенное введение	
	Белые мыши	Белые крысы	Белые мыши	Белые крысы
МПД	12500	12500	5000,00	5000,00
ЛД ₁₀	14396,82	14396,82	6892,62	6741,08
ЛД ₁₆	15551,45	15551,45	8069,22	7897,01
ЛД ₅₀	19649,79 (15927-23373)	19649,79 (15927-23373)	12245,59 (9253-15238)	12000,00 (9060-14940)
ЛД ₈₄	23748,14	23748,14	16421,95	16102,99
ЛД ₉₀	24902,76	24902,76	17598,55	17258,92
ЛД ₁₀₀	25797,3161	25797,3161	18510,13	18154,49
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	969,70	969,70	841,24	828,68
Уровень надёжности	0,953	0,953	0,953	0,953

Следовательно, флоропен в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности (вещества малоопасные) или к 5 классу - по Р 1.2.3156-13 [2014]. По классификации токсических веществ Сидорова К.К. [1977] при

подкожном и внутрибрюшинном введении препарат относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

2.2.4.3 Безвредность (переносимость) флоропена на сельскохозяйственных животных

В результате проведённых исследований было установлено, что однократное применение флоропена в дозах 60 г и 180 г на голову не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса животных, морфологические показатели крови и основные показатели обмена веществ коров опытных групп достоверно не отличались от контрольной группы.

2.2.4.4 Подострая токсичность флоропена

Изучение параметров токсичности в подостром опыте показало, что многократное (в течение 21 дня) подкожное введение флоропена в дозах 1/50 ЛД₅₀ (n=16) - 315,0 мг/кг, 1/20 (n=16) - 788,0 мг/кг и 1/10 (n=16) - 1575,0 мг/кг массы тела отрицательно не влияло на показатели клинического гомеостаза организма крыс. Не было отмечено гибели животных, статистического достоверного изменения коэффициента относительной массы внутренних органов, морфологических и биохимических показателей крови по сравнению с контрольной группой.

В 3 группе (1575,0 мг/кг) было зарегистрировано снижение привесов в течение первой недели на 4,7%, в следующую неделю – на 14,6%, через 3 недели опыта – на 35,0%, а через 10 дней восстановительного периода - на 13,2% по сравнению с крысами контрольной группы. В крови отмечена тенденция увеличения лейкоцитов (на 16,8%) и снижения гемоглобина (на 6,4%). Также было зафиксировано более напряжённое функционирование мочевыделительной и гепатобилиарной системы организма крыс: возросло содержание креатинина на 18,3% ($P<0,005$), мочевины - на 26,2% ($P<0,05$), а также имелась тенденция к повышению активности АсАТ и АлАТ на 19,1% и 24,6% соответственно. Изменения носили обратимый характер, так как не фиксировались после восстановительного периода.

2.2.4.5 Субхроническая токсичность флоропена

В результате проведённых исследований было установлено, что трёхкратное введение флоропена в терапевтической дозе (60 г/животное) не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок, на морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ.

2.2.4.6 Раздражающие свойства препарата флоропен

Раздражающее действие флоропена на слизистые оболочки (конъюнктивная проба). Клиническое исследование состояния организма подопытных кроликов после инстилляций флоропена не выявило изменений основных показателей клинического статуса животных, а также реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Раздражающее действие флоропена на кожные покровы. Результаты

опыта свидетельствуют об отсутствии признаков эритемы или отёка при однократной аппликации на кожные покровы кроликов изучаемого препарата в дозах 0,5 г, 2,5 г и 5,0 г/животное.

Таким образом, флоропен не обладает раздражающим действием на слизистую глаз и кожные покровы.

2.2.4.7 Изучение аллергизирующих свойств препарата флоропен

Метод накожных аппликаций. Установлено, что при двадцатикратном нанесении на кожные покровы флоропен не вызывал явлений сенсибилизации

Конъюнктивальная проба. При аппликации на конъюнктиву морских свинок флоропен не вызывает реакцию гиперчувствительности, как у сенсибилизированных, так и интактных морских свинок.

Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НТДК). Показатель дегрануляции тучных клеток во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже 10% (7,1%). Следовательно, изучаемый препарат не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов можно сделать заключение, что флоропен не обладает аллергизирующим действием.

2.2.4.8 Иммунотоксические свойства препарата флоропен

Реакция гиперчувствительности замедленного типа. Введение флоропена в дозах 157,5 мг/кг и 1575,0 мг/кг подопытным мышам вызывало повышение индекса РГЗТ (однократное введение - $13,0 \pm 0,71\%$ и $14,1 \pm 0,80\%$ соответственно, 3-кратное - $13,2 \pm 0,66\%$ и $14,4 \pm 0,88\%$ соответственно), также как и у животных контрольных групп ($13,3 \pm 0,98\%$ и $14,0 \pm 1,28\%$) по сравнению с интактом. При этом сила специфического ответа не различалась.

Влияние флоропена на гуморальный иммунитет. Уровень специфического IgG в сыворотке крови мышей через 7 дней составил в интактной группе - $0,123 \pm 0,003$ Ед.опт.пл., в контрольной - $0,158 \pm 0,002$, при введении флоропена в дозе 157,5 мг/кг и 1575,0 мг/кг - $0,155 \pm 0,004$ и $0,163 \pm 0,005$ соответственно, а через 21 день - $0,129 \pm 0,003$, $0,136 \pm 0,004$, $0,136 \pm 0,006$ и $0,133 \pm 0,005$ Ед.опт.пл. соответственно. При этом сила и продолжительность специфического ответа в подопытных группах не различалась.

Таким образом, флоропен не обладает иммунотоксическими свойствами.

2.2.4.9 Эмбриотоксическое и тератогенное действие флоропена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. В дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг флоропен не оказывает существенного влияния на плодовитость крыс опытных и контрольной групп. Количество жёлтых тел и мест имплантаций на одну самку в среднем по группам практически не отличалось. Не установлено достоверных различий по показателям пред- и постимплантационной гибели. Однако общая эмбриональная смертность у крыс опытных групп была несколько ниже, чем в группе контроля.

Наружный осмотр плодов под микроскопом не выявил наличия каких-

либо аномалий или задержки развития плодов у подопытных животных. Размер и вес крысят опытных и контрольных групп не имели достоверных различий. Эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы.

Таким образом, флоропен не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

2.2.4.10 Определение остаточных количеств флоропена

После трехкратного внутриматочного введения флоропена свиноматкам в дозе 60 г/животное его компоненты всасываются в кровь, где в течение 48-72 часов регистрируются в следовых количествах. При этом суммарная концентрация флорфеникола и флорфениколамина в мышечной ткани, печени и почках через 48 часов после введения флоропена была ниже МДУ соответственно в 6 ($0,025 \pm 0,012$ мкг/г), 12 ($0,06 \pm 0,003$ и $0,11 \pm 0,024$ мкг/г соответственно) и в 2 раза ($0,17 \pm 0,02$ и $0,10 \pm 0,027$ мкг/г соответственно). Концентрация линкомицина гидрохлорида в мышечной ткани, печени и почках через 48 часов была ниже пределов детектирования (менее 0,05 мкг/г) и рекомендуемых нормативов в 2, 10 и 3 раза соответственно.

Следовательно, после последнего введения флоропена концентрация флорфеникола и линкомицина в организме свиноматок была ниже МДУ [приложение №21 к СанПиН 2.3.2.1078-01] через 48 часов. Таким образом, период каренции после последнего применения флоропена составляет 2 суток.

2.2.5 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА

2.2.5.1 Определение оптимальной схемы применения флоропена при лечении острого послеродового эндометрита у коров

Флоропен в дозе 50 г ($n=14$) малоэффективен (71,4%), в то время как при введении в дозах 60,0 ($n=35$) и 70,0 г ($n=31$) терапевтическая эффективность составила 94,3% и 93,6% соответственно, при сокращении внутриматочных введений в 1,3 и 1,4 раза соответственно ($3,71 \pm 0,24$ до $2,87 \pm 0,22$ и $2,75 \pm 0,19$) и сроков выздоровления на 20,7% и 24,0% ($12,1 \pm 1,0$ до $9,6 \pm 0,51$ и $9,2 \pm 0,6$ дней соответственно). При этом оплодотворилось на 9,6% и 19,6% соответственно больше животных, период от отёла до оплодотворения сократился на 23,7% и 26,7% соответственно, а коэффициент оплодотворения – в 1,5 раза ($2,69 \pm 0,20$ до $1,81 \pm 0,06$ и $1,77 \pm 0,09$ соответственно).

Таким образом, в результате проведённых исследований можно сделать вывод, что рекомендуемая схема лечения острого послеродового эндометрита у коров включает внутриматочное введение препарата флоропен в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.5.2 Определение оптимальной дозы флоропена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок

Наибольший терапевтический эффект при гнойно-катаральном эндометрите свиноматок получен после внутриматочного введения флоропена в дозе 60,0 г/животное ($n=15$) и 70,0 г/животное ($n=14$) – 93,3% и 92,9%, что выше эффективности препарата в дозе 50,0 г/животное ($n=14$) в среднем на

11,7%.

Терапевтический эффект после однократного внутриматочного введения флоропена ($n=54$) свиноматкам в дозе 60 г/животное составил 77,8%, при двукратном - 96,2%, а при трёхкратном - 100,0%. В группе свиноматок, которым применяли энроцид ($n=42$), данные показатели были ниже на 25,4%, 20,1% и 9,5% соответственно.

Таким образом, рекомендуемая схема лечения послеродовых патологий у свиноматок включает введение препарата флоропен в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.5.3 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата флоропен в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом

Терапевтическая эффективность флоропена при лечении острого послеродового эндометрита у коров составила 90,5%. При применении в качестве антимикробного средства флоропена ($n=105$) в сравнении с энроцидом ($n=100$) эффективность лечения увеличилась на 19,5%, сроки выздоровления сократились на 30,2% при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств с $4,38 \pm 0,18$ до $2,85 \pm 0,07$. В опытной группе оплодотворилось на 11,9% больше животных, при этом период от отёла до оплодотворения сократился на 17,8%, а коэффициент оплодотворения – в 1,4 раза ($2,66 \pm 0,17$ - в контрольной группе до $1,87 \pm 0,05$ - в опытной).

В пробах крови у коров после лечения отмечалось снижение лейкоцитов на 23,3% ($P<0,005$), увеличение гемоглобина на 17,7% ($P<0,05$), общего белка на 12,4% ($P<0,005$), общих липидов – в 1,36 раза ($P<0,05$), витамина Е – в 1,4 раза ($P<0,05$), при снижении активности ЩФ – на 22,3% ($P<0,05$), АсАТ – на 30,8% ($P<0,001$) и АлАТ – на 18,6%, что свидетельствовало о восстановлении гомеостаза подопытных животных.

При исследовании маточного содержимого после лечения животных с применением флоропена патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не выявлено.

Таким образом, флоропен обладает высокой терапевтической эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров.

2.2.5.4 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата флоропен при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом

Терапевтическая эффективность флоропена при гнойно-катаральном эндометрите ($n=131$) и ММА ($n=205$) у свиноматок составила 97,9% и 94,1% соответственно, что в сравнении с энроцидом ($n=137$ и $n=141$) на 12,6% и 21,8% больше. При этом количество введений флоропена было меньше ($1,41 \pm 0,17$ и $1,34 \pm 0,11$ соответственно), чем контрольного препарата ($1,73 \pm 0,24$ и $1,55 \pm 0,18$ соответственно).

В процессе выздоровления свиноматок происходила нормализация морфологических и биохимических показателей крови: отмечалась тенденция к

увеличению эритроцитов на 7,6%, гемоглобина 6,9% и лейкоцитов на 14,0% (при уменьшении эозинофилов на 20,0%, палочкоядерных нейтрофилов - на 37,5% ($P<0,05$) и лимфоцитов - на 11,9% ($P<0,05$)). В сыворотке наблюдалось увеличение общего белка на 7,1% ($P<0,005$) при одновременном снижении α -, β - и γ -глобулинов на 15,6%, 11,0% ($P<0,05$) и 13,6% соответственно. Также регистрировалось уменьшение нагрузки на печень: активность АсАТ и γ -ГТ уменьшалась на 44,1% ($P<0,005$) и 24,3% соответственно.

Введение флоропена снизило поражённость долей молочной железы маститом в 10,9 раза, что оказалось эффективнее контрольного препарата в 2,9 раза.

Таким образом, флоропен обладает высокой терапевтической эффективностью при ММА и гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок.

2.2.5.5 Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров (в первом опыте) при самопроизвольном ($n=54$) и оперативном отделении последа ($n=53$) составила 92,6% и 84,9% соответственно, что выше на 15,2% и 24,5%, чем после применения энроцида (по $n=53$). В группе, в которой применяли флоропен, оплодотворилось на 8,8% больше животных, чем в группе с препаратом сравнения. При этом период от отёла до оплодотворения сократился на 19,0%, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,2 раза (с $1,96\pm0,08$ до $1,63\pm0,04$).

Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров (во втором опыте) при самопроизвольном ($n=60$) отделении последа составила 88,3%, что выше на 11,5%, чем после применения йодопена ($n=56$), и в 1,8 раза - отрицательного контроля ($n=12$). Применение флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров при оперативном отделении последа ($n=57$) показало эффективность в 82,5%, что больше на 21,4%, чем после применения йодопена ($n=54$), и в 4,5 раза - отрицательного контроля ($n=11$). В группе, в которой применяли флоропен, оплодотворилось на 16,4% больше животных, чем в группе с препаратом сравнения и в 2,5 раза - по сравнению с интактными животными. При этом период от отёла до оплодотворения сократился на 24,2% и 36,3% соответственно, а коэффициент оплодотворения - в 1,3 раза (с $2,40\pm0,31$ и $2,43\pm0,14$ соответственно, до $1,85\pm0,04$).

Таким образом, проведённые исследования показали высокую эффективность применения флоропена для профилактики послеродовых болезней у коров.

2.2.5.6 Эффективность применения флоропена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок

Проведённые исследования показали высокую эффективность применения флоропена ($n=226$) для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок - 81,9% и 97,3% соответственно. Заболевших после родов

свиноматок в сравнении с отрицательным контролем ($n=121$) выявлено в 2,9 раза меньше, в том числе: ММА – в 9,2 раза, послеродовым эндометритом - в 2,0 раза, а в сравнении с группой свиноматок, которым применяли энроцид ($n=193$) – выше на в 1,5 раза, в том числе, при ММА – в 3,3 раза, а при эндометрите – в 1,3 раза.

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность применения флоропена для профилактики послеродовых болезней свиноматок.

2.2.6 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА

2.2.6.1 Антимикробная активность примапена

Примепен обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия. МБсК примапена в отношении эшерихий и стафилококков составила 0,19-0,39 мкг/мл. Антимикробная активность в отношении полевых штаммов и стрептококков была ниже – 0,78-6,25 мкг/мл. МБсК примапена в отношении изученных культур в 2 раза выше МБсК.

2.2.6.2 Острая токсичность примапена

При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутривентрикулярно в дозах от 5000,0 до 50000,0 мг/кг массы тела. Среднелетальную дозу (LD_{50}) определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутривентрикулярном введении препарата в максимальном объеме в дозе 50000,0 мг/кг массы тела.

При подкожном способе введения примепен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 11000,0 до 21000,0 мг/кг, при внутривентрикулярном – от 6000,0 до 15000,0 мг/кг массы тела. Были получены следующие результаты (таблица 3).

Таблица 3 - Параметры острой токсичности примапена для лабораторных животных при подкожном и внутривентрикулярном введении (мг/кг)

Параметры	Подкожное введение		Внутривентрикулярное введение	
	Белые мыши	Белые крысы	Белые мыши	Белые крысы
МЛД	11000	11000	6000,00	6000,0
LD_{10}	12977,43	11278,73	7483,07	7553,61
LD_{16}	13810,81	12354,31	8108,11	828078
LD_{50}	16768,93 (14082-19456)	16172,09 (12704-19640)	10326,70 (8311-12342)	10861,90 (8808-12915)
LD_{84}	19727,05	19989,88	12545,28	13443,02
LD_{90}	20560,43	21065,46	13170,32	14170,20
LD_{100}	21206,10	21898,77	13654,58	14733,59
Стандартная ошибка LD_{50}	739,5	880,7	554,65	577,16
Уровень надёжности	0,953	0,953	0,953	0,953

Следовательно, примепен в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности (вещества малоопасные) или к 5 классу - по Р 1.2.3156-13

[2014]. По классификации токсических веществ Сидорова К.К. [1977] при подкожном и внутрибрюшинном введении препарат относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

2.2.6.3 Безвредность (переносимость) примапена на сельскохозяйственных животных

В результате проведённых исследований было установлено, что однократное применение примапена в дозах 60 г и 180 г на голову не оказывало негативного влияния на организм коров ($n=15$) и свиноматок ($n=21$). На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса животных, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ коров и свиноматок достоверно не отличались от контрольной группы.

2.2.6.4 Подострая токсичность примапена

Изучение параметров токсичности в подостром опыте показало, что многократное (в течение 14 дней) подкожное введение примапена в дозах $1/50$ ЛД₅₀ ($n=16$) - 323,0 мг/кг и $1/10$ ($n=16$) - 1617,0 мг/кг массы тела отрицательно не влияло на организм подопытных крыс. Не отмечено гибели животных, статистического достоверного различия в привесах, коэффициента относительной массы внутренних органов, существенных изменений морфологических и биохимических показателей крови.

2.2.6.5 Субхроническая токсичность примапена

В результате проведённых исследований установлено, что трёхкратное введение примапена в терапевтической дозе (60 г/животное) не оказывало негативного влияния на организм коров ($n=19$) и свиноматок ($n=20$), морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ.

2.2.6.6 Раздражающие свойства препарата примепен

Раздражающее действие примапена на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба). После инстилляций примапена не выявлено изменений основных показателей клинического статуса подопытных кроликов, а также реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Раздражающее действие примапена на кожные покровы. Отсутствуют признаки эритемы или отёка при однократной аппликации на кожные покровы кроликов в дозах 0,5 г, 2,5 г и 5 г/животное.

Таким образом, примепен не оказывает раздражающего действия на слизистую глаз и кожные покровы.

2.2.6.7 Изучение аллергизирующих свойств препарата примепен

Метод накожных аппликаций. При двадцатикратном нанесении на кожные покровы примепен не вызывает сенсибилизации.

Конъюнктивальная проба. При аппликации на конъюнктиву морских свинок примепен не вызывает реакции гиперчувствительности, как у сенсибилизированных, так и интактных животных.

Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НТДК). Показатель

дегрануляции тучных клеток во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже 10% (7,1%). Следовательно, примапен не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов можно сделать заключение, что примапен не обладает аллергизирующим действием.

2.2.6.8 Противовоспалительное и ранозаживляющее действие примапена

Для введения в рецептуру примапена облепихового масла, были проведены две серии опытов по изучению его ранозаживляющего действия.

В первом опыте, у животных, которых лечили примапеном с облепиховым маслом, скорость заживления ран была выше в 4,1 раза по сравнению с животными контрольной группы, в то время как у примапена без облепихового масла – в 1,5 раза.

Во втором опыте, на 7 сутки после начала лечения с поверхности инфицированных стафилококком ран подопытных крыс были сделаны смывы. У животных, которых лечили примапеном (с облепиховым маслом) *Staph. aureus* 209P не был обнаружен, у животных контрольной группы (мазь «Левомеколь») рост микроорганизма регистрировался в 62,5%, а у интактных животных – в 100%. На шестой неделе эксперимента у 75,0% крыс опытной группы отмечалось полное выздоровление, а у контрольных и интактных животных – только через семь недель.

Следовательно, примапен обладает выраженным ранозаживляющим действием за счёт облепихового масла, входящего в его состав, а также значительно ускоряет процесс лечения инфицированных ран за счёт антибактериальных компонентов, которые обеспечивают санацию раневой поверхности от микрофлоры.

2.2.6.9 Эмбриотоксическое и тератогенное действие примапена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. В дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг примапен не оказывает существенного влияния на плодовитость крыс опытных и контрольной групп. Количество жёлтых тел и мест имплантаций на одну самку в среднем по группам практически не отличалось. Не установлено достоверных различий по показателям пред- и постимплантационной гибели. Однако общая эмбриональная смертность у крыс опытных групп была несколько ниже, чем в группе контроля.

Наружный осмотр плодов под микроскопом не выявил наличия каких-либо аномалий или задержки развития плодов у подопытных животных. Размер и вес крысят опытных и контрольных групп не имели достоверных различий. Эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы.

Таким образом, примапен не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

2.2.6.10 Определение остаточных количеств примапена

После курсового применения примапена гентамицин всасывается в кровь и регистрируется ниже рекомендуемых нормативов в мышцах через 24 часа

(менее 0,03 мкг/г), в печени коров и свиноматок через 48 ч. - в 2,0 раза ($0,10 \pm 0,03$ и $0,11 \pm 0,03$ мкг/г соответственно), в почках – в 5 ($0,15 \pm 0,04$ мкг/г) и 4 ($0,19 \pm 0,04$ мкг/г) раза, а в молоке - через 72 часа [приложение №21 к СанПиН 2.3.2.1078-01].

Аналогичная динамика изменения концентрации в организме животных установлена для диоксидина. Он всасывается в кровь и через 72 часа определяется в молоке, мышцах, печени и почках в следовых количествах.

Так как для диоксидина в нормативной документации не прописаны максимально допустимые концентрации в продуктах животноводства, молоко в пищевых целях можно употреблять через 5 суток после последнего введения препарата, а убой животных может быть разрешен через 3 суток.

2.2.7 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА

2.2.7.1 Определение оптимальной схемы применения примапена при лечении острого послеродового эндометрита у коров

При применении примапена в дозе 60 г/животное ($n=11$) выздоровело 90,9%, что на 15,9% и 2,0% больше, чем при введении препарата дозах 40 ($n=8$) и 50 г/животное ($n=9$). При этом выздоровление наступало раньше на 35,8% и 13,1% соответственно, а количество внутриматочных введений препарата уменьшилось в 1,4 (с $4,0 \pm 0,3$ до $2,8 \pm 0,2$) и 1,3 раза (с $3,7 \pm 0,4$) соответственно. После терапии острого послеродового эндометрита при применении примапена в дозе 60 г/животное оплодотворилось на 28,4% и 13,1% больше коров в сравнении с первой и второй группами соответственно, период от отёла до оплодотворения сократился на 24,6% и 3,9%, а коэффициент оплодотворения составил $1,97 \pm 0,11$, что ниже в 1,5 раза ($2,89 \pm 0,19$) и 1,2 раза ($2,45 \pm 0,12$) соответственно.

Микробиологическое исследование содержимого матки после лечения с использованием примапена в дозе 60 г/животное не выявило контаминации органа патогенной и условно-патогенной микрофлорой.

Таким образом, рекомендуемая схема лечения острого послеродового эндометрита у коров включает внутриматочное введение препарата примапена в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.7.2 Определение оптимальной дозы примапена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок

Наибольший терапевтический эффект при ММА свиноматок получен после внутриматочного введения примапена в дозе 60,0 г/животное ($n=14$) - 85,7%, что выше, чем при применении препарата в дозах 40,0 ($n=11$) и 50,0 ($n=11$) г/животное в среднем на 14,0% и 4,9% соответственно.

Терапевтический эффект после однократного внутриматочного введения примапена свиноматкам ($n=21$) в дозе 60 г/животное при ММА составил 76,2%, после двукратного – 85,7% и трёхкратного – 95,2%.

Таким образом, рекомендуемая схема лечения послеродовых патологий у свиноматок включает внутриматочное введение препарата примапена в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

2.2.7.3 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата примепен в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом

При применении в качестве этиотропного средства примепена ($n=50$) в сравнении с энроцидом ($n=52$) эффективность лечения увеличилась на 16,0% (с 73,1% до 92,0%), сроки выздоровления сократились на 30,6% при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств с $4,27 \pm 0,34$ до $3,8 \pm 0,29$. При этом в опытной группе оплодотворилось на 20,0% больше животных, при этом период от отёла до оплодотворения сократился на 19,1%, а коэффициент оплодотворения – в 1,4 раза (с $2,7 \pm 0,1$ до $1,9 \pm 0,1$).

После лечения у коров опытной группы отмечается увеличение гемоглобина на 8,9% ($P<0,005$), общих липидов – в 1,36 раза ($P<0,05$), витаминов А – в 1,28 раза и Е – в 1,41 раза ($P<0,05$), при снижении количества лейкоцитов на 15,2%, креатинина и мочевины – на 9,5%, активности АсАТ – на 30,8% ($P<0,001$) и АлАТ – на 18,5%. Результаты морфологических и биохимических исследований проб крови свидетельствуют о том, что в процессе выздоровления происходит восстановление гомеостаза организма животных.

При исследовании маточного содержимого после лечения животных с применением примепена патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не выявлено.

Таким образом, флоропен обладает высокой терапевтической эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров.

2.2.7.4 Результаты научно-производственных испытаний применения препарата примепен при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом

После трёхкратного внутриматочного введения примепена больным гнойно-катаральным эндометритом ($n=58$) и ММА ($n=46$) свиноматкам, выздоровело 96,6% и 97,8% животных, что на 10,1% и 18,9% соответственно больше по сравнению с энроцидом ($n=34$ и $n=38$).

У свиноматок, при использовании в качестве антимикробного средства примепена, отмечалась тенденция увеличения эритроцитов на 5,5%, гемоглобина, моноцитов – на 14,3%, лимфоцитов, лейкоцитов, γ -глобулинов – на 11,6%, что свидетельствовало об активизации защитных механизмов в их организме. Снижение активности ферментативного звена: АлАТ – на 17,5%, γ -ГТ – на 16,2% ($P<0,05$), АсАТ – на 12,0% ($P<0,05$), является результатом нормализации процессов метаболизма в печени.

При исследовании маточного содержимого после лечения животных с применением примепена патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не выявлено.

Таким образом, примепен обладает высокой терапевтической эффективностью при послеродовом эндометрите и ММА у свиноматок.

2.2.7.5 Эффективность применения примапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Внутриматочное введение коровам после отёла примапена, на фоне самопроизвольного ($n=28$) или оперативного отделения ($n=24$) последа, предупреждает развитие воспалительного процесса в 92,9% и 83,3%, что выше показателей препаратов сравнения (по $n=20$) в среднем на 17,7% и 18,2% соответственно, а отрицательного контроля (по $n=8$) – в 1,9 и 3,3 раза. При применении примапена оплодотворилось на 18,3% больше животных, чем в группе с базовыми препаратами, а по сравнению с отрицательным контролем – в 2,4 раза. При этом период от отёла до оплодотворения сократился на 16,8% и 27,0% соответственно, а коэффициент оплодотворения снизился в среднем в 1,3 раза ($2,69 \pm 0,04$ – отрицательный контроль, $2,35 \pm 0,08$ – препараты сравнения, $1,96 \pm 0,06$ – примапен).

Таким образом, проведённые исследования показали высокую эффективность применения примапена для профилактики послеродовых болезней у коров.

2.2.7.6 Эффективность применения примапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок

Наибольшая профилактическая эффективность послеродового эндометрита и ММА установлена в группе животных, которым применяли примапен ($n=39$) – 84,8% и 94,9%. Так, количество заболевших после родов свиноматок в сравнении с отрицательным контролем ($n=21$) было меньше в 3,1 раза, в том числе: ММА – в 4,7 раза, послеродовым эндометритом – в 2,5 раза, а в сравнении с группой свиноматок, которым применяли энзотид ($n=36$) – выше в 1,5 раза, в том числе, при ММА – в 1,6 раза, а при эндометрите – в 1,5 раза.

Таким образом, проведённые исследования показали высокую эффективность применения примапена для профилактики послеродовых болезней у свиноматок.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании экспериментальных и клинических исследований созданы новые комплексные антибактериальные препараты в форме пенных аэрозолей, обладающие широким спектром антимикробного действия, предназначенные для лечения и профилактики послеродовых заболеваний воспалительного характера матки у коров и свиноматок: виапен, флоропен и примапен. Налажено их серийное производство.

2. В рецептуру препарата виапен в качестве действующих веществ вошли норфлоксацин гидрохлорид и диоксидин, флоропена – флорфеникол и линкомицина гидрохлорид, примапена – гентамицина сульфат, диоксидин и масло облепиховое. В качестве вспомогательных веществ в состав препаратов включены: вода дистиллированная, диметилсульфоксид, масло растительное, глицерин, монопропиленгликоль, дракорин 100 SEP, воск эмульсионный,

кислота стеариновая и хладон 12 или 134а. Препараты представляют собой эмульсию, которая при выдавливании из баллона образует пену.

3. Синергическое действие составляющих антимикробных компонентов виапена (норфлоксацина гидрохлорида и диоксилина в соотношении 3,0:1,5) в отношении основных возбудителей воспалительных заболеваний матки у животных позволило снизить минимальную бактериостатическую концентрацию (МБСК) в 2-32 раз, флоропена (флорфеникол и линкомицина гидрохлорид в соотношении 2,5:1,5) – в 4-64 раза, примапена (гентамицина сульфат и диоксидин в соотношении 2,5:1,0) – в 4-64 раз.

Разработанные препараты обладают высокой антимикробной активностью и широким спектром действия: МБСК виапена и примапена для культур микроорганизмов *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* составила 0,19-6,25 мкг/мл, флоропена – 0,78-6,25 мкг/мл.

4. Разработанные в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ органолептические, физико-химические, химические, микробиологические методы качественного и количественного анализа препаратов обеспечивают надлежащий контроль качества лекарственных средств в процессе их производства, хранения и применения.

При температуре хранения от +5 до +20°C срок годности препаратов составляет 1,5 года.

5. Виапен, флоропен и примапен при внутрижелудочном введении белым мышам и белым крысам в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относятся к IV классу опасности (вещества малоопасные) или к 5 классу в соответствии с Р 1.2.3156-13. По классификации токсических веществ К.К. Сидорова препараты при подкожном и внутрибрюшинном введении относятся к 6 классу.

6. При продолжительном подкожном инъектировании (в течение 14-21 дней) белым крысам в дозах 1/50, 1/20 и 1/10 ЛД₅₀, препараты хорошо переносятся и негативно не влияют на организм животных. Зарегистрированные изменения некоторых показателей крови у крыс опытных групп при введении препаратов в дозе 1/10 ЛД₅₀ носят обратимый характер, так как не отмечаются после восстановительного периода.

7. Препараты виапен, флоропен и примапен не оказывают раздражающего действия на слизистую глаз и кожные покровы животных, не обладают аллергизирующим, эмбриотоксическим и тератогенным действием.

8. Оптимальная схема лечения коров и свиноматок с послеродовыми воспалительными заболеваниями матки антимикробными лекарственными препаратами, созданными в форме пенного аэрозоля, включающая внутриматочное введение в дозе 60 г на животное с 24-часовым интервалом обеспечивает терапевтическую эффективность 90,9-94,3% и 95,2-100,0% соответственно.

9. При однократном внутриматочном введении коровам и свиноматкам в терапевтической и в трёхкратно превышающей терапевтическую дозах виапен, флоропен и примапен хорошо переносятся животными, отрицательно не влияют на физиологическое функционирование органов и систем их организма.

10. При комплексном лечении больных послеродовым эндометритом коров с использованием в качестве этиотропного средства виапена выздоровление после трёхкратного внутриматочного введения в дозе 60 г на животное с 24-часовым интервалом зарегистрировано у 89,8%, флоропена – 90,5% и примапена – 92,0%. Эти показатели превышают эффективность препаратов сравнения соответственно на 20,9%, 19,5% и 18,9%. Оплодотворяемость переболевших коров увеличилась на 17,9%, 11,9%, 22,6% соответственно, период от отёла до оплодотворения сократился на 22,3%, 17,8% и 19,1%, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,4 раза.

11. Трёхкратное внутриматочное введение свиноматкам с гнойно-катаральным эндометритом виапена в дозе 60 г на животное с 24-часовым интервалом обеспечило выздоровление 97,0% животных, флоропена – 97,7%, примапена – 98,3%. Эти показатели превышают эффективность препаратов сравнения на 18,3%, 13,0% и 10,1% соответственно.

Трёхкратное внутриматочное введение свиноматкам с синдромом метрит-мастит-агалактия введение виапена в дозе 60 г на животное с 24-часовым интервалом обеспечивает выздоровление 96,3% животных, флоропена – 94,1%, примапена – 97,8%, что превышает эффективность препаратов сравнения соответственно на 10,4%, 21,8 и 18,9%.

12. Внутриматочное введение коровам после отёла виапена в дозе 60 г на животное на фоне отделившегося или задержавшегося последа предупреждает развитие воспалительного процесса в 92,8% и 81,1%, флоропена – 90,5% и 83,7%, примапена – 92,9% и 83,3%, что выше показателей препаратов сравнения на 13,6-17,3%, 13,4-22,9% и 17,7-18,2% соответственно, а отрицательного контроля – в 1,3-5,8, в 1,8-4,6 и 1,9-3,3 раза соответственно.

При применении виапена оплодотворилось на 16,0% больше животных, флоропена – на 17,7%, примапена – на 18,3%, чем в группе с базовыми препаратами, а по сравнению с интактными животными – в 2-2,4 раза. При этом период от отёла до оплодотворения, по сравнению с базовыми препаратами, сократился на 18,5%, 21,9% и 16,8% соответственно, по сравнению с интактными животными – на 33,6%, 41,8% и 27,0% соответственно, а коэффициент оплодотворения снизился в среднем в 1,3 раза.

13. Внутриматочное введение свиноматкам через 4-6 часов после родов виапена, флоропена и примапена профилакирует послеродовые заболевания, в том числе послеродовым эндометритом в 80,6-84,8%, что эффективнее по сравнению с базовыми препаратами в 1,3-1,5 раза и отрицательным контролем в 2,0-2,5 раза, а также ММА в 94,9-97,3%, что больше в 1,6-3,3 раза и 4,6-9,2 раза соответственно.

14. Терапия коров и свиноматок с воспалительными заболеваниями репродуктивных органов с использованием антимикробных средств в форме пенного аэрозоля обеспечивает санацию половых органов от патогенных микроорганизмов, что способствует восстановлению гомеостаза организма животных, которое проявляется нормализацией клинических, гематологических и биохимических показателей.

15. Разработанные методики определения содержания норфлоксацина гидрохлорида, диоксилина, гентамицина сульфата, флорфеникола (флорфениколамина) и линкомицина гидрохлорида в биологических жидкостях и тканях животных, основанные на физико-химических (ВЭЖХ) и микробиологических методах, позволили установить ограничения по использованию животноводческой продукции. Период каренции после последнего введения виапена и примапена по молоку и мясу составляет 5 и 3 суток соответственно. Убой свиноматок разрешается через 2 суток после последнего введения флоропена.

4 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения и профилактики воспалительных заболеваний матки у коров и свиноматок в качестве средств этиотропной терапии использовать новые комплексные антимикробные препараты: виапен, флоропен и примапен в форме пенного аэрозоля, обладающие широким спектром антимикробного действия.

В соответствии с инструкцией по применению виапена (15-3-31.11-3288№ПВР-3-31.11/02817), флоропена (15-3-27.12-1068№ПВР-3-27.12/02866) и проектом инструкции примапена, лекарственные препараты вводят в полость матки с помощью катетера, нажимая на распылительную головку, по 60 г (1 доза) на животное один раз в сутки. Лечение коров осуществляют в течение 3-4 дней, а свиноматок - в течение 1-3 дней. Для профилактики воспалительных процессов в матке у коров и свиноматок после родов виапен, флоропен и примапен вводят в полость матки однократно в дозе 60 г на животное.

Сроки ожидания по остаточным количествам действующих веществ в организме коров и свиноматок для виапена и примапена по молоку и мясу – 5 и 3 суток соответственно, для флоропена по мясу – 2 суток.

2. Разработанные лекарственная форма и методы контроля качества препаратов вошли в нормативно-технические документы на виапен, флоропен и примапен. Контроль качества комплексных антимикробных препаратов в форме пенного аэрозоля осуществлять в соответствии с СТО (Виапен – СТО 10590965-0038-2011, Флоропен – СТО 10590965-0039-2012) и проект СТО (Примапен – СТО 10590965-0059-2017).

3. Научно-практические результаты рекомендуется использовать в учебном процессе студентов по специальности ветеринария, при проведении научно-исследовательских работ в НИИ и ВУЗах ветеринарного профиля, при написании монографий, учебников, учебных пособий.

5 ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработанные в диссертации теоретические и практические подходы к созданию комплексных антимикробных препаратов в форме пенных аэрозолей открывают перспективу дальнейшего исследования по расширению линейки пенных аэрозолей для их ротационного использования, а также для создания комбинированных препаратов с антимикробным, иммуномодулирующим и

противовоспалительным действием для применения в акушерско-гинекологической и хирургической практике. Перспективным следует считать разработку новых методик количественного анализа действующих веществ разрабатываемых препаратов.

Список сокращений

IgG	Иммуноглобулин G
LD/ЛД _{10, 16, 50, 84, 90, 100}	Летальная доза
γ-ГТ	Глутамиламинотрансфераза
АлАТ	Аланинаминотрансфераза
АсАТ	Аспартатаминотрансфераза
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ДМСО	Диметилсульфоксид
Ед.опт.пл.	Единицы оптической плотности
МБсК	Минимальная бактериостатическая концентрация
МБцК	Минимальная бактерицидная концентрация
МДУ	Максимально допустимый уровень
МПА	Мясо-пептонный агар
МПБ	Мясо-пептонный бульон
МПГ	Монопропиленгликоль
МПД	Максимально переносимая доза
СБЙ	Связанный с белком йод
ЩФ	Щелочная фосфатаза

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ:

1. Востроилова, Г.А. Фармако-токсикологическая характеристика пенного аэрозольного препарата динопен / Г.А. Востроилова, Л.В. Растриженкова, **Л.В. Ческидова** // Ветеринарный врач. - 2009. - № 5. - С. 13-14.
2. **Ческидова, Л.В.** Применение виапена для лечения метрит-мастит-агалактии и профилактики послеродовой патологии у свиноматок / **Л.В. Ческидова**, В.Н. Коцарев // Достижения науки и техники АПК. - 2012. - № 1. - С. 30-32.
3. Шабунин, С.В. Ветеринарные аспекты решения проблемы метрит-мастит-агалактии свиноматок / С.В. Шабунин, А.Г. Нежданов, В.Н. Коцарев, **Л.В. Ческидова** // Достижения науки и техники АПК. - 2013. - № 9. - С. 62-65.
4. **Ческидова, Л.В.** Изучение раздражающих и аллергенных свойств флоропена на лабораторных животных / Л.В. Ческидова, Г.Н. Близнецова, С.В. Бузлама, Т.И. Ермакова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. - 2013. - № 4 (39). - С. 236-238.
5. **Ческидова, Л.В.** Определение токсичности препарата примапен на лабораторных животных / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, С.В. Бузлама, Т.И. Ермакова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. - 2013. - № 4 (39). - С. 230-232.
6. Коцарев, В.Н. Комплексная терапия свиноматок при послеродовых эндометрите и метрит-мастит-агалактии / В.Н. Коцарев, А.Г. Нежданов, Г.А. Востроилова, **Л.В. Ческидова**, В.Ю. Боев, Н.И. Шумский // Ветеринария. - 2014. - № 4. - С. 37-40.
7. **Ческидова, Л.В.** Экспериментальное исследование подострой токсичности препарата LP на крысах / Л.В. Ческидова // Учёные записки Казанского государственного ветеринарного института им. Н.Э. Баумана. - 2014. - т. 218. - С. 290-293.
8. **Ческидова, Л.В.** Эмбриотоксические и тератогенные свойства препарата флоропен / Л.В. Ческидова // «Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». - 2014. - № 2 (12). - С. 74-76.
9. **Ческидова, Л.В.** Эффективность виапена при лечении больных острым послеродовым эндометритом коров / **Л.В. Ческидова**, Г.А. Востроилова // Ветеринарный врач. - 2014. - № 1. - С. 46-49.
10. Шабунин, С.В. Пенные аэрозоли для лечения коров и свиноматок при эндометритах / С.В. Шабунин, **Л.В. Ческидова**, Г.А. Востроилова // Ветеринария. - 2014. - № 12. - С. 30-33.
11. Шабунин, С.В. Эффективность препарата примапен в терапии послеродового эндометрита коров / Шабунин С.В., **Ческидова Л.В.**, Ерин Д.А. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 3. - С. 181-184.

12. Востроилова, Г.А. Определение остаточных количеств препарата Виапен / Востроилова Г.А., **Ческидова Л.В.**, Близнецова Г.Н. // Ветеринария. - 2016. - № 8. - С. 55-58.
13. **Ческидова, Л.В.** Изучение тератогенного действия и антенатального влияния Виапена на постнатальный период развития белых крыс / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, Г.Н. Близнецова, Ю.А. Канторович // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2016. - № 4. - С. 176-178.
14. **Ческидова, Л.В.** Оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств комплексного препарата «Виапен» / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, И.В. Брюхова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2016. - № 11. - С. 64-68.
15. **Ческидова, Л.В.** Оценка эмбрио- и фетотоксического действия примапена / Л.В. Ческидова // Ветеринария. - 2017. - № 10. - С. 35-38.

Патенты

16. Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита у коров: Патент РФ 2455992 С1 МПК А61К 31/47, 31/498 / Шабунин С.В., Шапошников И.Т., Востроилова Г.А., Рогачева Т.Е., Нежданов А.Г., Михалёв В.И., Ерин Д.А., **Ческидова Л.В.**; - Заявитель и патентообладатель ЗАО НПП «Агрофарм». - 2011129143/15. - Опубликовано 20.07.2012. - Бюл. №20. - 15 с.
17. Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита и синдрома метрит-мастит-агалактии у свиноматок: Патент РФ 2464979 С1 МПК А61К 31/165, 31/7036 / Шабунин С.В., Шапошников И.Т., Востроилова Г.А., Рогачева Т.Е., Близнецова Г.Н., **Ческидова Л.В.**, Брюхова И.В., Панина Т.А., Шабунина О.С.; - Заявитель и патентообладатель Шабунина О.С. - 2011143314/15. - Опубликовано 27.10.2012. - Бюл. №30. - 22 с.

Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций

18. **Ческидова, Л.В.** Исследование биохимических показателей крови у животных при лечении послеродовой патологии / Л.В. Ческидова, Г.Н. Близнецова, Г.А. Востроилова // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: Межрегиональный сборник научных работ. - Вып. 17. - ВГУ, 2015. - С. 205-208.
19. **Ческидова, Л.В.** Профилактическая эффективность препарата ФЛ при остром послеродовом эндометрите у коров / Л.В. Ческидова, И.В. Брюхова, И.Ю. Кашапова // «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации»: Материалы III съезда фармакологов и токсикологов России. - Санкт-Петербург, 2011. - С. 484-485.
20. **Ческидова, Л.В.** Эффективность нового пенного препарата для профилактики послеродовой патологии свиноматок / Л.В. Ческидова, С.В. Жукова // «От теории - к практике: вопросы современной

- ветеринарии, биотехнологии и медицины»: Материалы научно-практической конференции. – Саратов: ГНУ СНИВИ РАСН. – ИП Моисеева Е.В., 2011. – С. 353-355.
21. Близнецова, Г.Н. Определение оптимальной дозы виалена при лечении послеродового эндометрита у коров / Г.Н. Близнецова, Л.В. Ческидова, Д.А. Ерин // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы XI Сиб. вет. конф., Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2012 – 190 с. – С. 51-52.
22. Востроилова, Г.А. Изучение острой токсичности виалена на лабораторных животных / Г.А. Востроилова, Л.В. Ческидова, С.В. Жукова / Сб. науч. тр. ФГБОУ ВПО «УГАВМ»: Материалы фармакологической научной конференции, посвященной 90-летию академика Рабинович Моисея Исааковича. – Троицк, 2012. – С. 29-33.
23. Востроилова, Г.А. Подострая токсичность виалена / Г.А. Востроилова, Л.В. Ческидова, А.В. Топольницкая // Проблемы ветеринарной медицины и зооэкологии Российского и Азиатско-тихоокеанского регионов: Материалы первой международной научной научно-практической конференции. – Благовещенск, 2012. – С. 7-8.
24. Близнецова, Г.Н. Субхроническая токсичность препарата виален / Г.Н. Близнецова, Л.В. Ческидова // «Аграрная наука: Современные проблемы и перспективы развития»: Международная научно-практическая конференция, посвященная 80-летию со дня образования Дагестанского государственного аграрного университета имени М.М. Джамбулатова. – Махачкала, 2012. – С. 113-114.
25. Ческидова, Л.В. Изучение переносимости виалена в опытах на коровах / Л.В. Ческидова, Н.Т. Климов // «Аграрная наука: Современные проблемы и перспективы развития»: Международная научно-практическая конференция, посвященная 80-летию со дня образования Дагестанского государственного аграрного университета имени М.М. Джамбулатова. – Махачкала, 2012. – С. 609-610.
26. Ческидова, Л.В. Пенные аэрозоли в ветеринарном акушерстве / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию создания школы ветеринарных акушеров. 18-19 октября 2012 г., г. Воронеж. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2012. – С. 558-560
27. Ческидова, Л.В. Определение остаточных количеств препарата примипен / Л.В. Ческидова // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию создания школы ветеринарных акушеров. 18-19 октября 2012 г., г. Воронеж. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2012. – С. 556-558.
28. Ческидова, Л.В. Ранозаживляющее действие примипена / Л.В. Ческидова, А.В. Топольницкая // Современные проблемы ветеринарного

- акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию создания школы ветеринарных акушеров. 18-19 октября 2012 г., г. Воронеж. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2012. – С. 560-561.
29. Коцарев, В.Н. Комплексная фармакотерапия послеродовых болезней свиноматок / В.Н. Коцарев, А.Г. Нежданов, Г.А. Востроилова, И.Т. Шапошников, Л.В. Ческидова // «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации»: Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – М.: Изд-во «Истоки», 2013. – С. 340-343.
 30. Коцарев, В.Н. Морфологические и биохимические показатели крови при комплексной фармакотерапии свиноматок с метрит-мастит-агалактией / В.Н. Коцарев, В.И. Моргунова, Г.Г. Чусова, В.И. Шушлебин, Л.В. Ческидова // «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации»: Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – М.: Изд-во «Истоки», 2013. – С. 343-346.
 31. Ческидова, Л.В. Эффективность пенного аэрозоля для лечения послеродовых эндометритов свиноматок / Л.В. Ческидова, В.Н. Коцарев // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию профессора В.Р.Филиппова (27-29 июня 2013, Улан-Удэ). – Ч. II. – Улан-Удэ, Издательство БГСХА им. В.Р.Филиппова. – 2013. – С. 90-91.
 32. Ческидова, Л.В. Доклинические исследования препарата флоропен / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова // «Перспективные научные исследования – 2014»: Материалы X Международной научно-практической конференции. - т. 42. – София «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2014. – С.67-69.
 33. Ческидова, Л.В. Изучение острой токсичности препарата примапен / Л.В. Ческидова // Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов. - Екатеринбург, Уральское издательство. – 2014. – С. 149-151.
 34. Ческидова, Л.В. Оценка безвредности комплексного антимикробного препарата на организм свиноматок / Л.В. Ческидова // Инновационные пути импортозамещения продукции АПК: Материалы международной научно-практической конференции, 23-24 апреля 2015г. - пос. Персиановский: Донской ГАУ, 2015 г. - С. 139-142.
 35. Ческидова, Л.В. Острая токсичность нового комплексного антибактериального препарата / Л.В. Ческидова / «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии»: Материалы V международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов, Р. Беларусь. - Витебск, ВГАВМ, 2015 г. - С. 395-396.

36. **Ческидова, Л.В.** Стабильность, срок годности и условия хранения препарата виапен / Л.В. Ческидова, Г.Н. Близнцова // «Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии»: Материалы V международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов Р.Беларусь. - Витебск, ВГАВМ, 2015 г. - С. 393-394.
37. Мельникова, Н.В. Применение пенных терапевтических систем в ветеринарии / Н.В. Мельникова, Л.В. Ческидова // «Актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства»: Материалы научной и учебно-методической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства. - Воронеж, 2015. - Вып. 4. - С. 45-47.
38. **Ческидова, Л.В.** Оценка субхронической токсичности комплексного антимикробного препарата на организм свиноматок / Л.В. Ческидова // «Научное обеспечение агропромышленного комплекса молодым учеными»: сборник научных статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 85-летию Ставропольского государственного аграрного университета. - Ставрополь: АГРУС Ставропольского гос. аграрного университета, 2015. - С. 433-437.
39. **Ческидова, Л.В.** Проблема оценки качества пенных аэрозолей / Л.В. Ческидова, Н.В. Мельникова // Сборник научных статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 85-летию юбилею Ставропольского государственного аграрного университета: «Научное обеспечение агропромышленного комплекса молодым учеными». - Ставрополь: АГРУС Ставропольского гос. аграрного университета, 2015. - С. 437-439.
40. **Ческидова, Л.В.** Экспериментальные исследования раздражающего действия «Виапена» на морских свинках / Л.В. Ческидова // Стратегические задачи аграрного образования и науки: сборник материалов Международной научно-практической конференции (26-27 февраля 2015 г.). - Екатеринбург: УрГАУ, 2015. - С. 479-481.
41. **Ческидова, Л.В.** Эффективность применения виапена для профилактики послеродового эндометрита у коров / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова // «Актуальные вопросы ветеринарной науки»: Материалы Международной научно-практической конференции. - Ульяновск, ГСХА им. П.А. Столыпина, 2015. - С. 179-180.
42. **Ческидова, Л.В.** Определение оптимальной дозы виапена для лечения метрит-мастит-агалактии у свиноматок / Л.В. Ческидова, В.Н. Коцарев // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции: материалы I Международной научно-практической конференции. - ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I. 18-19 ноября 2015 г. - Воронеж, 2015. - С.116-118.

43. **Ческидова, Л.В.** Оценка раздражающего действия препарата примипен / Л.В. Ческидова // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки. Секция 1: Научные и инновационные подходы в ветеринарной медицине, биологии и экологии: материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. 16-17 декабря 2015 г. – Троицк: ЮУрГАУ, 2015. – С. 260-262.

Статьи, опубликованные в других изданиях

44. **Ческидова, Л.В.** Разработка комплексных антимикробных препаратов с диоксидином / Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, Т.А. Панина // Ветеринарный фармакологический вестник. - № 1. – 2017. – С. 23-28.

Подписано в печать 29.03.2018г. Формат 60х80¹/₁₆. Бумага кн.-журн.
Пл. 2,0. Гарнитура Таймс. Тираж 100 экз. Заказ №17541.
Типография ФГБОУ ВО ВГАУ 394087, Воронеж, ул. Мичурина, 1.

