

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ
ИНСТИТУТ ПАТОЛОГИИ, ФАРМАКОЛОГИИ И ТЕРАПИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Научный консультант:

доктор биологических наук Г.А. Востроилова

Воронеж 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

1	ВВЕДЕНИЕ	8
2	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
2.1	Гнойно-воспалительные заболевания половых органов у животных и значение антимикробных средств в их комплексной терапии и профилактике	16
2.2	Методологические аспекты разработки лекарственных средств для терапии животных с воспалительными заболеваниями половых органов	32
2.3	Пенные аэрозоли и их использование в терапии животных с воспалительными заболеваниями половых органов	50
2.3.1	Аэрозоль как лекарственная форма	50
2.3.2	Пенные аэрозоли	57
2.4	Заключение по обзору литературы	65
3	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	68
4	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	82
4.1	РАЗРАБОТКА СОСТАВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ ПЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ	82
4.1.1	Экспериментальное и теоретическое обоснование антибактериального состава препаратов	82
4.1.2	Разработка рецептуры и технологии пенных аэрозолей	83
4.1.3	Определение оптимального соотношения антимикробных веществ.....	85
4.1.3.1	Оптимальное соотношение действующих веществ в виапене.....	85
4.1.3.2	Оптимальное соотношение действующих веществ в флоропене.....	87
4.1.3.3	Оптимальное соотношение действующих веществ в примапене.....	91
4.1.4	Методы качественного и количественного анализа препаратов.....	93
4.1.5	Изучение стабильности препаратов при хранении.....	97

4.2	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА	108
4.2.1	Антимикробная активность виапена	108
4.2.2	Острая токсичность виапена.....	109
4.2.3	Безвредность (переносимость) виапена на сельскохозяйственных животных.....	114
4.2.4	Подострая токсичность виапена.....	119
4.2.5	Субхроническая токсичность виапена.....	126
4.2.6	Раздражающие свойства препарата виапена.....	129
4.2.6.1	Раздражающее действие виапена на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба).....	129
4.2.6.2	Раздражающее действие виапена на кожные покровы.....	130
4.2.7	Изучение алергизирующих свойств препарата виапена.....	131
4.2.7.1	Метод накожных аппликаций.....	131
4.2.7.2	Конъюнктивальная проба.....	132
4.2.7.3	Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НДТК).....	132
4.2.8	Эмбриотоксическое и тератогенное действие виапена.....	133
4.2.9	Определение остаточных количеств виапена в организме коров и свиноматок.....	135
4.3	КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА.....	139
4.3.1	Определение оптимальной дозы виапена и кратности введения при лечении острого послеродового эндометрита у коров.....	139
4.3.2	Определение оптимальной дозы виапена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок	141
4.3.3	Результаты научно-производственных испытаний применения препарата виапена в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом.....	143
4.3.4	Результаты научно-производственных испытаний применения препарата виапена при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом.....	145
4.3.5	Эффективность применения виапена для профилактики острого	

	послеродового эндометрита у коров.....	150
4.3.6	Эффективность применения виапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок.....	152
4.4	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА	154
4.4.1	Антимикробная активность флоропена.....	154
4.4.2	Острая токсичность флоропена.....	155
4.4.3	Безвредность (переносимость) флоропена на сельскохозяйственных животных.....	160
4.4.4	Подострая токсичность флоропена.....	165
4.4.5	Субхроническая токсичность флоропена.....	172
4.4.6	Раздражающие свойства препарата флоропен.....	175
4.4.6.1	Раздражающее действие флоропена на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба).....	175
4.4.6.2	Раздражающее действие флоропена на кожные покровы.....	176
4.4.7	Изучение алергизирующих свойств препарата флоропен.....	177
4.4.7.1	Метод кожных аппликаций.....	177
4.4.7.2	Конъюнктивальная проба.....	178
4.4.7.3	Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НДТК).....	178
4.4.8	Иммунотоксические свойства препарата флоропен.....	179
4.4.8.1	Реакция гиперчувствительности замедленного типа.....	179
4.4.8.2	Влияние флоропена на гуморальный иммунитет.....	180
4.4.9	Эмбриотоксическое и тератогенное действие флоропена.....	181
4.4.10	Определение остаточных количеств флоропена в организме свиноматок.....	183
4.5	КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА.....	186
4.5.1	Определение оптимальной схемы применения флоропена при лечении острого послеродового эндометрита у коров.....	186
4.5.2	Определение оптимальной дозы флоропена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок	187
4.5.3	Результаты научно-производственных испытаний применения	

	препарата флоропен в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом.....	189
4.5.4	Результаты научно-производственных испытаний применения препарата флоропен при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом.....	191
4.5.5	Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров.....	195
4.5.6	Эффективность применения флоропена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок.....	197
4.6	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА	199
4.6.1	Антимикробная активность примапена	199
4.6.2	Острая токсичность примапена.....	200
4.6.3	Безвредность (переносимость) примапена на сельскохозяйственных животных.....	205
4.6.4	Подострая токсичность примапена.....	207
4.6.5	Субхроническая токсичность примапена.....	214
4.6.6	Раздражающие свойства препарата примапена.....	217
4.6.6.1	Раздражающее действие примапена на слизистые оболочки (конъюнктивальная проба).....	217
4.6.6.2	Раздражающее действие примапена на кожные покровы.....	218
4.6.7	Изучение алергизирующих свойств препарата примапена.....	219
4.6.7.1	Метод накожных аппликаций.....	219
4.6.7.2	Конъюнктивальная проба.....	220
4.6.7.3	Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НДТК).....	220
4.6.8	Противовоспалительное и ранозаживляющее действие примапена.....	221
4.6.9	Эмбриотоксическое и тератогенное действие примапена.....	225
4.6.10	Определение остаточных количеств примапена в организме коров и свиноматок.....	228
4.7	КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА.....	231

4.7.1	Определение оптимальной схемы применения примапена при лечении острого послеродового эндометрита у коров.....	231
4.7.2	Определение оптимальной дозы примапена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок	232
4.7.3	Результаты научно-производственных испытаний применения препарата примапен в комплексной терапии коров, больных острым послеродовым эндометритом.....	233
4.7.4	Результаты научно-производственных испытаний применения препарата примапен при терапии свиноматок, больных метрит-мастит-агалактией и гнойно-катаральным эндометритом.....	236
4.7.5	Эффективность применения примапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров.....	240
4.7.6	Эффективность применения примапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок.....	242
5	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	243
6	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	261
7	ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	265
8	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	266
9	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	267
10	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	270
11	ПРИЛОЖЕНИЕ.....	313
	Патент РФ №2455992 «Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита у коров».....	314
	Патент РФ №2464979 «Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита и метрит-мастит-агалактии у свиноматок».....	316
	Виापен. СТО 10590965-0038-2011.....	318
	Инструкция по применению виапена.....	319
	Флоропен. СТО 10590965-0039-2012.....	323

Инструкция по применению флоропена.....	324
Примапен. Проект СТО 10590965-0059-2017	328
Проект инструкции по применению примапена	329

1 ВВЕДЕНИЕ

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; M. Pantaleo et al., 2014, C.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 плодовитости, 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. Korudzhijski 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 длительнее 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 фармадинамику 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 быстроту наступления фармакологического действия и высокую терапевтическую эффективность, экономя 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 не достаточно 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 примепен. Препараты поставляются сельскохозяйственным предприятиям Российской Федерации 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 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Гнойно-воспалительные заболевания половых органов у животных и значение антимикробных средств в их комплексной терапии и профилактике

К числу наиболее часто встречающихся акушерских патологий сельскохозяйственных животных относятся гнойно-воспалительные заболевания половых органов, регистрируемые в послеродовом периоде: метрит у коров - воспалительное заболевание различных слоёв матки и комплекс болезней свиноматок, обусловленных развитием воспалительного процесса или функциональным расстройством половых органов и молочной железы у свиней.

Переболевание животными эндометритом или метрит-мастит-агалактией (ММА) приводит к снижению лактации и бесплодию [В.П. Хлопицкий, 2010; О.С. Епанчинцева и др., 2013; С.В. Шабунин и др., 2014; И.С. Коба и др., 2016; F. Magata et al., 2014; J.J. Bromfield et al., 2015; N. Gundling et al., 2015; A.M. Ledgard et al., 2015; C.G. Walker et al., 2015], а также к высокой заболеваемости и смертности поросят и телят [В.Д. Мисайлов, 2003, 2005; А.Н. Гречухин, 2010; Е.А. Косинцева, 2015; N. Kemper et al., 2013; R. Graage et al., 2014].

Факторами, предрасполагающими к возникновению акушерско-гинекологических болезней, являются: неполноценное и некачественное кормление [В.Н. Коцарев и др., 2008; В.А. Сафонов и др., 2008; В.И. Михалёв и др., 2015; D.C. Mahan et al., 2000; M.L. Vicalho et al., 2014], неправильное содержание (отсутствие моциона, стрессовые воздействия, травмы, нарушение зоогигиенических норм и ветеринарно-санитарных правил и т.д.) [А.Г. Войтенко и др., 2011; H. Karg et al., 2002], эксплуатация животных (преждевременное использование молодых животных, укорочение или удлинение периода сухостоя и т.д.), а также генетическая предрасположенность [А.Г. Нежданов и др., 2015; R. Preissler et al., 2013; R. Kasimanickam et al. 2014; L.G. Mendonça et al., 2014; S.G. Moore et al., 2014; K.L. Parker Gaddis et al., 2014; К. Haugaard et al., 2015].

Причиной, вызывающей воспалительные процессы в органах размножения и в молочной железе, являются патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также их ассоциации [В.П. Хлопицкий и др., 2011; И.С. Коба и др., 2015; С.В. Николаев и др., 2017; А.В. Филатов и др., 2017; 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].

Бактерии попадают в половые органы животных экзогенно при нарушении ветеринарно-санитарных правил содержания или эксплуатации животных (например, осеменения) и эндогенно (лимфогенным или гематогенным путём при воспалительных процессах в других органах) [С.В. Шабунин и др., 2012; Е.А. Иванова и др., 2015; I. Biksi et al., 2002; D. Maes et al., 2008; В.А. Clemmons et al., 2017]. При этом у свиноматок патологические изменения в молочной железе сопровождаются изменениями в матке [Ю.Н. Бригадиров, 2017; N. Korudzhiiński et al., 1987; I. Dzhurova et al., 1983].

В основе развития любой патологии лежит нарушение метаболизма в организме животных, что ведёт к снижению энергетических процессов и резистентности. И.Г. Конопельцев с соавт. [2007]; К.В. Племяшов с соавт. [2010], G. Esposito с соавт. [2014], С.Ж. Garro с соавт. [2014], N. Gundling с соавт. [2015] указывают на взаимосвязь между негативным энергетическим балансом, метаболическими нарушениями (кетоз, ацидоз), снижением иммунитета и воспалительными процессами в матке. Так, показатель эффективности использования липидов в качестве метаболического топлива служит для оценки степени риска развития метаболических и инфекционных болезней. Высвобождение неэстерифицированных жирных кислот оказывает непосредственное влияние на печень и иммунитет, а также производство провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли α и интерлейкина-6), которые способствуют развитию системного воспаления [С.С. Абрамов и др., 2011; S.J. LeBlanc, 2014].

Ю.Н. Масьянов и др. [2011], M. Pantaleo et al. [2014], C.G. Walker et al. [2015] считают, что послеродовой эндометрит у молочных коров отличается многофакторным патогенезом и характеризуется изменённым взаимодействием между инфекционными агентами, эндокринной и иммунной системами организма животных.

Бактерии и вирусы вызывающие эндометрит, могут подавлять эндокринную активность гипоталамуса и гипофиза у крупного рогатого скота, вызывая гормональные нарушения [В.П. Хлопицкий и др., 2013; И.С. Коба и др., 2015; I.M. Sheldon et al., 2014; J.J. Bromfield et al., 2015; M. Heppelmann et al., 2015]. G. Ajevar с соавт. [2014] приводит доказательства влияния гормонов на специфические гены, ответственные за местный иммунитет.

Родовые и послеродовые осложнения также могут привести к развитию воспалительных процессов в матке. В первую неделю после родов эндометрит, как правило, развивается на фоне задержания последа или острой субинволюции матки [В.Д. Мисайлов, 1990; Р.Г. Кузьмич, 2005; В.И. Михалев, 2007; А.Г. Нежданов и др., 2009; Е.Н. Новикова и др., 2014; I. Prunner et al., 2014]. Одним из факторов, приводящих к гнойным воспалительным заболеваниям и ослаблению сократительной функции матки у коров, является повышенный уровень стабильных метаболитов оксида азота [Т.Г. Теплых и др., 2008; А.Г. Шахов и др., 2006].

Неблагоприятные факторы внешней среды вызывают изменения гомеостаза организма, что приводит к снижению местной и общей резистентности. Нарушение регуляции местных клеточных защитных механизмов матки приводит к развитию воспаления [Ю.Н. Масьянов и др., 2011; Ю.Н. Бригадиров и др., 2017; P. Brodzki et al., 2014; S.J. LeBlanc, 2014]. В результате в репродуктивных органах создаются благоприятные условия для развития условно-патогенной и патогенной микрофлоры [Е.Л. Гридяев, 1987; И.Г. Конопельцев и др., 2005; С.В. Николаев и др., 2016; N. Kemper et al., 2013].

И.С. Коба [2009] при микробиологическом исследовании маточного содержимого у здоровых коров выделял в основном (64,5%) монокультуры Staph.

aureus – 35,6%, E.coli – 34,9%, Str. pyogenes – 13,9%, K. pneumonia – 11,6%, P. mirabilis – 2,4%, Staph. epidermidis – 1,3%, Enterobacter aerogenes – 1,3%, а у животных, больных острым гнойно-катаральным эндометритом, микрофлора в 88% случаев была представлена в различных ассоциациях.

Микробный пейзаж у свиноматок с нормальным течением послеродового периода представлен преимущественно стрептококками (55-60%), стафилококками (30-50%), а при патологиях в репродуктивных органах и молочной железы – эшерихиями (62-85%), протеем (25-35%), золотистым стафилококком (10-15%), колиформными бактериями (12%) [Е.Л. Гридяев, 1987].

I. Prunner et al. [2014] изолировал из содержимого матки *Escherichia coli* и *Trueperella pyogenes* в 16,8% и 13,0% случаев соответственно, а также бактерии родов *Streptococcus* (31,3%), *Staphylococcus* (20,0%), *Corynebacterium* (16,5%) и *Bacillus* (10,5%).

К. Wagener с соавт. [2015] выделил из матки аэробную микрофлору (202 вида из 76 родов): преобладали бактерии рода стафилококков – 24,2%, также были выделены *T. pyogenes* и *E. coli*. Аналогичные результаты были получены О. Burfeind et al. [2014].

О.С. Епанчинцева [2012] изолировала из маточного содержимого больных коров *E. coli*, *Shigella ssp.*, *Citrobacter diversus*, *Proteus vulgaris*, которые показали высокую чувствительность к гентамицину, фуразолидону, умеренную – к нитоксу и тилозину.

Р. Brodzki с соавт. [2014] выделил от коров, больных эндометритом *T. pyogenes* (49,2%), *E. coli* (22,5%), *F. necrophorum* (11,7%), *Staphylococcus sp.* (6,7%), *B. melaninogenicus* (5,8%) и *Streptococcus sp.* (4,1%), а из матки здоровых коров - *T. pyogenes* (27,6%), *E. coli* (24,2%), *Staphylococcus sp.* (20,7%), *Streptococcus sp.* (20,7%), *B. melaninogenicus* (3,4%) and *F. necrophorum* (3,4%). При этом по отношению к *T. pyogenes* наиболее активны цефтиофур (89,6% случаев), цефоперазон (85,1%) и амоксициллин с клавулановой кислотой (79,1%). *E. coli* по данным М. Grobbel с соавт. [2007] и Р. Brodzki с соавт. [2014] чувствительна к амоксициллину с клавулановой кислотой, цефоперазону и

цефазолину, окситетрациклину и гентамицину, а стрептококки и стафилококки - к β -лактамам, энрофлоксацину и гентамицину [П.С. Лобова и др., 2009; S. Schwarz et al., 2007].

J.L. Zhao et al. [2014], H.X. Zhao [2014] установили, что *Staphylococcus aureus* (n=53), *Staphylococcus saprophyticus* (n=38) и *Staphylococcus chromogenes* (n=22) резистентны к пенициллину (79,5%), ампициллину (71,7%), эритромицину (56,7%) и тетрациклину (52,0%).

Следовательно, ранний послеродовой период характеризуется повышенной чувствительностью к инфекционным агентам и нарушением метаболического гомеостаза, ведущих к эндокринным и иммунологическим нарушениям. Гнойные заболевания матки развиваются у 40% молочных коров после отёла, когда эпителий эндометрия теряет защитную функцию после родов в отношении различных патогенов [F.J. Sant'Ana et al., 2009; M.R. Amos et al., 2014]. Ряд авторов отмечают уменьшение количества и состава нормальной микрофлоры слизистой репродуктивных органов [А.Н. Турченко и др., 2012; E. Styková et al., 2013; J.J. Bromfield et al., 2015].

Бактерии способны запускать воспаление в эндометрии и увеличивать продукцию клетками эндометрия CL-IV, фибронектина, ламинина и экспрессию белка, которые приводят к повреждению тканей эндометрия и бесплодию [M. Guo et al., 2014; A.M. Ledgard et al., 2015].

Ряд исследователей нарушение лактации у продуктивных животных связывают с эндотоксинами, которые вырабатывают микроорганизмы [P. Pohl et al., 1993; F. Magata et al., 2014; C. Piras, 2017]. Повреждающее действие микробов и их токсинов приводит к увеличению проницаемости стенок кровеносных сосудов, что ведёт к экссудации, секреции цитокинов и миграции полиморфноядерных лейкоцитов в воспалённую ткань [H. Johnson et al., 2015; M. Neppelmann et al., 2015]. Первыми мигрируют нейтрофилы, затем мононуклеарные фагоциты и лимфоциты, затем иммуноглобулины, компоненты комплемента и ферментные системы плазмы крови [M.L. Turner, 2012].

На ранней стадии патологического процесса в эндометрии отмечаются гемодинамические расстройства (резкое расширение и кровенаполнение мелких кровеносных сосудов, увеличение порозности их стенок с последующим массовым выходом в периваскулярную ткань нейтрофилов и эритроцитов), что обуславливает развитие отёка, разрыхление стромы органа и ведёт к сдавливанию маточных желёз [О.С. Епанчинцева и др., 2013; Т.И. Лапина и др., 2015].

Если организму не удаётся обратное развитие воспалительной реакции, то с развитием патологического процесса инфильтрация слизистой оболочки клеточными элементами резко усиливается, что сопровождается её разрушением и образованием эрозий. Количество маточных желёз в пораженных участках эндометрия резко уменьшается, их просвет сужен, железистый эпителий находится в различных стадиях дистрофии и десквамации. Совокупность сосудистых и морфологических изменений ведёт к функциональным и структурным изменениям в половых органах, сопровождающихся образованием и накоплением в полости матки и выделению из неё катарального или гнойно-катарального экссудата [Ю.В. Сергеев, 2004; С.М. Сулейманов, 2012].

При высокой вирулентности микробов и пониженной резистентности тканей матки микробы могут проникать в миометрий, вызывая развитие тяжело протекающих гнойного, фибринозного эндометритов или септических форм некротического и гангренозного метрита [В.В. Зигунов, 2003; В.П. Хлопицкий, 2010; I. Küçükaslan et al., 2014].

В связи с тем, что болезни органов размножения животных следует рассматривать как общее заболевание организма, лечение должно включать комплекс хозяйственно-зоотехнических, ветеринарных и санитарно-гигиенических мероприятий [С.В. Шабунин и др., 2009; В.П. Хлопицкий и др., 2012; В.И. Михалёв и др., 2015; М.А. Krogh et al., 2014].

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что воспалительные процессы в половых органах животных являются результатом дисбаланса между состоянием защитных систем организма и воздействием эндогенных и экзогенных патогенов, происходящего вследствие нарушения гомеостаза (метаболизма,

иммунитета и гормональной системы) [В.Е. Высокогорский и др., 2015; А.М. Dalin et al., 1997; V.S. Machado et al., 2014]. В связи с этим, высокоэффективная терапия основана на использовании комплексных схем лечения, обеспечивающих нормализацию обмена веществ в организме и трофики в поражённом органе, повышение нервно-мышечного тонуса миометрия, восстановление и усиление сократительной функции матки, освобождение её полости от экссудата, повышение защитных сил организма и подавление жизнедеятельности микрофлоры, восстановление структуры и функции матки. Для этого используют средства общестимулирующей и патогенетической терапии, маточные миотропные препараты и противомикробные лекарственные средства [И.С. Коба, 2003, 2009; В.Н. Коцарев и др., 2005; В.И. Михалёв и др., 2014; В.П. Хлопицкий, 2014, 2015; А.Г. Нежданов и др., 2016].

Из средств общестимулирующего действия для повышения биологического тонуса и иммунологической реактивности организма, нормализации обмена веществ используют тканевую или гемотерапию, витаминные и минеральные препараты, ихтиол, хлорид или глюконат кальция, глюкозу, «Фоспренил», «Гамавит» и т.д. [В.Г. Гавриш, 1996; А.Ф. Колчина и др., 2008; В.Н. Коцарев и др., 2008; А.А., 2009; Л.Н. Кротов, 2012; В.И. Михалёв и др., 2014; А.Г. Нежданов и др., 2016].

Из средств патогенетической терапии используют 0,5-1,0% растворы новокаина или тримекаина, которые вводят внутриаортально, внутриперитонеально, внутритазово или в виде различных блокад проводящих нервных волокон, связанных с очагом воспаления [Д.Д. Логвинов и др., 1971; В.В. Мосин и др., 1973; М.Ш. Шакуров и др., 2007].

В качестве симптоматической терапии используют миотропные и нейротропные препараты: окситоцин, питуитрин, карбахолин, прозерин и т.д., действие которых направлено на повышение тонуса миометрия, усиление сократительной деятельности матки, эвакуацию из её полости патологического содержимого. Миотропные и нейротропные препараты назначают на ночь, так как в период ночного покоя матка более активно реагирует на них, а

продолжительный ночной отдых животного в лежачем положении создаёт оптимальные условия для освобождения полости матки от патологического содержимого [В.Д. Мисайлов, 1990; J.A. Bartolome et al., 2014; E.M. Hehenberger et al., 2015].

Так как воспалительные процессы в матке снижают её чувствительность к миотропным препаратам, то их рекомендуется применять на фоне эстрогенов, которые обеспечивают активизацию энергетических и пластических процессов в матке и создают оптимальные условия для утеротонического действия окситоцина и других утеро[тоно]моторных соединений.

В качестве средств этиотропной терапии, направленной на подавление жизнедеятельности микрофлоры, используют химиотерапевтические средства, которые назначают парентерально или внутриматочно [А.Г. Нежданов и др., 2009; С.В. Шабунин и др., 2011; В.П. Хлопицкий и др., 2015; А.В. Филатов и др., 2017; А.С. Hirsch et al., 2003; E.J. Reppert, 2015].

Наиболее эффективным методом лечения больных животных является внутриматочное введение антибактериальных, антисептических, противовоспалительных, пробиотических и др. средств [М.Н. Скомарова, 2010; В.И. Михалёв и др., 2014; R. Armengol et al., 2015].

Внутриматочно препараты рекомендуется вводить утром, после освобождения матки от экссудата. Перед введением препаратов проводят санитарную обработку наружных половых органов и корня хвоста. При необходимости освобождают полость матки от воспалительного экссудата с помощью 1-2-минутного лёгкого массажа матки.

Препараты в жидкой лекарственной форме вводят внутриматочно в дозах 75-150 мл с интервалом 24-48 часов, а на пролонгированной основе - 4-5 дней с помощью стерильного шприца Жанэ, полистероловых осеменительных пипеток и резинового шланга или прибора для искусственного осеменения свиней (ПОС-5, ВИЖ), предварительно подогрев до 37-40°C.

Ю.Г. Попов с соавт. [2016] для лечения и профилактики гинекологических заболеваний коров рекомендует использовать Гинодиксин (ПВР-3-8.6/01985) –

антибактериальное лекарственное средство в форме раствора, содержащее в 1 мл 10 мг диоксидина, 30 мг оксиэтиламмония метилфеноксиацетата (обладает противовоспалительным и репаративным действием), а также диметилсульфоксид, пропиленгликоль и воду.

О.В. Распутина [2007] установила, что терапевтическая эффективность применения гинодиксина составляет 93,7-96,7%, при этом количество лечебных процедур сокращается на 42,3%, количество дней бесплодия - на 33%. Эффективен гинодиксин также при серозном мастите (94,7%-100%). Для лечения коров больных послеродовым гнойно-катаральным эндометритом препарат рекомендуется вводить внутриматочно по 100 мл с интервалом 48 часов. Кратность введения - 4-8 раз.

И.Т. Шапошников [2011], В.Н. Коцарев с соавт. [2013], рекомендуют использование ротационных препаратов, состав которых зависит от конкретных условий каждого комплекса или фермы. В частности, авторы рекомендуют применять диометр, тетраметр и энроцид коровам и свиноматкам, как для лечения, так и для профилактики послеродовых гнойно-воспалительных заболеваний половых органов.

Диометр (ПВР-3-0.3/01214) - антибактериальное лекарственное средство в форме раствора, содержащее в 1 мл 5 мг диоксидина, 10 мг канамицина моносульфата, а также диметилсульфоксид и воду.

Тетраметр [ПВР-3-0.3/01216] – комбинированный антибактериальный препарат в форме раствора, содержащий в 1 мл 10 мг диоксидина, 20 мг окситетрациклина гидрохлорида, а также диметилсульфоксид и полиэтиленоксид.

Энроцид [ПВР-3-0.3/01215] – антибактериальное лекарственное средство в форме раствора, в 1 мл которого содержится 4 мг энрофлоксацина, а также диметилсульфоксид, натрия гидроокись и вода дистиллированная.

Препараты назначают с лечебной целью каждые 48 часов до клинического выздоровления, но не более 5 раз: коровам в дозе 100 мл на животное, а свиноматкам в дозе 75 мл/100 кг массы тела; с профилактической целью –

однократно: коровам в дозе 100 мл на одно животное, свиноматкам в дозе 50 мл/100 кг массы тела.

Т.В. Долгова с соавт. [2008], Ш.А. Ибрагимова с соавт. [2008], А.А. Вагина [2016], К.И. Петров с соавт. [2016], В.П. Хлопицкий с соавт. [2016] рекомендуют использовать схему лечения, включающую Эндометрамаг К или Эндометрамаг Т.

Эндометрамаг-К® [ПВР-3-11.7/02091] – комплексный антимикробный препарат в форме раствора, который в 1 мл содержит 3 мг гентамицина сульфата, 90000 МЕ колистина сульфата, 15 мг пропранола гидрохлорида, а также пропиленгликоль, метилцеллюлозу, трилон Б и воду для инъекций.

Эндометрамаг-Т® [ПВР-3-3.7/01984] – комбинированное лекарственное средство в форме раствора, содержащее в 1 мл в качестве антимикробного компонента 10 мг тилозина тартрата, для усиления сократительной функции матки - 17 мг пропранола гидрохлорида, а также пропиленгликоль, метилцеллюлозу, трилон и воду для инъекций.

Назначают в дозе 50-150 мл с интервалом 24-48 часов 3-5 введений. Для профилактики вводят однократно.

Некоторые авторы считают, что наибольшей эффективностью при лечении и профилактике эндометрита у коров обладает Эндометрамаг-Био, который в качестве активнодействующих веществ содержит бензетония хлорид и пропранолол гидрохлорид, а в качестве вспомогательных - пропиленгликоль; метилцеллюлозу; трилон Б и воду для инъекций [Е.П. Агринская и др., 2011; А.В. Гавриков и др., 2012; Н.А. Малыгина и др., 2017]. Сравнительное изучение эффективности препаратов Эндометрамаг-Био с Диометром и Энроцидом показало снижение дней бесплодия (на 4,2 дня) и индекса осеменения на 9,58-38,9%. При этом после применения препаратов было выявлено 14,0%, 20,0% и 30,0% соответственно больных коров.

Некоторые исследователи считают, что внутриматочное введение биогенных стимуляторов (АСД-2 и АСД-3) более экономически выгодно, чем применение антимикробных средств. В своих исследованиях Р.Г. Кузьмич [2015] показал, что АСД способствует обострению вялотекущих эндометритов. А.А.

Жерносенко с соавт. [2016] при использовании эмульсии АСД-3 с окситетрациклином доказали, что по сравнению с комплексным антибактериальным средством такой подход сокращает продолжительность лечения и сервис-период, быстрее восстанавливает воспроизводительную функцию коров.

АСД фракция 3 [ПВР-3-1.2/00911] – относится к тканевым препаратам, оказывает антисептическое, противовоспалительное действие, нормализует трофику и ускоряет регенерацию тканей. В полость матки вводят 200-300 мл 20-50% масляного раствора АСД-3 в соотношении 1:1-1:5. Масляные растворы препарата готовят в асептических условиях с использованием касторового, льняного, подсолнечного, минерального масел, тетравита и тривита [А.А. Гарбузов, 2005; И.Г. Конопельцев и др., 2001; А.А. Жерносенко и др., 2016].

В.И. Михалёв с соавт. [2008], В.И. Слободяник [2013] в комплексной схеме лечения рекомендуют применять АСД 2 [ПВР-3-1.2/00910] - является водорастворимой фракцией сухой перегонки тканей животного происхождения. Нормализует трофические процессы и ускоряет регенерацию повреждённых тканей, обладает выраженным антисептическим и противовоспалительным действием. В полость матки вводят 200-300 мл 15% водного раствора АСД-2Ф, подогретого до 40°C и сразу же его удаляют, используя катетер с обратным током жидкости. Обработку проводят один раз в сутки в течение 4-5 дней.

Ф.Н. Насибов с соавт. [2012] рекомендуют средство в форме суспензии - Эндотил-форте [ПВР-3-1.0/02517] – комбинированный препарат, содержащий в 100 мл 1,0 тилозина тартрат, 1,8 г пропранолола гидрохлорид, 0,95 мг β-каротин, а также пропиленгликоль, растительное масло и воду дистиллированную. При клинически выраженном эндометрите применяют в дозе 20 мл/100 кг живой массы 3-5 дней. При лечении коров со скрытым (субклиническим) эндометритом - однократно в дозе 10-15 мл/100 кг живой массы через 8-10 часов после осеменения. Для профилактики послеродовых акушерских болезней, препарат применяют однократно в дозе 10-15 мл/100 кг живой массы после отделения последа, абортов, осложнённых и патологических родов.

Е.Н. Новикова и др. [2013] для профилактики послеродовых эндометритов у коров рекомендует Гипролам [ПВР-1-35.13/02987] – пробиотический препарат в форме суспензии, содержащий жизнеспособные штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus fermentum* 44/1 (ВКПМ В-2940) и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 57₄ (ВКПМ В-3145), а также сыворотку молочную (3%), глюкозу (2%), экстракт дрожжевой (1,5%) и воду. Препарат применяют внутриматочно в дозе 100 см³ дважды: первое введение - не позднее 12 часов после отёла (предпочтительно в первый час после отёла), второе - через 24 часа после первого введения. При этом использование препарата не приводит к выбраковке молока.

Ряд авторов [С.А. Векслер, 1988; В.С. Авдеенко, 1989] при лечении эндометритов у коров используют Трициллин [ПВР-3-1.9/00174 «Росветфарм» и ПВР-3-1.9/00174 «НПК "Асконт+»] - комбинированный антибактериальный препарат, выпускаемый в форме порошка, содержащий в 1 г 70000 ЕД бензилпенициллина, 80000 ЕД стрептомицина сульфата и 0,83 г стрептоцида. Перед применением препарат разводят в 50-100 мл стерильного растительного масла комнатной температуры. Для лечения послеродового эндометрита по инструкции через 12-24 часа после отёла Трициллин вводят в полость матки в дозе 2,5-3 г, обработку проводят каждые 48 часов. Для профилактики - однократно в дозе 1,5-3 г.

Е.Н. Новикова [2014], М.Х. Баймишев и др. [2016] для лечения и профилактики эндометрита бактериальной и микозной этиологии рекомендуют внутриматочное введение Метролека [ПВР-3-10.14/03071] – антибактериальное лекарственное средство в форме эмульсии, содержащее в 1 мл тилозина тартрат 5 мг, а также масло подсолнечное, эмульгатор Т-2, β-каротин и воду для инъекций. Назначают препарат один раз в сутки в дозе 40-60 мл в течение 1-3 дней.

Г.И. Швец [2011] также считает, что комплексный препарат в форме эмульсии - Тилозинокар [ПВР-3-6.8/02235] эффективен для лечения острых послеродовых гнойно-катаральных эндометритов у коров. Препарат в 1 мл содержит 15 мг тилозина основания, 0,02 мл настойки чемерицы с содержанием алкалоидов не менее 1%, 0,05 мл 0,2% масляного раствора β-каротина, а также

полиэтиленгликоль и дистиллированную воду. Назначают в дозе 20 мл на 100 кг массы тела с интервалом 48 часов до выздоровления в течение 2-3 суток.

В.А. Володин и др. [2002] для профилактики и лечения патологий репродуктивных органов у коров разработали эмульсию, содержащую противомикробные средства – цефамизин и метронидазол, миотоническое средство – прозерин, противовоспалительное – преднизолон, а также вспомогательные вещества - масло оливковое, эмульгатор Т-2 и воду.

Ю.Г. Попов с соавт. [2016] рекомендует использовать внутриматочно Хинасепт-гель [ПВР-3-4.5/01563] – антимикробный препарат, который в 100 мл содержит 0,2 г хинозола (8-оксихинолин), а также пероксид водорода, метилцеллюлозу марки 100 и воду для инъекций. Назначают препарат с лечебной целью в дозе 100 мл на животное 1 раз в день в течение 3-5 дней, а с профилактической - 50 мл на животное 1 раз в день в течение двух первых суток после тяжёлых родов или удаления последа.

И.И. Тетерев и др. [2003], А.В. Филатов и др. [2014] при лечении коров и свиноматок с послеродовыми заболеваниями показали эффективность Биогеля 10 [ПВР-3-9.8/02311] - препарат относится к иммуномодулирующим и антибактериальным средствам, содержащим прополис и основу. Назначают в дозе 30-40 мл на животное 1 раз в сутки 3-4 дня. Препарат противопоказан при лечении гнойных воспалений, наличии в рогах матки большого скопления экссудата, субинволюции матки, закрытом канале шейки матки.

Антимикробные препараты для внутриматочного введения выпускают также в виде свечей, палочек и таблеток, которые вводят по 3-5 штук через канал шейки в полость матки рукой, одетой в полиэтиленовую перчатку одноразового пользования, или с помощью корцанга и проталкивают в полость матки. В случае повышенной сухости количество внутриматочной жидкости (для пенообразования) можно увеличить путём введения в матку 150-200 мл стерильного физиологического раствора.

Особое внимание разработчики лекарственных средств уделяют антисептическим веществам, которые вводят в форму суппозиториев. Так, А.Г.

Ключников и др. [2008], Л.Н. Кротов [2011], S. Mido et al. [2015] считают, что при терапии ММА у свиноматок и эндометритов у коров высокой клинической эффективностью обладает йодповидон. Йодопен [ПВР-3-5.0/00529] содержит 1,5 г йодповидона (1,57% активного йода), а также полиэтиленгликоль 1500, натрия гидрокарбонат, фумаровую кислоту, кальция стеарат, лактозу. Препарат расфасовывают по 2 суппозитория в пакеты с герметичным замком из полиэтиленовой пленки, уложенные в картонную коробку. Назначают по 1 суппозиторию: с лечебной целью двукратно с интервалом 24-48 часов, в особых случаях введение продолжают до выздоровления; с профилактической целью - однократно сразу после отделения последа, аборта или родовспоможения.

В.Д. Соколов с соавт. [2010] рекомендует пенообразующие маточные свечи с диоксидином.

Широкое применение в ветеринарной практике в качестве средств неспецифической антимикробной терапии нашли Палочки внутриматочные с ихтиолом [ПВР-3-1.9/00159] – антисептическое и дезинфицирующее средство массой 10 г, содержащее 1,0 г ихтиола [аммониевую соль сульфокислот сланцевого масла], а также полиэтиленоксид 1500 и 400. В лечебных целях вводят 3-5 палочек, а в профилактических - 2-4. При необходимости введение препарата повторяют в тех же дозах через каждые 48 часов до выздоровления.

А.М. Савёлов [2009], О.Г. Петрова с соавт. [2008] рекомендуют Палочки лекарственные с виватоном [ПВР-3-0.2/01062] – противовоспалительное средство растительного происхождения. В 1 суппозитории (7,5 г) содержится 4,35 г виватона, а также желатин, глицерин, лимонная кислота, поливинилпирролидон, агар-агар и вода дистиллированная. Виватон представляет собой комплекс лекарственных растений (компонентов экстрактов и настоев. Назначают для лечения по 1 палочке ежедневно в течение 7 дней. Для профилактики – по 1 палочке двукратно с интервалом 24-48 часов. При закрытой шейке матки палочку предварительно растворяют в 150-200 мл тёплой кипячёной воды (температурой 30-40°C) и вводят через катетер.

При патологических родах для профилактики воспалительных заболеваний половых органов А.Г. Ключников с соавт. [2008], В.Г. Гавриш с соавт. [2009], Н. Хасанов с соавт. [2009], Л.Н. Кротов с соавт. [2012] считают наиболее эффективным внутриматочное применение лекарственных форм, образующих пену (например, суппозитории «Йодопен» или таблетки «Геомицин»).

Геомицин® Ф [ПВИ-3-3.0/03137] – антибактериальное лекарственное средство. В 1 таблетке [19 г] содержится 1,0 г окситетрациклина гидрохлорида, а в качестве вспомогательных веществ виннокаменная кислота, углекислый натрий, желатин, стеарат магния, тальк, полиоксиэтиленцетил эфир, кокосовое масло и кукурузный крахмал. С лечебной целью вводят каждые 24 часа 3-5 раз по 1-2 таблетке. С профилактической целью применяют 1-2 раза с интервалом 24 часа по 1 таблетке на животное.

Н.Ю. Ляшенко с соавт. [2016] для лечения эндометритов у коров предлагает использовать Биометросанит [ПВР-3-5.11/02716] – таблетированное комбинированное антимикробное лекарственное средство, в состав которого входят фуразолидон - 1,2 г, нистатин - 720 000 ЕД и метронидазол - 0,6 г, а также пенообразующая основа: лимонная кислота, натрий двууглекислый, кальций стеарат, крахмал и моноглицериды дистиллированные насыщенные марки М-2 (до 20 г). С лечебной целью вводят каждые 24 часа трехкратно и более по 1-2 таблетке. С профилактической целью применяют двукратно с интервалом 48 часов по 1 таблетке на животное.

М. Сафарова с соавт. [2012] и В.Н. Зубарев с соавт. [2013] рекомендуют применять для лечения и профилактики послеродовых эндометритов у коров Сепранол [ПВР-3-22.12/02852] – комбинированное средство, содержащее в 1 таблетке (10 г) 60 мг хлоргексидина гидрохлорида и 343 мг пропранолола гидрохлорида, а также стеарат кальция, карбонат натрия, лимонную кислоту, полиэтиленгликоль, маннит, поливинилпирролидон, краситель (метиловый оранжевый), лактозу. Для терапии острых послеродовых эндометритов назначают 2 таблетки двукратно с интервалом 24 часа; для профилактики - 2 таблетки через 2-4 часа после отделения последа однократно.

Д.С. Ятусевич с соавт. [2007] для лечения коров, больных эндометритом считают эффективным использование Энрофлона [ПВР-3-1.5/01741] – антибактериальное средство, содержащее в 1 таблетке 360 мг энрофлоксацина, кислоту лимонную, натрия гидрокарбонат, кальция стеарат, эмульгатор, аэросил, тальк. С лечебной целью вводят 1-2 таблетки с интервалом 24 часа 2-3 раза. С профилактической целью - однократно по 1 таблетке сразу после отделения последа, аборта или оказания помощи при осложнённых и патологических родах.

При выборе схемы и средств лечения послеродовых воспалительных заболеваний матки у животных необходимо учитывать тяжесть течения патологического процесса. В тяжелых случаях, при септическом состоянии животным вводят антибактериальные препараты в различных комбинациях парентерально в повышенных дозах и назначают дезинтоксикационную и общеукрепляющую терапию [А.Г. Нежданов и др., 2005; Н.И. Полянцев и др., 2006; E.M. Nehenberger et al., 2015].

При антибиотикотерапии необходимо уделять внимание проблеме бактериальной резистентности, руководствоваться принципами рационального использования антибиотиков. Учитывая широкое распространение лекарственноустойчивых штаммов и значительную изменчивость микрофлоры, выбор средств антимикробной терапии осуществляется на основании определения чувствительности к ним микроорганизмов, которую проводят каждые 2-3 месяца [С.М. Навашин и др., 1982; В.Д. Мисайлов, 2005; В.П. Хлопицкий, 2014; P. Haimer et al., 2014; H.X. Zhao et al., 2014].

Кроме химиотерапии в настоящее время при лечении животных с воспалительными заболеваниями половых органов применяют: озонотерапию [И.Г. Конопельцев, 2004; D. Djuricic et al., 2015], а также физиотерапевтические методы и акупунктуру [В.П. Иноземцев, 1999; А.Г. Нежданов и др., 2000; Н.В. Плетенёв и др., 2007; И.М. Донник, 2009; М.Е. Копчекчи и др., 2009; Л.Г. Войтенко, 2011; О.С. Епанчинцева и др., 2013; Т.Е. Григорьева и др., 2016; Т.В. Зубова, 2016].

Необходимо помнить, что при несвоевременном выявлении и недостаточно эффективном лечении животных, заболевания половых органов могут принимать хронический или латентный характер с возникновением необратимых патологических изменений, что приводит к развитию длительного или постоянного бесплодия со снижением/прекращением лактации у животных с последующей преждевременной выбраковкой [В.П. Хлопицкий, 2016; P. Dini et al., 2015].

При скрыто протекающем (субклиническом) эндометрите используют средства общестимулирующей терапии, направленной на повышение неспецифической реактивности организма и трофики поражённого органа. Антимикробные препараты применяют как дополнительный метод санации половых органов [В.П. Хлопицкий, 2010; А.В. Филатов, 2017].

С целью проведения специфической профилактики послеродовых патологий практикуют однократное введение антибактериальных средств в матку после отёла, предварительно проверив чувствительность микрофлоры к химиотерапевтическому препарату [В.Д. Мисайлов и др., 2005; А.Г. Нежданов и др., 2005; С.В. Дьяченко и др., 2007; В.И. Бородыня и др., 2014].

Выявление патологии в половых органах и молочной железе на ранней стадии и проведение интенсивной терапии, не допуская перехода заболеваний в хроническое течение, способствует снижению риска развития длительного или постоянного бесплодия с потерей продуктивности и выбраковке животных.

2.2 Методологические аспекты разработки лекарственных средств для терапии животных с воспалительными заболеваниями половых органов

Для того чтобы лекарственное средство показало высокий терапевтический эффект, необходимо активное вещество доставить в патологический очаг, где осуществляется его фармакологическое действие. При воспалительных процессах в половых органах у сельскохозяйственных животных введение этиотропных препаратов осуществляется внутриматочно, что позволяет избежать инактивации действующего вещества, связанной с метаболизмом при других путях введения.

Методологический подход к разработке нового лекарственного средства основан на выполнении целого комплекса теоретических, технологических, физико-химических, биофармацевтических, фармакологических и клинических исследований, что требует привлечения специалистов из разных областей [Е.П. Безуглая и др., 2008; Н.А. Ляпунов и др., 2009].

Поиск нового лекарственного средства на первом этапе начинается с химической разработки. Разработка новых препаратов основана на установлении связей между фармакологическим действием и структурой лекарственных средств с учётом физико-химических свойств [Э. Стьюпер и др., 1987; В.Д. Орлов и др., 2005]. Основные направления создания: скрининг биологически активных веществ; модификация существующих лекарственных средств; воспроизведение биогенных физиологически активных соединений; принцип молекулярного моделирования; создание препаратов на основе естественных метаболитов и использование антиметаболитов; использование комбинаторной химии и генной фармакологии [В.Г. Беликов, 2007].

Известно, что химическое строение обуславливает действие вещества на организм. Так, ненасыщенные соединения более фармакологически активны, чем насыщенные; количество галогенов усиливает как активность, так и токсичность алифатических и ароматических соединений; влияние кислорода зависит от группы, в которую он входит; карбоксильная группа снижает активность и токсичность, но при этом улучшает растворимость и т.д. [В.Г. Беликов, 2007; С.С. Камаева и др., 2007]. В то же время на биологическую активность лекарственного вещества влияет биологическая среда, показатели которой должны соответствовать аналогичным показателям активного соединения, то есть обладать определёнными характеристиками: растворимостью, устойчивостью, липофильностью, способностью к комплексообразованию, ионизации, диффузии, адсорбции и т.п. [Н.Н. Глущенко и др., 2004; М.Л. Ткаченко и др., 2006; А.А. Антипова и др., 2010].

На втором этапе фармацевтической разработки обосновывается состав препарата и технологическая схема производства согласно ГОСТ Р 52249-2009.

На третьем этапе создания препарата проводятся доклинические и клинические исследования, в ходе которых оцениваются токсикологические, фармакологические, клинические и фармакокинетические свойства [Т.А. Гуськова, 2003; Р.У. Хабриев и др., 2005; О.И. Терешкина и др., 2007; А.Н. Миронов и др., 2012]. Особое внимание уделяют влиянию на сердечно-сосудистую, нервную, дыхательную, мочевыводящую, пищеварительную, кровеносную системы и печень. При этом условия, методология и оформление проведения экспериментов должны удовлетворять требованиям GLP и GCP [Н.А. Ляпунов и др., 2013; Н.Я. Головенко, 2004; В.Д. Орлов и др., 2005].

Фармакокинетические исследования, которые требуют применения высокочувствительных методов, могут быть проведены только после разработки методик анализа лекарственного средства в биологических жидкостях и тканях организма животных. Эти методики являются базовыми при создании нормативной документации для оценки качества препарата в условиях производства на фармацевтическом предприятии [Н.В. Логинова и др., 2003; А.П. Арзамасцев, 2006; В.Г. Беликов, 2007].

На четвертом этапе с учётом предыдущих стадий составляется нормативная документация, необходимая для регистрации лекарственного средства [Г. Годовальников, 2008].

Таким образом, процесс разработки лекарственного препарата требует привлечение специалистов из разных областей: химиков, фармацевтов, фармакологов, врачей клинических специальностей и т.д. Разработка технологии лекарственного препарата сопровождается составлением и утверждением пакета нормативных документов, регламентирующих состав, технологический процесс, условия хранения и транспортировки в соответствии с требованиями профессиональных стандартов для каждого этапа сферы обращения лекарственных средств системы GxP [В.М. Воробьева и др., 2004; А.У. Тулегенова, 2010].

Высокая активность лекарственного вещества достигается при назначении его в рациональной лекарственной форме и целесообразном пути введения [С.В.

Дьяченко и др., 2007]. Лекарственная форма должна обеспечивать необходимое терапевтическое действие, равномерно распределять действующие вещества в препарате, что обеспечивает точность дозирования, стабильность в процессе хранения, удобство применения и стерильность [О.Н. Зефирова и др., 2000; П.Г. Мизина, 2000]. При создании препаратов в оптимальной лекарственной форме появляется возможность снижения дозировки лекарственных веществ с сохранением необходимого терапевтического эффекта. При этом, правильно выбрав основу, можно избежать или снизить проявление побочного действия [К.В. Алексеев, 1993; И.А. Воронина и др., 2012].

После поступления препарата в организм одновременно начинаются два процесса: изменение его концентрации во времени и взаимодействие с органами-мишенями. При высвобождении лекарственного вещества из лекарственной формы немаловажную роль играют его физико-химические свойства (например, степень дисперсности, растворимость, липофильность и др.), природа вспомогательных веществ и их количество, а также эндогенные факторы организма [В.Д. Орлов и др., 2005; С.С. Камаева и др., 2007].

Разработка состава лекарственного препарата предполагает выбор стабилизаторов, консервантов и корригентов и т.п., вида и материалов упаковки, определение сроков годности и обоснование оптимальных сроков и режимов хранения и транспортировки. При этом соблюдаются определённые требования. Лекарственные и вспомогательные вещества должны быть разрешены для использования в производстве лекарств, определены и стандартизированы их свойства в соответствии с фармакопейными требованиями, дана оценка совместимости [В.Г. Беликов, 2007; О.И. Терешкина и др., 2007; Е.В. Кузьминова и др., 2015].

В настоящее время доказано, что технология изготовления лекарственного препарата во многом определяет стабильность лекарственного вещества, скорость его высвобождения из лекарственной формы, интенсивность всасывания и терапевтическую эффективность. Поэтому при разработке нового лекарственного препарата необходимо обосновать порядок и способ введения основных и

вспомогательных веществ в соответствии с характеристиками той или иной лекарственной формы [А.И. Тихонов и др., 2003].

Качество упаковки и срок хранения лекарственного препарата также оказывают существенное влияние на терапевтическую эффективность. Поэтому обязательные требования предъявляются также к упаковочному материалу: безопасность, совместимость материала упаковки и лекарства (отсутствие возможного взаимодействия), способность упаковки защищать препарат от факторов внешней среды и обеспечивать его сохранность на протяжении срока годности.

Показатели качества лекарственных средств регламентирует Государственная Фармакопея Российской Федерации и ведущие фармакопеи мира. Общий методологический подход к фармацевтической разработке стандартизован в Руководстве ICH Q8. В разделе «Управление качеством» Руководства по GMP ЕС [CPMP/ICH/367/96] отмечена важность определения ключевых моментов, которые являются критическими для качества препарата, для обоснования стратегии контроля процесса производства. Оценку качества лекарственных препаратов в различных лекарственных формах проводят, как правило, по показателям качества, характеризующим конкретную лекарственную форму, а также по показателям качества действующего вещества и, при необходимости, вспомогательного вещества лекарственного препарата: «Подлинность», «Количественное определение», «Описание», «Микробиологическая чистота» [В.П. Георгиевский и др., 1996; Н.В. Логинова, 2003; Н.Я. Ляпунов и др., 2014].

Лекарственные препараты согласно дисперсологической классификации характеризуются как всесторонние бинарные дисперсные системы, состоящие из дисперсной фазы и дисперсионной среды. Лекарственное вещество в виде дисперсной фазы может быть в лекарственной форме в твёрдом, жидком или газообразном состоянии, а дисперсионная среда может быть вспомогательным компонентом системы. По степени дисперсности лекарственные дисперсные системы классифицируют на гомогенные и гетерогенные. Гомогенные

однофазные ионно- или молекулярно-дисперсные системы - это истинные растворы с размером частиц дисперсной фазы для низкомолекулярных соединений до 1 нм, для высокомолекулярных от 1 до 100 нм (0,001-0,1 мкм). В особую группу выделяются коллоидные системы и растворы высокомолекулярных соединений (ВМС) с размером частиц до 100 нм, которые сохраняют гомогенность только в определенных условиях. Гетерогенные - двухфазные грубодисперсные системы с размером частиц от 100 до 1000 нм (0,1-1 мкм) и более.

С точки зрения биофармации и фармакокинетики лекарственный препарат будет обладать необходимой биологической доступностью только в том случае, если лекарственное вещество будет представлено в наиболее выгодном состоянии для резорбтивного процесса (в ионно- или молекулярно-дисперсном виде). Поэтому наиболее приемлемыми являются гомогенные дисперсные системы (растворы, аэрозоли и др.). Если лекарственное вещество находится в грубодисперсном состоянии, то необходимо создать условия в лекарственной форме или в организме для перевода из грубодисперсного состояния в ионно- или молекулярно-дисперсное. Для этой цели и применяют различные технологические приёмы, вспомогательные вещества, особые лекарственные формы с заданными фармакокинетическими свойствами, а также используют физиологические особенности организма [Ф. Бюлер, 2001; В.Д. Орлов и др., 2005].

Прежде всего, лекарственное вещество должно высвободиться из лекарственной формы таблетки, капсулы, суппозитория и т. д. Таблетки сначала разрушаются, только после этого лекарственное вещество переходит в раствор. При введении в виде суспензии лекарственное вещество растворяется под воздействием жидкостей организма. Основа суппозитория тает, и тогда лекарство становится способным к растворению и всасыванию. Скорость всасывания может уменьшаться, а продолжительность действия увеличиваться, если препарат вводится в виде нерастворимых комплексов, которые потом распадаются в области введения, образуя форму, растворимую в воде.

Для внутриматочного введения используют различные препараты в жидкой, мягкой и твёрдой лекарственной форме, которые содержат одно и более активнордействующих веществ в подходящей основе, упакованные в соответствующую тару. В частности, в Российской Федерации зарегистрированы препараты в форме растворов, эмульсий, суспензий, гелей, суппозиториев, палочек, порошков и таблеток [<http://galen.vetrif.ru>; <http://www.rlsnet.ru>].

Наибольшее число ветеринарных препаратов для внутриматочного введения на отечественном рынке представлено в жидкой лекарственной форме. Жидкости классифицируют на полярные, полуполярные и неполярные. В зависимости от химической природы лекарственного вещества и растворителя, энергии взаимодействия в жидких лекарственных формах образуются ионные, молекулярно-дисперсные системы или грубодисперсные взвеси. В процессе приготовления могут наблюдаться экзо- или эндотермические явления, контракция. Все это необходимо учитывать при приготовлении жидких лекарственных форм, научно обосновывая технологические приёмы и состав лекарственного препарата.

Жидкие лекарственные формы могут усилить фармакологическую активность ряда веществ, снизить раздражающее действие, регулировать скорость высвобождения и биологическую доступность, пролонгировать эффект, обеспечивать направленный транспорт (липосомы).

Перед введением препаратов проводят санитарную обработку наружных половых органов и корня хвоста. При необходимости освобождают полость матки от воспалительного экссудата.

Растворы - жидкая лекарственная форма, получаемая растворением жидких, твердых или газообразных веществ в соответствующем растворителе или смеси взаимосмешивающихся растворителей с образованием гомогенных дисперсных систем.

Растворители для растворов выбирают, исходя из свойств и природы действующего вещества, для обеспечения отсутствия возможного химического и физико-химического взаимодействия между растворителем и действующим

веществом. В качестве основного растворителя для приготовления водных растворов используют воду очищенную. В неводных растворах основными растворителями являются спирт этиловый различных концентраций, масла жирные, масло вазелиновое, глицерин и др.

В.И. Богданова с соавт. [1967] доказали повышение активности антибиотиков при растворении их в полиэтиленоксиде.

Для стабилизации свойств растворов, поддержания рН и микробиологической чистоты требуется добавление специальных компонентов. При производстве растворов в их состав могут быть добавлены антимикробные консерванты, антиоксиданты, стабилизаторы, солюбилизаторы, соразтворители и корригенты [Н.А. Ляпунов, 2014].

Положительной стороной является то, что растворы дешёвы и просты в получении. Они биодоступны и удобны в применении. Помимо растворимости веществ, в растворах на абсорбцию влияют также состав растворителя, его рН, вязкость, поверхностное натяжение [А.И. Тихонов и др., 2003]. Недостатком являются большие объёмы, необходимые для терапевтического эффекта, определённые характеристики рН, осмоляльности, изотоничности и т.д., а также протекание различных химических процессов при хранении, вызывающие разрушение препарата. Особенно это характерно для антибиотиков, которые крайне чувствительны к рН среды, плохо растворимы, а даже растворимые вещества способны терять активность в водной среде, несовместимы со многими вспомогательными лекарственными веществами и другими антибиотиками, термолабильны (трудно обеспечить стерильность), при этом могут разрушаться под действием микроорганизмов в нестерильных препаратах, малоустойчивы при хранении [И.И. Краснюк и др., 2004; Н.Н. Михайлова, 2007]. Кроме того, считается, что водные растворы антисептиков обеспечивают кратковременный эффект. При этом снижаются барьерные функции слизистых вследствие разрушения муцина, происходит рассеивание патогенных организмов [Н.И. Полянцев и др., 2012].

Растворы выпускают во флаконах из нейтрального стекла с резиновыми пробками, обкатанными алюминиевыми колпачками, или в полимерных флаконах, укупоренных крышками с контролем первого вскрытия объёмом от 100 мл до 1 л.

Растворы должны соответствовать требованиям ОФС.1.4.1.0011.15 [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII] и выдерживать испытания по следующим показателям качества: «Описание», «Объём содержимого упаковки», «Прозрачность», «Цветность», «Стерильность», рН.

С целью профилактики и лечения послеродового эндометрита и других воспалительных заболеваний бактериальной этиологии матки у коров и свиноматок после оказания родовспоможения, кесарева сечения, оперативного отделения последа и синдроме метрит-мастит-агалактии у свиноматок применяют следующие антибактериальные лекарственные средства в форме раствора: Гинодиксин (Росветфарм), Диометр (Агрофарм), Тетраметр (Агрофарм), Эндометрамаг-К (Мосагроген), Эндометрамаг-Т (Мосагроген), Энроцид (Агрофарм) [<http://galen.vetrif.ru>].

Второй по частоте использования лекарственных форм является суспензия. Суспензия - жидкая лекарственная форма, представляющая собой гетерогенную дисперсную систему, содержащую одно или несколько твёрдых действующих веществ, распределённых в жидкой дисперсионной среде.

Для обеспечения высокой эффективности препарата они должны обладать высокой агрегативной (способностью противостоять укрупнению частиц и образованию агрегатов) и кинетической устойчивостью (способностью противостоять оседанию частиц, сохранять равномерное распределение частиц по объёму или массе суспензии, и низкой скоростью седиментации). Частицы должны оседать настолько медленно, чтобы можно было точно дозировать. В связи с этим в состав суспензий необходимо включать вещества, предупреждающих седиментацию [А.И. Тихонов и др., 2003]. Устойчивость суспензий зависит от ряда факторов: размера частиц и связанной с этим величины свободной поверхности энергии Гиббса; вязкости среды, соотношения плотностей

дисперсной фазы и дисперсной среды, наличия адсорбционного слоя поверхностно-активных веществ и электрического заряда на поверхности частиц, величины межфазного натяжения, степени сродства частиц дисперсной фазы к дисперсионной среде.

В качестве вспомогательных веществ в суспензиях могут быть использованы буферные растворы, стабилизаторы (вещества, повышающие вязкость дисперсионной среды, поверхностно-активные вещества и др.), корригенты, консерванты, антиоксиданты, красители и другие.

К положительным свойствам суспензии относится более высокая дисперсность твёрдых веществ, чем в таблетках и порошках и более быстрое проявление фармакологического действия (при размере частиц более 10 мкм), пролонгированное действие по сравнению с растворами (плохо растворимые вещества в суспензии обладают пролонгированным действием), большее удобство применения по сравнению с порошками. Недостатками суспензий является то, что при хранении наблюдается седиментация частиц и выпадение осадка. Поэтому на упаковке обязательна предупредительная надпись: «Перед употреблением взбалтывать».

Препараты выпускают расфасованными по 100 мл во флаконы из оранжевого стекла, укупоренные резиновыми пробками, укрепленные алюминиевыми колпачками, в шприцы-дозаторы - по 5 и 20 мл, укрепленные защитными колпачками, а также в полимерные канистры с навинчивающимися пластмассовыми крышками по 0,5, 1,0 3,0 и 5,0 л.

Суспензии должны соответствовать ОФС.1.4.1.0014.15 [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII]. После взбалтывания суспензия должна представлять собой жидкость с однородно распределёнными в ней частицами; соответствовать указанному цвету и запаху. При необходимости определяют рН, размер частиц, седиментационную устойчивость (не должно наблюдаться признаков седиментации и образования агрегатов и агломератов в течение времени, необходимого для введения лекарственного препарата) и вязкость.

Для лечения и профилактики послеродового эндометрита и других воспалительных заболеваний половых органов у коров в форме суспензий внутриматочно вводят антимикробные препараты Прималакт (Агрофарм), Метрикур (Intervet International B.V., Нидерланды), Эндотил-форте (НПФ Вектор), а также пробиотический препарат Гипролам (Биотехагро) [<http://galen.vetrif.ru>].

Из жидких лекарственных форм используют также эмульсии. Эмульсия - жидкая лекарственная форма, представляющая собой гетерогенную двухфазную дисперсную систему с жидкой дисперсной фазой и жидкой дисперсионной средой. Эмульсии могут быть типа масло/вода и вода/масло.

В эмульсиях при хранении возможна коалесценция – процесс укрупнения и слияния капелек дисперсной фазы, то есть потеря агрегативной устойчивости. Под агрегативной устойчивостью эмульсий понимают способность дисперсной фазы (капелек жидкости или пузырьков газа) как можно дольше сохранять равномерное распределение в дисперсной среде. При слиянии капелек фазы в сплошной слой эмульсия расслаивается на два несмешивающихся слоя и при взбалтывании не восстанавливается, что является следствием потери агрегативной и кинетической устойчивости. Для обеспечения устойчивости в состав эмульсий вводят эмульгаторы, снижающие поверхностное натяжение на границе вода-масло, и определяющие тип образующейся эмульсии. Эмульгаторы по типу образуемых эмульсий разделяются на гидрофильные и липофильные.

Стабильность эмульсий зависит от природы эмульгатора, дисперсионной среды и масляной фазы, соотношения между маслом, водой и эмульгатором, способа приготовления эмульсии, способа введения эмульгатора (ПАВ, ВМС и др.). При стабилизации эмульсий отдельными группами ПАВ было установлено, что дисперсность эмульсий, их реологические свойства, стабильность, удельная электропроводимость зависят от суммарного гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) эмульгаторов. Гидрофильно-липофильный баланс – определённое оптимальное соотношение действия вода и масла на молекулы ПАВ, определяет условия образования адсорбционно слоя на границе раздела двух жидкостей [А.Д. Зимон и др., 2001].

На высвобождение лекарственных веществ из эмульсий влияют: гидрофильность или лиофильность лекарственных веществ, свойства дисперсной среды, тип эмульсии, вид эмульгатора, дисперсность частиц. Механизм влияния ПАВ и растворителей на биодоступность лекарственных веществ в эмульсиях может быть связан как с процессами, протекающими в лекарственной форме (солюбилизация, повышение растворимости и степени дисперсности, перераспределение между фазами), так и с воздействием вспомогательных веществ на биомембраны, рецепторы лекарственных веществ в клетках и т.д. Например, пропиленгликоль, полиэтиленоксиды (ПЭО), диметилсульфоксид (ДМСО), глицерин влияют на структурное состояние мембран и внутриклеточной воды. То есть добавки вспомогательных веществ могут как потенцировать, так и ингибировать всасывание и терапевтический эффект будет изменяться [А.И. Тихонов и др., 2003; А.В. Титова, 2006].

В эмульсионные лекарственные формы можно вводить гидрофильные и лиофильные вещества, совмещать несмешивающиеся жидкости, регулировать биодоступность лекарственных веществ и устранять их раздражающее действие на слизистую. Недостатками являются недостаточная стабильность при длительном хранении и снижение качественных характеристик масляной основы.

Эмульсии выпускаются как в многодозовой, так и в однодозовой упаковке, снабжённой при необходимости приспособлением, обеспечивающим удобство применения и дозирования лекарственного средства. На упаковке должна быть предупредительная надпись: «Перед употреблением взбалтывать».

Эмульсии должны соответствовать требованиям ОФС.1.4.1.0017.15 «Эмульсии»: представлять собой однородную жидкость, в которой может наблюдаться расслоение, исчезающее после взбалтывания [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII]. При описании указывают цвет, при необходимости определяют запах, рН, вязкость и размер частиц.

Для лечения и профилактики послеродовых осложнений, острых и хронических эндометритов и других патологий половых органов коров для

внутриматочного введения выпускают эмульсии Метролек (БиАгро) и Тилозинокар (Биогрин) [<http://galen.vetrif.ru>].

Гели - мази, в которых для получения основы используются гелеобразователи природного и синтетического происхождения. Обладают упруго пластичной консистенцией и способны сохранять свою форму. По типу дисперсных систем различают гели гомогенные (сплавы, растворы), гетерогенные (суспензионные, эмульсионные) и комбинированные.

В зависимости от основы выделяют гели на гидрофобной, гидрофильной, эмульсионной, а также многофазной основе [Н.С. Михеева и др., 2014]. В мягких лекарственных формах тип основы, реологические свойства, наличие ПАВ и растворителей оказывают влияние на процесс всасывания [Р.Д. Кусова, 2006; А.В. Давыдова и др., 2014].

Фармакокинетическая активность лекарственных веществ зависит от их степени дисперсности. Размер частиц оказывает влияние на скорость растворения лекарственного вещества в основе. С повышением дисперсности частиц вещества увеличивается способность диффундировать из носителя [В.С. Ярных, 1972].

На биодоступность лекарственного вещества влияет его взаимодействие с основой. Лекарственное вещество может связываться с основой химически или физически. Это влияет на высвобождение, поскольку образовавшийся комплекс отличается от свободного лекарственного вещества величиной молекулы, растворимостью, коэффициентом диффузии и коэффициентом растворения. На скорость абсорбции лекарственных веществ из мягких лекарственных форм непосредственно влияют коэффициент диффузии лекарственного вещества, распределительный коэффициент между местом применения и основой, концентрация растворённого лекарственного вещества в основе, доля свободного и недиссоциированного лекарственного вещества, величина повреждённой поверхности. Коэффициент диффузии лекарственного вещества зависит от величины его молекул и от среды, в которой они движутся. Высвобождение лекарственного вещества находится в корреляции с производным концентрации и с распределительным коэффициентом между основой и водой. Лекарственное

вещество плохо высвобождается из среды, с которой имеет большее сродство, в другую среду, сродство с которой у него значительно меньше [А.И. Тихонов и др., 2003; А.В. Титова, 2006; Е.В. Кузьмина и др., 2015].

Повысить высвобождение гидрофобного вещества из лекарственного препарата можно за счёт введения больших (40-60%) концентраций пропиленгликоля. При этом выбор состава растворителей и ПАВ должен обеспечивать пребывание лекарственного вещества в солюбилизированном состоянии или в виде истинного раствора [Е.И. Климова и др., 2008].

Говоря о влиянии типа основы на высвобождение и биодоступность лекарственных веществ в эмульсионных линиментах, мазях, кремах, нельзя не отметить такой фактор, как фаза их локализации. Если, например, гидрофобные или гидрофильные вещества локализованы во внутренней фазе эмульсий (масло/вода или вода/масло), то для их высвобождения имеется энергетический барьер в виде дисперсионной среды, в которой вещество плохо смачивается. Поскольку чужеродная фаза задерживает высвобождение лекарственных веществ, то для создания пролонгированных препаратов в качестве основ целесообразно использовать множественные эмульсии [А.И. Теньцова и др., 1980; В.А. Быков и др., 2009]. В случае гидрофобных веществ, локализующихся во внутренних фазах эмульсий масло/вода, их высвобождение будет замедляться по двум причинам: из-за низкой вращательной подвижности молекул и барьера для их переноса к биообъекту в виде водной среды. Для того чтобы управлять высвобождением лекарственных веществ, надо научиться регулировать распределение и вращательную подвижность их молекул в основе. Уменьшение ГЛБ эмульгаторов типа м/в и в/м в дисперсных системах способствует повышению вращательной подвижности молекул гидрофильных веществ. Гидрофильные вещества могут перераспределяться в масляную фазу эмульсий при замене вазелинового масла на более полярные растительные масла [А.И. Тихонов и др., 2003].

На эффективность мазей влияет способ их приготовления (введение в основу, порядок смешивания компонентов и т.д.). Технология производства должна обеспечивать максимальное диспергирование и равномерное

распределение действующих веществ в основе [Л.Г. Марченко и др., 2004]. Консистенция геля должна обеспечивать лёгкость нанесения и равномерное распределение на слизистой оболочке. Однако установлено, что вазелин-ланолиновая основа гелей препятствует высвобождению компонентов и его адсорбции слизистыми. Кроме того, способность активного вещества к диффузии из основы не коррелирует с его адсорбцией [Н.И. Полянцев и др., 2012].

Для упаковки используют металлические тубы с внутренним лаковым покрытием или банки из полимерных материалов. Упаковка обычно укомплектована соответствующими аппликаторами, герметична и имеет приспособление для контроля первого вскрытия. При необходимости на упаковке указывают срок хранения после первого вскрытия.

Гель должен соответствовать требованиям ОФС.4.1.0008.15: быть однородным, не иметь прогорклого запаха, а также признаков физической нестабильности (агрегации частиц, фазового расслоения, коагуляции). При наличии компонентов в виде твёрдой дисперсной фазы (гетерогенных системах) контролируют размер частиц (должны быть не более 100 мкм). Проводят определение герметичности упаковки, рН, кислотного и перекисного числа, при необходимости, стерильность [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

Российские производители выпускают также гель для внутриматочного и интрацистернального применения для лечения и профилактики эндометритов и маститов у коров: Хинасепт-гель (Росветфарм) и Биогель 10 (НПП Фармакс) [<http://galen.vetrf.ru>].

Суппозитории - твёрдая при комнатной температуре дозированная лекарственная форма, содержащая одно или более действующих веществ, растворенных или диспергированных в подходящей основе, предназначенная для введения в полости тела и расплавляющаяся (растворяющаяся, распадающаяся) при температуре тела.

В зависимости от состояния действующего вещества (растворимое или нерастворимое в основе) суппозитории могут быть гомогенными или

гетерогенными. Основы, используемые при производстве суппозиториев, подразделяются на липофильные, гидрофильные и дифильные. В состав суппозиториев могут входить различные группы разрешённых для медицинского применения вспомогательных веществ: эмульгаторы, консерванты, антиоксиданты, стабилизаторы и другие.

Суппозитории в промышленных условиях могут быть получены методом выливания расплавленной массы в формы или методом прессования. Метод прессования используется реже. Его преимуществами являются возможность избежать деструкции термолабильных действующих веществ, отсутствие седиментации действующего вещества и предотвращение его несовместимости с расплавленной основой.

Положительный эффект суппозиториев складывается из того, что они способны обеспечивать местный и общий резорбтивный эффект, являются дозированной лекарственной формой, можно ввести вещества не совместимые в порошках и жидких лекарственных формах, удобны в применении. Основа выполняет активную функцию обеспечения необходимого фармакологического эффекта, позволяя сократить терапевтические дозы лекарственных веществ. Недостатком суппозиториев является нестабильность лекарственной основы, в том числе в плане микробиологической контаминации, сложность контроля высвобождения лекарственного вещества из основы, а также способность вызывать раздражение слизистой оболочки [В.И. Погорелов и др., 2002].

Фасуют по 5-10 штук в контурную ячейковую упаковку или в двойной полиэтиленовый пакет, запаянный термическим способом или закрытый защелкой «гриппер». Виватон перекладывают пергаментной бумагой. Суппозитории фасуют в блистеры из фольги и по 5 блистеров упаковывают в картонную пачку.

Суппозитории в соответствии с ОФС.1.4.1.0013.15 должны иметь однородную массу, одинаковую форму и обладать твёрдостью, обеспечивающей удобство применения. В случае введения в основу действующего вещества в виде суспензии, необходимо контролировать размер частиц [не более 100 мкм]. Для

суппозиториев проводят испытание на время растворения или температуру плавления; распадаемость; однородность дозирования [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

Для профилактики и лечения гинекологических болезней животных применяют палочки внутриматочные с виватоном (Виватон) и ихтиолом (Агрофарм) или суппозитории – Йодопен (Нита-Фарм) [<http://galen.vetrif.ru>].

Порошки - лекарственная форма, состоящая из твёрдых отдельных сухих частиц различной дисперсности, обладающая свойством сыпучести.

В качестве вспомогательных веществ, входящих в состав порошков, используют индифферентные наполнители, солюбилизаторы, красители, консерванты, разрешенные к медицинскому применению. Порошки могут содержать вспомогательные вещества, обеспечивающие растворение или диспергирование, предотвращающие слеживаемость, снижающие гигроскопичность, регулирующие или стабилизирующие рН, либо стабилизирующие фармацевтическую субстанцию и др.

Как лекарственная форма порошки обладают следующими положительными свойствами: простота технологии, универсальность состава (могут содержать вещества органической и неорганической природы), возможность регулирования активности благодаря изменению степени дисперсности, отсутствия наполнителей, точность дозирования, портативность, более устойчивые при хранении, чем жидкие лекарственные формы. К недостаткам можно отнести следующее: мелкодисперсные вещества вследствие увеличения удельной поверхности легко подвергаются воздействию кислорода воздуха, света и влаги. Гигроскопические вещества отсыревают, а вещества, содержащие летучие компоненты при недостаточно хорошей упаковке, выветриваются или приобретают посторонний запах. Кроме того они обладают медленным терапевтическим действием по сравнению с растворами и некоторые вещества могут оказывать раздражающее действие на слизистые оболочки.

Каждую дозу дозированных порошков расфасовывают в индивидуальную упаковку или по несколько доз в упаковку со специальным устройством для дозирования.

Порошки должны соответствовать ОФС.1.4.1.0010.15, выдерживать требования ОФС «Однородность дозирования», ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм», быть стерильными и др. [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

«Росветфарм» и «НПК "Асконт+» для профилактики и лечения послеродового эндометрита, при задержании последа выпускают комбинированный антибактериальный препарат Трициллин, который перед применением разводят в 50-100 мл стерильного растительного масла комнатной температуры [<http://galen.vetrif.ru>].

Таблетки - твёрдая дозированная лекарственная форма, чаще всего получаемая прессованием порошков или гранул, содержащих одно или более действующих веществ с добавлением или без вспомогательных веществ.

В зависимости от технологии производства, способа применения таблеток, физико-химических свойств действующих веществ, их дозировки, скорости и характера высвобождения применяют различные вспомогательные вещества в соответствии с их назначением: разбавители используют для обеспечения необходимой массы таблетки; связующие вещества вводят для обеспечения прочности; разрыхлители (дезинтегранты) включают в состав таблеток с целью обеспечения их распадаемости; вещества, способствующие скольжению, препятствуют прилипанию к пресс-инструменту и т.д. Для нанесения оболочек также используются различные вспомогательные вещества [В.Н. Большаков, 1991; Ф. Бюлер, 2001; И.В. Воскобойникова и др., 2005; А.В. Титова, 2006].

Технология производства таблеток должна обеспечивать необходимую механическую прочность и микробиологическую чистоту.

Положительные качества таблеток: высокий уровень механизации производства, точность дозирования, портативность, длительное хранение, возможность нанесения органолептически неприятных веществ, пролонгирование

действия при использовании специальных технологий. В состав таблеток для внутриматочного введения добавляют специальные компоненты, регулирующих процесс высвобождения действующего вещества. К недостаткам таблеток можно отнести изменение (увеличение) времени их распадаемости, раздражающее действие на слизистую в зоне растворения, необходимость замены в ходе лечения жидким лекарственным средством в связи с постепенным закрытием канала шейки матки.

Таблетки должны соответствовать требованиям ОФС.1.4.1.0015.15: количественному определению действующих веществ; по оценке внешнего вида (форма, цвет); однородности массы или однородности дозирования; прочности на истирание; распадаемости или растворения; дисперсности; потери в массе при высушивании или наличию воды; а также по определению вспомогательных веществ и органических растворителей [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

В настоящее время на ветеринарном фармацевтическом рынке представлены таблетки для внутриматочного введения коровам: Биометросанит (БиоХимФарм), Геомицин® Ф (Genera Inc.) и Сепранол (Нита-Фарм), энрофлон (ВИК-здоровье животных) [<http://galen.vetrif.ru>].

Таким образом, у каждой лекарственной формы есть преимущества и недостатки, которые необходимо учитывать при создании лекарственных средств для терапии животных с воспалительными заболеваниями половых органов.

2.3 Пенные аэрозоли и их использование в терапии животных с воспалительными заболеваниями половых органов

2.3.1 Аэрозоль как лекарственная форма

Аэрозоль – это лекарственная форма, представляющая собой растворы, эмульсии или суспензии действующих веществ, находящихся под давлением пропеллента в герметичной упаковке (аэрозольном баллоне), снабжённой клапанно-распределительной системой, которая обеспечивает высвобождение лекарственного средства в виде дисперсии твёрдых и жидких частиц в газе,

размер которых соответствует пути введения [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

Впервые упаковки под давлением начали применять в XVII веке. Приспособления для создания аэрозолей разрабатывались в России, США и Норвегии. В настоящее время аэрозольные упаковки используются во многих отраслях человеческой деятельности. В СССР первые лекарственные препараты в форме аэрозоля были выпущены в 1969 г. и на данный момент ассортимент медицинских препаратов в аэрозольных упаковках достаточно широк. В них производят антисептики, антибиотики, анестетики, анальгетики, витамины и т.д. В гуманной медицине их применяют в пульмонологии, дерматологии, стоматологии, отоларингологии, гинекологии и проктологии (Пантенол, Лифузоль, Каметон, Неотизоль, Оксициклозоль, Олазоль (Россия), Беротек Н (Германия), Лидокаин (Венгрия), Вентолин (Польша) и др.) [<http://www.rlsnet.ru>].

В ветеринарной медицине аэрозоли используются как наружные средства для лечения ран: Алюминум-спрей (Nicovet, Германия), Террамицин (Zoetis Inc., США), Фортиклин-спрей (Syva Laboratorios S.A., Испания), Баймицин (Norbrook Laboratories Ltd., Северная Ирландия), Чеми-спрей (INVESA, Испания), а также в качестве инсекто-акарицидов: Больфо (Bayer Animal Health GmbH, Германия), ПараСтоп (Virbac, Франция), Фли (INVESA, Испания), Анти-Фли спрей (Фокс и Ко НПЦ ООО, Россия), Дана (Апи-Сан НПО ООО, Россия), Дерматол (БиоХимФарм, Россия) и др. [<http://galen.vetrif.ru>].

Интерес к данной лекарственной форме закономерен, так как аэрозоль имеет много преимуществ: 1. Терапевтический эффект наступает быстро (иногда также как и при внутривенном введении). 2. Нанесение аэрозольных препаратов позволяет уменьшить токсическое, аллергизирующее и раздражающее действие за счет снижения необходимой дозировки. 3. Только аэрозоли обеспечивают хороший контакт со слизистой и глубокое проникновение во все неровности складки, так как имеют небольшой размер частиц. 4. Лекарственное средство в форме аэрозоля глубже проникает в ткани раневых поверхностей благодаря кинетической энергии движущихся аэрозольных частиц, при этом создавая

концентрацию, которую не удастся достичь при внутривенном введении. 5. Вещество наносится тонким слоем, что увеличивает поверхность соприкосновения и обеспечивает более эффективное действие. 6. Применение аэрозолей на открытых ранах не вызывает болезненности в отличие от других лекарственных форм. 7. Использование аэрозолей даёт возможность применять лекарственные вещества в случаях, когда введение через желудочно-кишечный тракт не обеспечивает желаемого действия. 8. Позволяет уменьшить побочное действие лекарственных средств, которое возникает при их парентеральном введении. 9. Герметичность баллона предохраняет препарат от контаминации микрофлорой, предотвращает высыхание и защищает гигроскопичные вещества от влаги. 10. При необходимости обеспечивается точная дозировка. 11. Способ применения является удобным и быстрым. Отрицательными качествами являются токсичность некоторых пропеллентов (особенно при длительном вдыхании), взрыво- и пожароопасность аэрозольных баллонов, цена [И.Е. Кузьменко и др., 1970; Г.С. Башура и др., 1978].

В физико-химическом смысле аэрозоль – среда (газ), в которой во взвешенном состоянии находятся частицы дисперсной фазы размером от 1 до нескольких сот нанометров. В клиническом отношении – активное действующее вещество наносится на место всасывания в виде аэродисперсной системы. С фармацевтической – форма выпуска лекарства, находящегося в герметичном баллоне, в котором пропеллент находится в растворенном, эмульгированном или суспендированном состоянии [А.И. Теньцова и др., 1980; П. Рауст, 1987; А.Д. Зимон и др., 2001].

С.И. Эйдельштейн [1967] предлагал классифицировать аэрозоли по физико-химическим свойствам, способу получения и назначению. По способу применения различают два типа аэрозолей: 1. ингаляционные (*aerosola interna*) и 2. аэрозоли для наружного применения (*aerosola externa*). Аэрозоли для наружного применения назначают для нанесения на кожные покровы или введение в полости тела. Среди них выделяют душирующие, пенные и плёнкообразующие [В.С. Ярных, 1972; В.И. Погорелов и др., 2002; З.Д. Хаджиева, 2007].

Плёнкообразующие аэрозоли (хирургические клеи) при выходе из баллона образуют на коже быстровысыхающую плёнку, в связи с чем, в их состав вводят различные полимеры, смолы и пластификаторы. Защитные аэрозольные пленочные покрытия представляют собой масляные или спиртовые растворы (суспензии). Их нельзя применять в I фазе раневого процесса при наличии экссудации, и можно ограниченно использовать во II фазе [П.Г. Мизина, 2000; Ю.К. Абаев, 2006].

Душирующие аэрозоли применяют для лечения ран и ожогов кожи. Они содержат 30-60% лекарственных и вспомогательных веществ и 40-70% пропеллента. Частицы аэрозоля размером 100-200 мкм выдавливаются в виде мази или линимента, быстро осаждаются и образуют жидкую плёнку. Пенные аэрозоли широко используются в гинекологии и проктологии. Они содержат 70-90% лекарственных веществ с размером частиц более 200 мкм и пенообразователей, а также 10-30% пропеллента [А.И. Теньцова и др., 1980].

По способу получения лекарственные аэрозоли подразделяют на фармацевтические и медицинские. Фармацевтические аэрозоли – готовая лекарственная форма, состоящая из баллона, клапанно-распределительной системы и содержимого различной консистенции, способного с помощью пропеллента выводиться из баллона. В состав входят лекарственные, вспомогательные вещества и пропеллент [В.И. Чуешов и др., 2002].

Аэрозоли представляют собой двухфазные или трёхфазные системы. Двухфазные аэрозоли состоят из раствора (жидкость) действующего вещества в сжиженном пропелленте (газ) с добавлением растворителей для растворения действующих веществ. Трёхфазные аэрозоли состоят из суспензии или эмульсии действующих веществ и пропеллента. К трёхфазным аэрозолям относятся пенные аэрозоли, которые представляют собой эмульсии, содержащие действующие вещества, поверхностно-активные вещества, водные или неводные растворители и пропелленты [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII].

Пропелленты или эвакуирующие газы, с помощью которых внутри баллона создаётся давление, должны быть безвредными, не оказывать раздражающего

воздействия на кожу и слизистые оболочки, быть химически совместимы с лекарственными веществами, химически стойкими, индифферентными к упаковке, не иметь запаха, легко превращаться в жидкость при небольшом избыточном давлении.

В зависимости от давления пропелленты делят на основные и вспомогательные. Первые создают давление не менее двух атмосфер, а вторые – менее одной. По агрегатному состоянию их делят на сжиженные (фторорганические соединения – хладоны или фреоны; углеводороды пропанового ряда – пропан, бутан, изобутан; хлорированные углеводороды – винилхлорид, метилхлорид и др.), сжатые (азот, закись азота, двуокись углерода) и легколетучие органические растворители (метилхлорид, этиленхлорид и др.) [И.Е. Кузьменко и др., 1970; А.И. Теньцова и др., 1980; В.И. Погорелов и др., 2002].

Для фармацевтических аэрозолей часто используют сжиженные газы (хладоны-11, -12, -114), которые хорошо растворяются в органических растворителях, маслах и плохо растворяются в воде, негорючие, не образуют взрывоопасных смесей с воздухом и относительно химически инертные [В.И. Чуешов и др., 2002]. Согласно данным Н.А. Ляпунова [1989] пропеллент HFC-134a способен подавлять жизнеспособность микроорганизмов.

Считается, что химически чистые пропелленты менее токсичны, чем содержащие примеси. Токсичность зависит также от химической структуры пропеллента. Считается, что менее токсичны фреоны: 12, 114, 152, C318, азот и воздух, затем идут фреоны 11, 21 и 22, трихлорэтан, двуокись углерода, винилхлорид, пропан, бутан, токсичными считаются фреон 113, этилхлорид, метилхлорид, метилхлорид, и др. Для создания оптимальных физико-химических характеристик аэрозоля могут быть использованы смеси пропеллентов [Г.С. Башура, 1978; О.А. Ляпунова, 1986; В.И. Погорелов и др., 2002].

Выбор способа наполнения аэрозольного баллона определяется химическими свойствами пропеллента. Если используется сжатый газ, то

наполнение баллона проводится под давлением и контролируется манометром. Осуществляется на автоматах: при комнатной температуре вводят лекарственное вещество в баллон, вакуумируют, герметизируют клапаном и через клапан под давлением 2,5-3 атм. вводят пропеллент. Если используется сжиженный газ, то можно наполнять как под давлением, так и при низких температурах -40°C (примерно на 5°C ниже температуры кипения пропеллента). Действующие и вспомогательные вещества вводят через горловину баллона путем объемного дозирования и герметизируют клапаном. Метод не подходит для препаратов с высокой вязкостью, эмульсий, водных растворов, средств, не выдерживающих низкую температуру. Способ твёрдого пропеллента включает использование твердой углекислоты, которая вносится в баллон вместе с лекарственным веществом и герметизируется клапаном [В.И. Погорелов и др., 2002; В.И. Чуешов и др., 2002].

При производстве необходимо учитывать пожароопасность и токсичность применяемых веществ (особенно пропеллентов). В зависимости от огнеопасности пропелленты делят на: 1. не огнеопасные (фреоны, их смеси, сжатые газы и их смеси с фреонами); 2. содержащие огнеопасные компоненты, но не имеющие температуру вспышки и 3. горючие (парафиновые углеводороды, хлорзамещённые углеводороды и др.) – не применяются в фармацевтической промышленности. Помещения должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией с не менее чем 10-кратным обменом воздуха. Температура должна быть в пределах $18-21^{\circ}\text{C}$. Баллоны со сниженными газами рекомендуется наполнять не более чем на 85% объёма так, чтобы при температуре $50-60^{\circ}\text{C}$ жидкое содержимое занимало не более 95% внутреннего объёма [И.Е. Кузьменко и др., 1970].

Аэрозольные баллоны должны быть прочными и герметичными. Упаковка для аэрозолей должна быть изготовлена из инертного материала: металла, стекла, пластмассы или их комбинаций. Баллон должен выдерживать внутреннее давление равное 8-20 атмосферам и обладать прочностью при ударе [В.М. Цетлин, 1970; И.С. Чекман и др., 2013].

Стеклянные ёмкости аэрозолей должны быть защищены пластмассовым покрытием и/или эластичной плёнкой, быть стойкими к давлению, ударам, обладать химической и термической стойкостью (выдерживать температуру 150-350°C), иметь равную толщину стекла и минимум плоских поверхностей [А.И. Теньцова, 1980; В.И. Погорелов и др., 2002]. Прочность аэрозольных баллонов зависит от состава стекла [С.И. Башура, 1987], а термическая стойкость – от размера, формы, толщины, равномерности стенок, способа выработки и др.

Наиболее широкое распространение получили металлические баллоны: из белой жести с паяным боковым швом, из чёрной жести со сварным боковым швом, тянутые из белой или чёрной жести и алюминия с прикатным дном, алюминиевые (моноблочные), баллоны из нержавеющей стали. Моноблочные алюминиевые баллоны наиболее приемлемы для упаковки. Алюминий не имеет запаха, вкуса, нетоксичен, стерилен, достаточно противостоит коррозии. Моноблочность гарантирует герметичность, высокую прочность, высокое сопротивление коррозии, атмосферостойкость, возможность изготовления больших объёмов, получение эстетичного внешнего вида, лёгкость.

Пластмассовые баллоны прочные, устойчивые к ударам, лёгкие. Однако они газопроницаемы, дороги, плохо сохраняют форму при высоком давлении.

В зависимости от типа и предназначения упаковки должны быть снабжены распылительным устройством непрерывного действия (недозированные аэрозоли) или дозирующим распылительным устройством (дозированные аэрозоли). Распылительное устройство должно регулировать высвобождение содержимого упаковки во время использования: скорость и полноту высвобождения, размер частиц дисперсии, однородность дозирования. Материалы, используемые в производстве распылительных устройств (пластмасса, резина, металл – нержавеющая сталь, алюминий), должны быть инертны по отношению к содержимому упаковки [В.И. Чуешов и др., 2002; И.С. Чекман и др., 2013].

Клапанно-распылительная система состоит из запирающего клапана и распылителя. Клапан герметично закрывает баллон в процессе хранения. Клапан аэрозольной упаковки должен обеспечивать её герметичность при давлении до 20

кгс/см² и эвакуацию препарата. При нажатии распылителя клапан приходит в рабочее состояние, и так как атмосферное давление ниже, чем в баллоне, лекарственное вещество с газом устремляется из баллона. При снижении давления пропеллент испаряется и в результате диспергируется на частицы диаметром от 0,5 до 200 мкм [В.И. Чуешов и др., 2002].

Клапанные устройства классифицируют по принципу действия (пружинные, качательные беспружинные, с винтовым вентелем), способу крепления (путем разжима вертикальных стенок корпуса клапана под бортик горловины баллона, путем завальцовки корпуса клапана, навинчивающиеся на горловину) и назначению (для жидкостей, пен, порошков, суспензий, дозированные).

Для защиты клапана аэрозольный баллон снабжён защитным колпачком из полиэтилена или полистирола. С помощью специальных насадок, которые надеваются на головку клапана, лекарственные вещества вводят ректально, вагинально и т.д. [В.И. Погорелов и др., 2002].

Для аэрозолей, представляющих собой эмульсии и суспензии, допускается расслаивание в процессе хранения, однако они должны легко реэмульгироваться и ресуспендироваться при встряхивании для обеспечения равномерного распределения действующего вещества в лекарственном средстве.

На баллоне и пачке указывают условия хранения (в защищённом от света месте при температуре от 0-8 до 15-35°C) и предупредительные надписи: «Перед употреблением взболтать», «Не вскрывать», «Хранить вдали от отопительной системы и прямых солнечных лучей», «Предохранять от падений и ударов», регистрационное удостоверение, номер серии, срок годности и т.д. [Государственная фармакопея Российской Федерации XIII]. Запрещается перевозка аэрозольных баллонов с непригодным предохранительным колпачком, негерметичных или с нарушенной целостностью.

2.3.2 Пенные аэрозоли

В разработку концепции пенных терапевтических систем (ПТС) и их классификации большой вклад внесла З.Д. Хаджиева [2007]. Она предложила следующее определение: пенные терапевтические системы - это класс

лекарственных форм с модифицированным высвобождением лекарственного вещества, представляющих собой структурированную дисперсную систему в виде скопления пузырьков газа (дисперсная фаза), разделенных тонкими прослойками жидкой дисперсионной среды, предназначенные для доставки лекарственных средств к органам-мишеням.

С учётом конструкции устройств для их получения пены бывают медицинскими, которые получают методами механического диспергирования, барботирования или химического газообразования, и фармацевтическими, которые получают эжекцией газом под давлением (аэрозоли).

Первые лекарственные препараты, образующие при выдавливании из аэрозольного баллона пену, были получены в 1951 г. [А.И. Теньцова и др., 1980]. В состав пен вводят антибиотики, стероиды, гормоны, витамины, кровоостанавливающие, дезинфицирующие и противопаразитарные средства [П.М. Кругляков и др., 1990; Н.И. Попов и др., 2005; Д.И. Удавлиев, 2011]. В связи с этим, пенные препараты широко применяют в медицине в проктологии, гинекологии, дерматологии, гастроэнтерологии и т.д. [P.N. Catania et al., 1975; R. Woodford et al., 1977; A. Arzhavitina et al., 2010; A. Frankel et al., 2011; L.T. Moura et al., 2013].

В акушерско-гинекологической практике в виде пен используют такие препараты как Нитазол с антибактериальным действием, Гипозоль АН, обладающий ранозаживляющим эффектом, а также контрацептивы - Patentex Oval (Германия), Delfen (США), VCF Aerosol (США) и др. [N. Exalto et al., 2014; J.X. Guo et al., 2015; <http://www.rlsnet.ru>].

Пенные аэрозоли обладают рядом преимуществ. 1. Лекарство наносится на поражённый участок в виде тонкодисперсных веществ: с увеличением суммарной поверхности частиц возрастает их химическая и физико-химическая активность, в результате чего происходит быстрое всасывание лекарственных веществ, что повышает терапевтическую эффективность. 2. Пены длительное время могут поддерживать высокую концентрацию лекарственного вещества в очаге воспаления, обеспечивая пролонгированный эффект, а также могут ускорять

высвобождение лекарственных веществ. 3. Под влиянием температуры тела пена увеличивается в объёме и способна заполнять складки слизистых. 4. Пена обеспечивает быстрый контакт лекарственных веществ на обширных раневых поверхностях. 5. Наносится дискретно, в результате не нарушается термо-, влаго- и газообмен. 6. Пена может перемещаться в проксимальном направлении и при этом не препятствует оттоку воспалительного экссудата. 7. Сжиженные газы при испарении оказывают охлаждающее действие, снижая болевой эффект; при этом из-за низкой концентрации пропеллента невозможно переохладение. 8. При использовании дозирующих клапанов обеспечивается точная дозировка, что необходимо при использовании антибиотиков. 9. Лекарственные средства используются без потерь, сокращается время на обработку и количество обслуживающего персонала. 10. Вследствие герметичности упаковки сохраняется стерильность препарата и стабильность на протяжении всего срока годности, что важно при применении химиотерапевтических средств. 11. Баллон защищает лекарственное средство от высыхания, света и влаги. 12. Персонал не подвергается ингаляционному воздействию [Г.С. Башура и др., 1978; В.И. Чуешов и др., 2002; Л.В. Растриженкова, 2009].

Однако в ветеринарной медицине на территории Российской Федерации в форме аэрозоля зарегистрированы только препараты Йодофарм (VETPROM AD, Болгария) и Йодофоам 45,2 (Duna-Coop Kft, Венгрия), предназначенные для внутриматочного введения крупному рогатому скоту при акушерско-гинекологической патологии [<http://galen.vetrf.ru>].

Йодофарм® (ПВИ-3-8.6/02009) - раствор в аэрозольной упаковке, содержит в качестве действующих веществ йод 0,18 г, йодистый калий 0,36 г, растворитель и газ до 40,0 г. Назначают Йодофарм однократно, в тяжёлых случаях возможно повторное применение через 7 дней.

Йодофоам 45,2 (ПВИ-3-27.11/03598) - раствор в аэрозольной упаковке, содержащий в 100 г 0,42 г йода, 0,9 г йодида калия, а в качестве вспомогательных веществ цетостеариловый спирт, лаурилсульфат натрия, пропиленгликоль и пропано-бутановую смесь. Препарат не рекомендуется применять беременным

животным, а также раньше 4 недель после родов. Назначают 2-3 раза с интервалом в 7 дней.

Действующим веществом в обоих препаратах является йод, а пенообразующее вещество делает возможным его воздействие на всю внутреннюю поверхность матки, создаёт гиперемию и способствует очищению матки от воспалительного экссудата. Аэрозоли выпускают в однодозовых баллонах с аппликатором для внутриматочного введения. Введение препарата производится после дезинфекции наружных половых органов и предварительного массажа матки.

Возможно, малочисленность на рынке ветеринарных препаратов пенных аэрозолей связана с тем, что теоретические основы пенообразования в фармацевтической технологии не достаточно развиты. Так, газо-жидкостные дисперсные системы содержат в себе не полностью известные поведенческие характеристики, к ним нельзя предъявлять требования качества, предъявляемые к другим лекарственным формам, например, к аэрозолям или спреям [О.И. Терешкина и др., 2006; З.Д. Хаждиева, 2006; И.В. Сакаева и др., 2014].

Согласно дисперсологической классификации, аэрозоли – это дисперсные системы с газообразной дисперсионной средой и жидкой или твёрдой дисперсной фазой, а пены – высококонцентрированные дисперсные системы с газовой дисперсной фазой и жидкой или твёрдой дисперсионной средой [А.Д. Зимон, 2001]. Это несоответствие требует изменений в области классификации лекарственных форм.

В настоящее время фармацевтическая промышленность выпускает лекарственные пены в герметичных резервуарах, в соответствии с требованиями фармакопеи для препаратов под давлением, а основные критерии оценки качества отвечают Государственной фармакопее Российской Федерации XIII, т. 2, ОФС.1.4.1.0002.15 «Аэрозоли и спреи». Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации и Британской фармакопее контроль качества аэрозолей включает в себя оценку давления в упаковке (если пропеллент - сжиженный газ), герметичности упаковки, проверку клапана, определение процента выхода

содержимого упаковки, средней массы дозы, количества доз в упаковке, однородности массы. Для дозированных аэрозолей, содержащих эмульсии или суспензии, проводят испытания на однородность дозирования. Пены, полученные из аэрозольных упаковок, согласно Британской фармакопее, оцениваются по следующим показателям: относительная плотность пены, продолжительность расширения и стерильность [British Pharmacopoeia, 2009].

Р.А. Sanders [1970] предлагает оценивать свойства эмульсий и пен по следующим критериям: 1. Вязкость эмульсий; 2. Стабильность; 3. Тип выдачи из баллона; 4. Стабильность и время жизни пен; 5. Упругость пен; 6. Высушиваемость пены в процентах во времени; 7. Смачивающие свойства пен; 8. Плотность пен; 9. Вязкость пен; 10. Дисперсность пен.

З.Д. Хаджиева [2007] считает, что пены необходимо характеризовать по внешнему виду, типу выдачи из упаковки (плавный или прерывистый), стабильности и времени жизни, упругости, высушиваемости (в % во времени), смачивающим свойствам, плотности, вязкости и дисперсности.

Структура пены зависит от физико-химического состава компонентов и их соотношения с пропеллентом. Качество разрабатываемого препарата определяется правильным выбором пропеллента, действующих и вспомогательных веществ, материала баллона и деталей клапанно-распылительной системы, отсутствием взаимодействия содержимого и упаковки.

Пены относятся к концентрированным и высококонцентрированным дисперсным системам, в которых пузырьки соприкасаются друг с другом и лишены возможности свободного перемещения. Пузырьки дисперсной фазы размером 1-3 мм могут иметь сферическую, полиэдрическую и ячеистую структуру (промежуточную). Пену рассматривают как систему из плёнок, которые контактируют друг с другом. Плёнки жидкости между пузырьками образуют треугольники Плато. В местах стыков пленок образуются утолщения, которые называются каналами. Четыре канала, сходясь в одной точке, образуют узлы. Жидкие пленки плоскопараллельны, а вблизи каналов утолщены и вогнуты. В слое жидкости, разделяющей пузырьки пены, возникает расклинивающее

давление, а внутри пузырьков – капиллярное. Жидкость в местах соединения находится под гидростатическим давлением, пониженным по сравнению с давлением в плоских участках на величину капиллярного давления. Чем тоньше плёнка, тем медленнее протекает жидкость. Капиллярное давление вызывает отток жидкости из плёнок в каналы, что вызывает утончение плёнок, размер и количество пузырьков сокращается и пена разрушается. Одновременно происходит диффузия газов из мелких пор в крупные вследствие утончения жидкости между пузырьками. В результате происходит перестройка пены – узлы и каналы перемещаются, а пена разрушается [В.К. Тихомиров, 1983; З.Д. Хаджиева, 2007].

В зависимости от состава дисперсионной среды различают пены водные, водно-спиртовые и неводные. В водных пенах дисперсионной средой является вода; концентрация пропеллента (дифтордихлорметан, пропан, бутан, изобутан, азот, окись азота, метиленхлорид) составляет 3,5-89%, в большинстве случаев - 10-20%. Водно-спиртовые представляют собой гомогенную смесь и состоят из воды, этилового спирта (до 50%), ПАВ и пропеллента (хладон 12 или смесь 12 и 114 в соотношении 40:60). При этом пенообразователь должен быть растворим в системе вода-спирт или вода-спирт-пропеллент. В зависимости от соотношения вода/спирт и ПАВ пены могут быть устойчивыми или быстроразлагающимися. При применении данного типа пен отсутствует эффект местного охлаждения. Неводные пены содержат органические жидкости (растительное или минеральное масло, гликоли и др.): хорошо растворимые в пропелленте малостабильны (или не дают пену вообще); плохорастворимые дают наилучшую пену, имеют большую вязкость и по внешнему виду напоминают крема. Свойства пен определяются типом масла и его вязкостью. В пены можно вводить вещества чувствительные к влаге. Смесь пропеллента и масла снижают давление в баллоне, что требует тщательного подбора пропеллента для полной эвакуации содержимого [В.И. Чуешов и др., 2002].

Под устойчивостью пен понимается способность системы сохранять своё первоначальное состояние. Пены обладают агрегативной и седиментационной

устойчивостью. Агрегативную устойчивость характеризует скорость уменьшения в единице объема пены удельной поверхности или увеличение размеров пузырьков, что зависит от природы и концентрации пенообразователя. При недостаточной концентрации дисперсной фазы в препарате образуются шарообразные пузырьки, которые способны к перемещению (всплытию) и обуславливают седиментационную неустойчивость пен.

Фактором, влияющим на стабильность пен, является размер пузырьков. При диффузии газа через плёнку из более мелких пузырьков образуются более крупные; размер мелких пузырьков уменьшается, а более крупных увеличивается.

Пены отличаются вязкостью, подвижностью и способностью к изменению поверхности раздела фаз: снижение поверхности раздела фаз сокращает время существования пены. Характеристики пен зависят от концентрации пенообразователя, диэлектрической проницаемости, рН среды, вязкости раствора, поверхностного натяжения, расклинивающего давления, концентрации и типа пропеллента, наличия др. веществ [П.М. Кругляков, и др., 1990; В.И. Чуешов и др., 2002; И.С. Чекман и др., 2013].

В рецептуру препарата включают корригенты (сахар, лимонная кислота, сорбит, эфирные масла, тимол, ментол и др.); антиоксиданты (бутилокситолуол, бутилоксианизол, витамин Е, аскорбиновая кислота, трилон Б и др.); antimicrobные консерванты (метилпарагидроксибензоат, натрия пропилпарагидроксибензоат, этилпарагидроксибензоат, сорбиновая и бензойная кислоты, натрия бензоат, этоний, катамин АБ и др.) и т.д.

Для сохранения устойчивости пены необходимо использовать поверхностно-активные вещества (ПАВ). В качестве вспомогательных средств используют катионоактивные, анионоактивные и неионогенные ПАВ: кислоты, спирты, фенолы, амины, эфиры, глицериды или эфиры высокомолекулярных жирных кислот и другие. Для использования ПАВ в качестве пенообразователей в технологии получения аэрозольных пен учитывают: скорость образования определённого объёма пены, предельное количество пены, устойчивость к различным факторам и естественному «старению», измерение скорости стекания

жидкости из плёнок, консистенция и величина пузырьков пены и распределение их по размеру, а также определение плотности, кратности пен, отношение жидкой фазы к объёму раствора. Для неионогенных ПАВ определяют ГЛБ (оптимально 8-16) [А.И. Теньцова и др., 1980; М.Ю. Плетнёв, 2002; T. Fujii et al., 2008].

ПАВ изменяют структуру поверхности границы фаз, способствуют адсорбции молекул тонком слое жидкости, изменяя статическое и динамическое поверхностное и межфазовое натяжение. Кроме того, в тонком слое возникает расклинивающее давление, которое препятствует утончению плёнки. В результате замедляется отток жидкости из пены, увеличивается её устойчивость, что увеличивает срок жизни.

На устойчивость пен влияет термодинамический фактор. У пен, образованных ионными стабилизаторами, расклинивающее действие может быть в результате отталкивания двойных электрических слоёв, образованных ионами пенообразователя в растворе около обеих поверхностей плёнки [Г.С. Башура и др., 1978].

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) способны влиять на абсорбцию активнодействующих веществ, которая проявляется не только в повышении смачиваемости поверхности и изменении свойств абсорбционных мембран, но и в способности сольубилизировать гидрофобные вещества. ПАВ воздействуют на мембрану растворением и выделением фосфолипидов, что изменяет структуру мембраны, которая становится проницаемой.

Лучшее смачивание достигается небольшим количеством ПАВ, которого достаточно для ускорения растворения многих гидрофобных веществ: в результате перехода менее растворимого вещества в раствор повышается его биодоступность.

ПАВ в растворе могут существовать в молекулярной и коллоидно-мицеллярной форме. Переход из одного состояния в другое совершается в определённой концентрации, в точке перехода – ККМ (критическая концентрация мицеллообразования), характерной для каждого ПАВ. Мицеллообразование изменяет объёмные свойства растворов ПАВ: плотность, электропроводность,

коэффициент преломления, осмос, мутность и т.д. Когда концентрация ПАВ превышает критическую концентрацию мицеллообразования, активное вещество фиксируется в мицеллах, что затрудняет его диффузию к месту абсорбции. Абсорбция замедляется, поскольку мицеллы образуют коллоидную фазу, из которой действующее вещество высвобождается кинетикой псевдонулевого порядка.

Использование в качестве растворителей этанола, глицерина, димексида и т.п., способствует повышению степени дисперсности лекарственных веществ и улучшает их диффузию [А.И. Тихонов и др., 2003; P.C. Braga et al., 2009].

З.Д. Хаджиевой [2007] доказано, что количество пропеллента в препарате влияет на вязкость, время жизни, смачивающую способность, плотность, процент и тип выдачи пены из баллона, что в конечном итоге обеспечивает стабильность, высокую степень высвобождения действующего вещества и пролонгированный эффект.

2.4 Заключение по обзору литературы

Увеличение производства животноводческой продукции напрямую зависит от стабилизации роста продуктивности коров и свиноматок. Это требует создания не только соответствующих условий содержания и кормления животных, чёткой селекционной работы, но и квалифицированной работы ветеринарных специалистов, профилактики и лечения системной и органной патологии, в том числе гнойно-воспалительных заболеваний репродуктивных органов животных. Вследствие этого, как в нашей стране, так и за рубежом, уделяют большое внимание и постоянно ведут разработку методов и средств терапии и профилактики акушерско-гинекологических болезней.

В настоящее время наиболее эффективная терапия сельскохозяйственных животных с гнойно-воспалительными заболеваниями репродуктивных органов включает в себя комплексную схему, направленную на стимуляцию сократительной функции матки, повышение резистентности организма и регенеративных процессов в эндометрии, с обязательным использованием

антимикробных средств. Проблема использования антимикробных препаратов при лечении животных связана с появлением антибиотикорезистентной микрофлоры, что ставит перед необходимостью вести поиск и разрабатывать новые лекарства.

Местное использование химиотерапевтических средств обеспечивает наилучший эффект, поэтому для внутриматочного введения выпускают множество препаратов в виде жидких, мягких и твёрдых лекарственных форм: растворов, гелей, суппозитория и т.п. Однако, каждая из них, наряду с высокой эффективностью, не лишена определённых недостатков. Считается, что применение тонкодисперсных веществ обеспечивает выздоровление в 2-3 раза быстрее, чем при обычном лечении [О.Л. Акулинич и др., 2014; В.И. Михалёв и др., 2014; К.И. Бодык и др., 2016; P.N. Catania et al., 1975]. Лекарства в форме аэрозоля более эффективны. Растворы не обладают пролонгированным эффектом и хуже дозируются, мягкие лекарственные формы не способны проникать в складки слизистых и более глубокие слои эндометрия, а суппозитории - оказывать длительное действие (по сравнению с пенами). В то же время пены при низкой удельной массе способны занимать большой объём, что позволяет обрабатывать большие поверхности, при этом концентрация лекарственных веществ в межплёночной жидкости остаётся высокой. Пена безболезненно наносится, не нарушает тепло и газообмен и при этом создаёт барьер для инфицирования раны извне. ПАВ способствуют хорошей адгезии и очищению поражённой поверхности от некротических тканей [В.И. Чуешов и др., 2002].

Пены широко применяют в гуманной медицине, однако, в ветеринарии выбор препаратов, по-прежнему, крайне мал. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано всего два импортных пенных аэрозоля для внутриматочного введения, которые обладают антисептическим действием и предназначены для крупного рогатого скота с акушерско-гинекологической патологией: Йодофарм (VETPROM AD, Болгария) и Йодофоам 45,2 (Duna-Coop Kft, Венгрия).

В этой связи, разработка отечественных препаратов в форме пенных аэрозолей для лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний матки у коров и свиноматок является крайне актуальной и перспективной задачей ветеринарной фармакологии. Её актуальность особенно возрастает в плане решения проблемы импортозамещения лекарственных средств.

3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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 НПП «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 (ООО «Воронежпищепродукт», ЗАО «Манино», ООО «СП Вязноватовка», ООО «Еринское», ЗАО «Лосевское», ЗАО Должанское, ЗАО «Геринское», ЗАО «Юдановские просторы», ОАО «Комбинат мясной Калачеевский», ООО «Возрождение», ООО «Инвест АПК»), Липецкой (ООО «Агрофирма Трио», СХПК «Тележенка», ЗАО «Русская АПК», ООО «Племенное»), Белгородской (ЗАО «Должанское»), Тамбовской (ООО «Никифоровское», племзавод им. Ленина), Тульской (КФХ «Раздолье», КФХ «Прохорка», СХА «Весна») и Орловской областей (ОАО «Агрофирма Ливенское мясо»).

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 Российской Федерации 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 porcinius*, *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 [Государственная Фармакопея Российской Федерации 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 [Государственная Фармакопея Российской Федерации 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 внутривенном 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. Некропсия 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 (по 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 инстилляции 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 фиксировали 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 аллергизирующих 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 геморрагии, 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 аллергизирующих 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, с возможным развитием гнойного офтальмита – 3 балла.

Изучение аллергизирующих 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. Внутривентриально вводили 5 мл среды 199, аккуратно вскрывали брюшную полость и собирали экссудат в сосуд с гепарином. Тучные клетки отделяли трёхкратным центрифугированием с фосфатным буфером (рН=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. М., 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 трёхкратно 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 волосяной 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 примапен 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 примапена (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 примапена 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 обращённофазовая, Symmetry C₁₈, 3,9x150 mm, 5 µm; температура термостатирования хроматографической колонки +25°C; скорость потока элюента - 0,5 мл/мин; объем вводимой пробы - 20 мкл. Параметры хроматографирования для норфлоксацина: элюент - 10% n,n-диметилформамида в 0,01M лимонной кислоте (pH 2,5) и ацетонитрил (94:6); длина УФ волны детектирования - 277 нм, время выхода пика ≈ 4 мин.; общее время детектирования - 7 мин. Параметры хроматографирования для диоксидина: элюент (pH 2,5) - ацетонитрил / 0,1 N раствор лимонной кислоты в соотношениях 40:60; длина УФ волны детектирования - 254 нм; время выхода пика ≈ 5 мин.; общее время детектирования - 8 мин. Параметры хроматографирования для флорфеникола: колонка обращённофазовая Shim-pack XR-ODS; 75x3,0 mm, 2,2 µm; 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 ≈ 3,6-3,7 мин.; общее время детектирования - 10 мин.

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 диоксидина 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 пенными 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, объём 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 метрит-мастит-агалактии (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 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 Российской Федерации XI, вып. 1, С. 199-251].

4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

4.1.1 Экспериментальное и теоретическое обоснование антибактериального состава препаратов

Для определения состава действующих веществ в разрабатываемых препаратах был определён состав микрофлоры, выделенной из половых путей коров и свиноматок с послеродовыми заболеваниями воспалительного характера, и определена её чувствительность к антимикробным средствам.

При микробиологическом исследовании экссудата матки больных острым послеродовым эндометритом коров (n=184) было установлено, что микрофлора в основном представлена ассоциациями грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (в зависимости от хозяйства до 87,0%) и микроскопических грибов. 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 spp.* – 7,6-16,3%, *Proteus spp.* – 3,3-18,5%, *Bacillus subtilis* – 2,1-3,1%. Грибная микрофлора (*Candida spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*) была выделена в 12,5-46,7% случаев.

Микробный пейзаж матки больных метрит-мастит-агалактией 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% и *Proteus spp.* – 6,9-12,1%. Грибная микрофлора (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*) была выделена в 8,6-16,1% случаев.

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%. Менее 10% от числа выделенных культур были чувствительными к пенициллинам и макролидам.

На основании фундаментальных и прикладных исследований по фармацевтической технологии и антибиотикотерапии, а также результатов теоретических и экспериментальных исследований по совместимости различных лекарственных субстанций в одной лекарственной форме, был разработан ряд комплексных антибактериальных препаратов в форме пенных аэрозолей, предназначенных для лечения и профилактики послеродовых заболеваний воспалительного характера у коров и свиноматок. В рецептуру препарата № 1 (виапен) в качестве антимикробных субстанций вошли норфлоксацина гидрохлорид и диоксидин, № 2 (флоропен) - флорфеникол и линкомицина гидрохлорид, № 3 (примапен) – гентамицина сульфат и диоксидин, а также вспомогательные вещества.

4.1.2 Разработка рецептуры и технологии пенных аэрозолей

Сложность создания пенных аэрозолей состоит в том, что структура и стабильность пены зависит от физико-химического состава компонентов и их соотношения с пропеллентом. Качество аэрозоля определяется правильным выбором пропеллента, действующих и вспомогательных веществ, материала баллона и деталей клапанно-распылительной системы, отсутствием взаимодействия содержимого и упаковки.

Рецептура пенных аэрозолей была разработана по следующей схеме: 1. определены действующие вещества препаратов (установлены их физико-химические свойства, совместимость и др.); 2. подобраны растворители для действующих веществ; 3. определено качество дисперсионной среды и фазы; 4. выбран эмульгатор и способ его введения в препарат; 5. определено оптимальное соотношение между вспомогательными веществами; 6. разработана технология производства препаратов; 7. выбран пропеллент и экспериментально определено его оптимальное количество.

На основании литературных данных и экспериментальных исследований в качестве вспомогательных веществ в состав пенных аэрозолей в результате вошли: - вода дистиллированная – растворитель, водная фаза эмульсии; -

диметилсульфоксид - биполярный апротонный растворитель, способствует образованию комплексов, в результате изменяется скорость абсорбции; - монопропиленгликоль - растворитель для гидрофильных и гидрофобных веществ; - масло растительное – пролонгатор, вещество для создания гидрофобного слоя, масляная фаза эмульсии; - глицерин - растворитель, пластификатор, стабилизатор, способствует смешиванию, повышению растворимости; - воск эмульсионный - эмульгатор, эмомент, повышает вязкость основы, способствует увеличению высвобождения и абсорбции; - эмульгатор Дракорин 100 SEP - анионный неэтокселированный эмульгатор м/в на основе растительного сырья, позволяет получать эмульсии холодным способом; - стеариновая кислота – стабилизатор, консервант, обеспечивает равномерное распределение средств в основе; - хладон 12 или 134a – пропеллент, пенообразователь.

Технология изготовления комплексных антимикробных препаратов в форме пенного аэрозоля выглядит следующим образом. В реактор с контурным отоплением и охлаждением ($40-60\pm 5^\circ\text{C}$) роторно-кавитационной установки загружается рецептурное количество воды и диметилсульфоксида. Затем в него последовательно с интервалом в 10 минут вносят действующие вещества препаратов и смешивают при нагревании до полного растворения компонентов.

В плавильный котёл, обогреваемый парами и снабжённый высокооборотистой мешалкой, помещают растительное масло, глицерин, пропиленгликоль, вносят тугоплавкие компоненты (воск эмульсионный и стеариновую кислоту) и расплавляют при температуре $65-70^\circ\text{C}$.

Ввод жировой основы из плавильного котла осуществляется непосредственно в камеру озвучивания в процессе прохождения через неё смеси водного раствора и жировой основы. Затем готовый концентрат подаётся в бункер, где расфасовывается в алюминиевые аэрозольные баллоны, которые обкатываются и заправляются расчётным количеством хладона 12 или 134a. После этого препарат направляется на маркировку.

4.1.3 Определение оптимального соотношения антимикробных веществ

4.1.3.1 Оптимальное соотношение действующих веществ в виапене

Для дальнейшего исследования были созданы композиции с различным соотношением действующих веществ (таблица 1) в препарате виапен и проведено изучение их антимикробной активности.

Таблица 1 - Состав различных композиций препарата виапен (в мас.%)

Препарат	Норфлоксацина гидрохлорид	Диоксидин	Вспомогательные вещества
Композиция 1 (К1)	3,50	1,00	до 100,0
Композиция 2 (К2)	3,00	1,50	до 100,0
Композиция 3 (К3)	2,25	2,25	до 100,0
Композиция 4 (К4)	1,50	3,00	до 100,0
Композиция 5 (К5)	1,00	3,50	до 100,0

Для определения оптимального соотношения действующих веществ в виапене антимикробную активность композиций сравнивали с активностью исходных антибактериальных компонентов (норфлоксацином и диоксидином) (рисунки 1 и 2).

Результаты изучения антимикробной активности норфлоксацина гидрохлорида, диоксидина и их различных композиций, представленные на рисунках 1 и 2, свидетельствуют о том, что норфлоксацина гидрохлорид обладает большей антимикробной активностью по отношению к *Escherichia coli* 866 и *Staphylococcus aureus* 209P, чем диоксидин.

В отношении *Escherichia coli* 866 МБсК композиций №2 и №4 по сравнению с норфлоксацином (0,39 мкг/мл) снизилась в 2 раза, а композиций №1, №3 и №5 - не изменилась. По сравнению с активностью диоксидина (6,25 мкг/мл) МБсК композиций №2 и №4 снизилась в 32 раза, а композиций №1, №3 и №5 – в 16 раз.

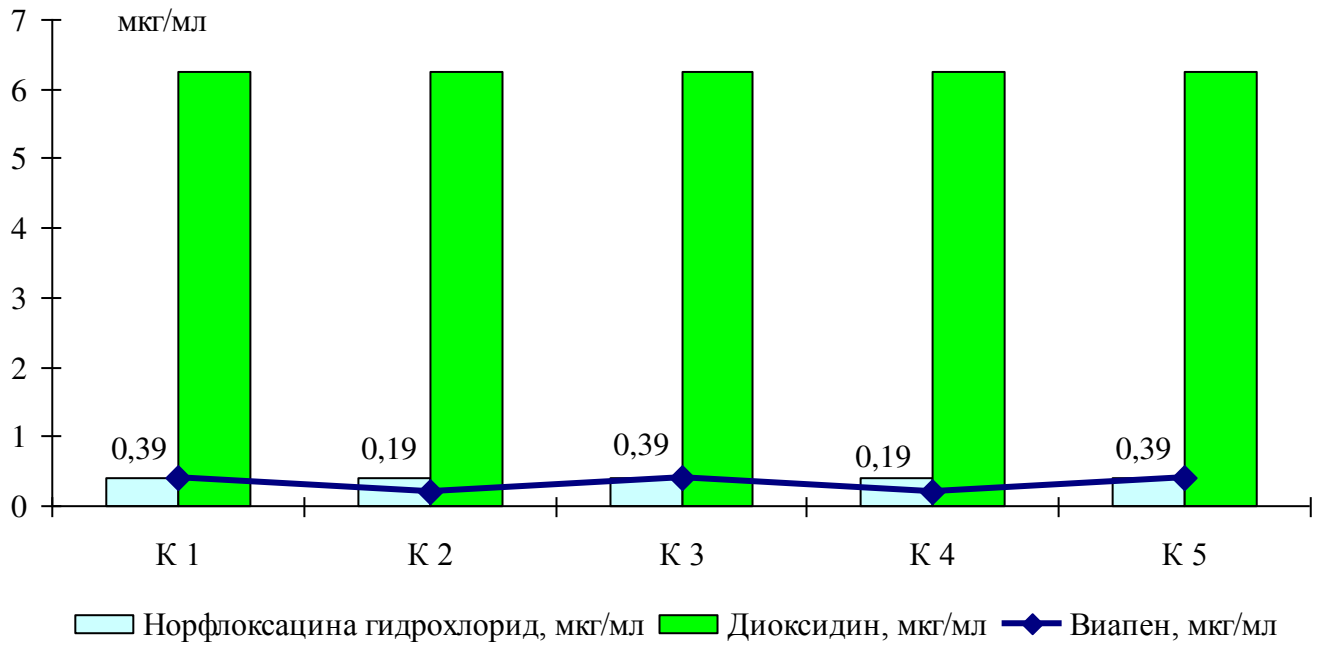


Рисунок 1 – Антимикробная активность норфлоксацина гидрохлорида, диоксидина и их композиций по отношению к *Escherichia coli* 866

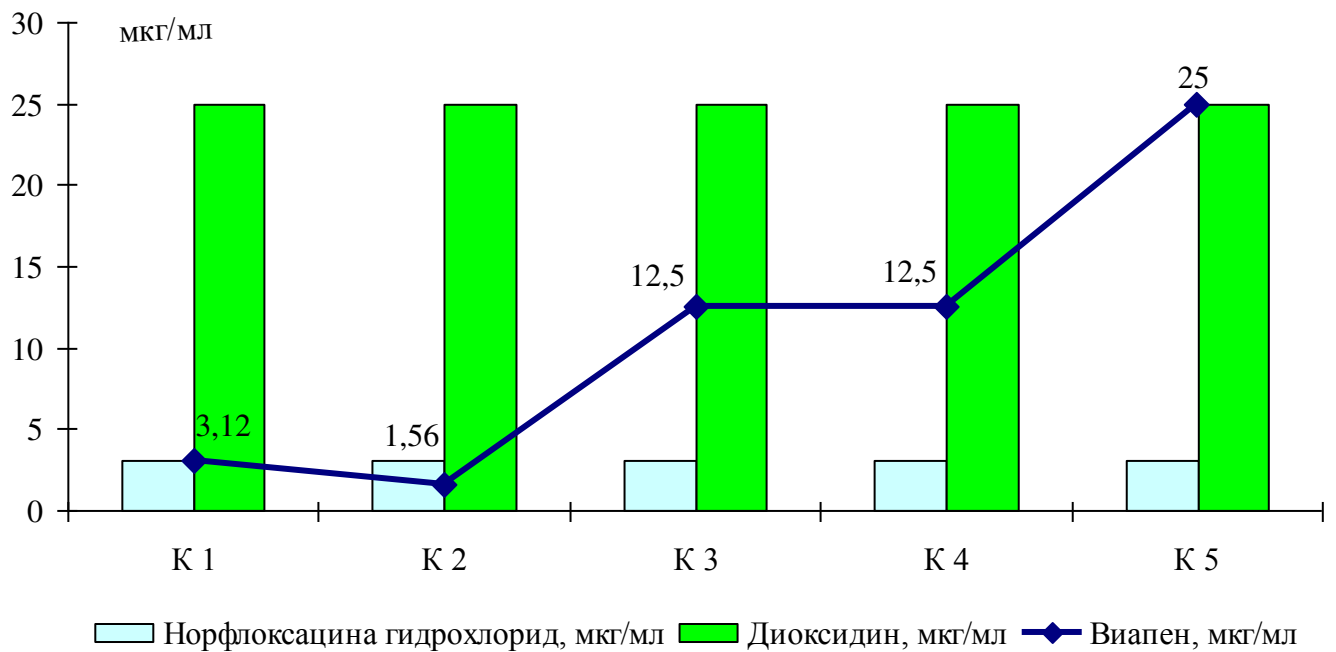


Рисунок 2 - Антимикробная активность норфлоксацина гидрохлорида, диоксидина и их композиций по отношению к *Staphylococcus aureus* 209P

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

В отношении *Staphylococcus aureus* 209P МБсК композиции №2 по сравнению с норфлоксацином (3,12 мкг/мл) снизилась в 2 раза, композиции №1 - не изменилась, композиций №3 и №4 увеличилась в 4 раза, а композиции №5 – в 8 раз. По сравнению с активностью диоксицина (25,0 мкг/мл) МБсК композиции №2 снизилась в 16 раз, композиции №1 – в 8 раз, композиций №3 и №4 – в 2 раза, а композиция №5 – не изменилась.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

На основании полученных данных установлено, что наиболее выраженным антимикробным действием обладала композиция №2, которая была взята за основу препарата виапен и более детально изучена. Совместное применение норфлоксацина гидрохлорида и диоксицина в соотношении 3,0:1,5 позволило снизить МБсК в отношении изученной микрофлоры, что свидетельствует о синергическом действии составляющих компонентов препарата.

4.1.3.2 Оптимальное соотношение действующих веществ в флоропене

Для дальнейшего исследования были созданы композиции с различным соотношением действующих веществ (таблица 2) в препарате флоропен и проведено изучение их антимикробной активности.

Таблица 2 - Состав различных композиций препарата флоропен (в мас.%)

Препарат	Флорфеникол	Линкомицина гидрохлорид	Вспомог. вещества
Композиция 1 (К1)	3,0	1,0	до 100,0
Композиция 2 (К2)	2,5	1,5	до 100,0
Композиция 3 (К3)	2,0	2,0	до 100,0
Композиция 4 (К4)	1,5	2,5	до 100,0
Композиция 5 (К5)	1,0	3,0	до 100,0

Для определения оптимального соотношения действующих веществ в флоропене антимикробную активность композиций сравнивали с активностью исходных антибактериальных компонентов.

Результаты изучения антимикробной активности флорфеникола, линкомицина и их различных композиций, представленные на рисунках 3-5, свидетельствуют о том, что флорфеникол обладает большей антимикробной активностью по отношению к *Escherichia coli* 866, *Staphylococcus aureus* 209P и *Enterococcus faecalis* (п), чем линкомицина гидрохлорид.

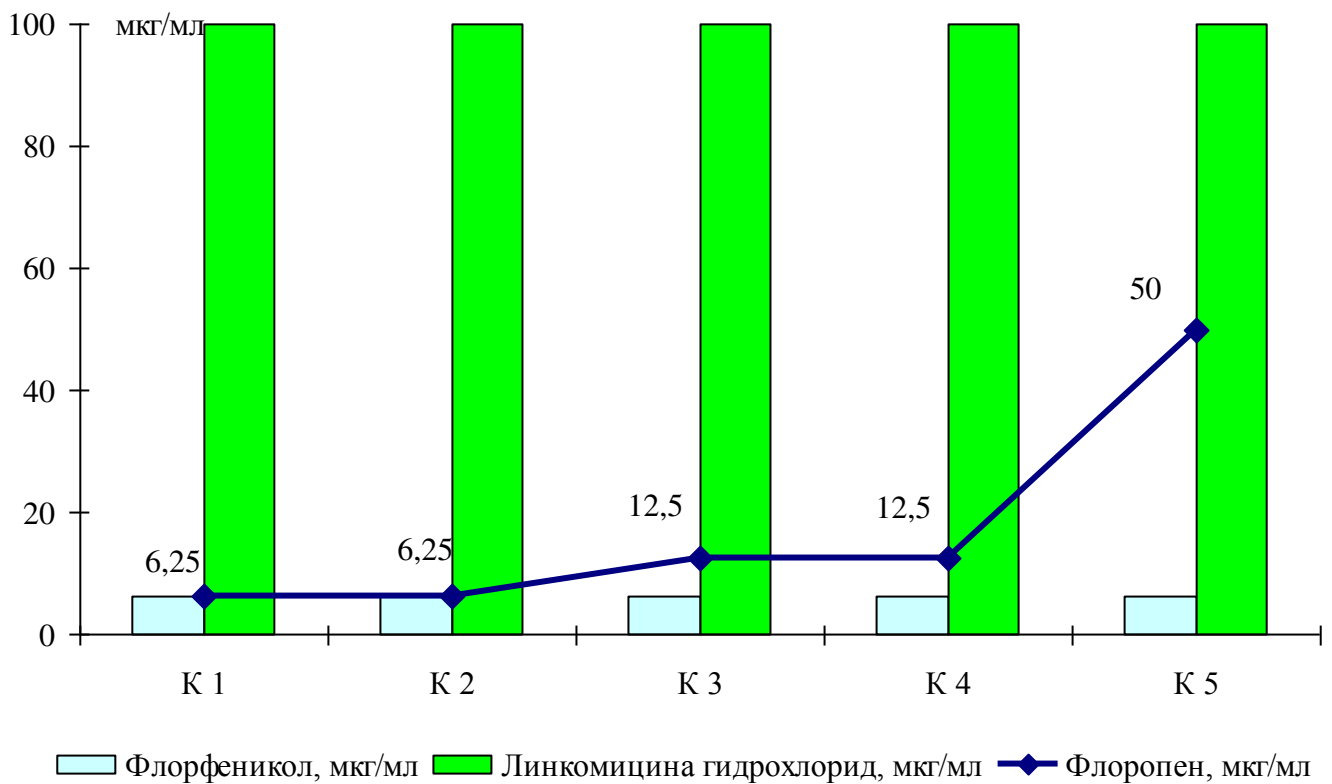


Рисунок 3 - Антимикробная активность флорфеникола, линкомицина и их композиций по отношению к *Escherichia coli* 866

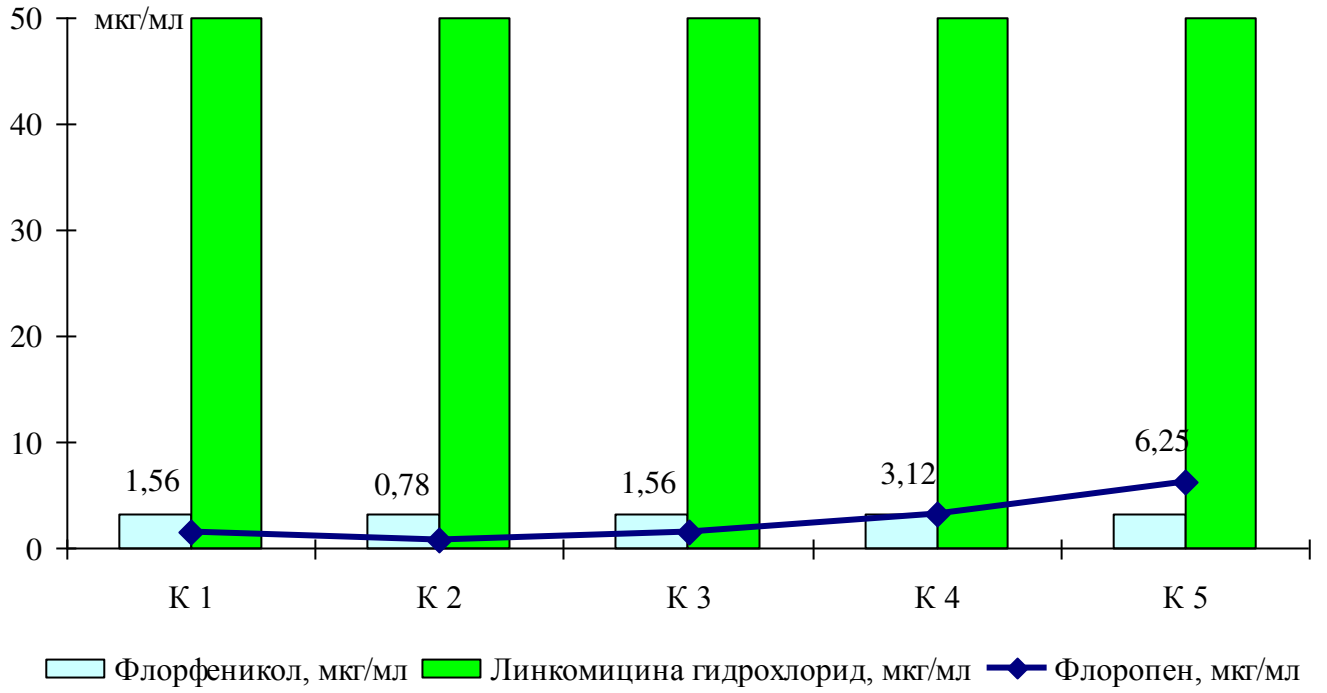


Рисунок 4 - Антимикробная активность флорфеникола, линкомицина гидрохлорида и их композиций по отношению к *Staphylococcus aureus* 209P

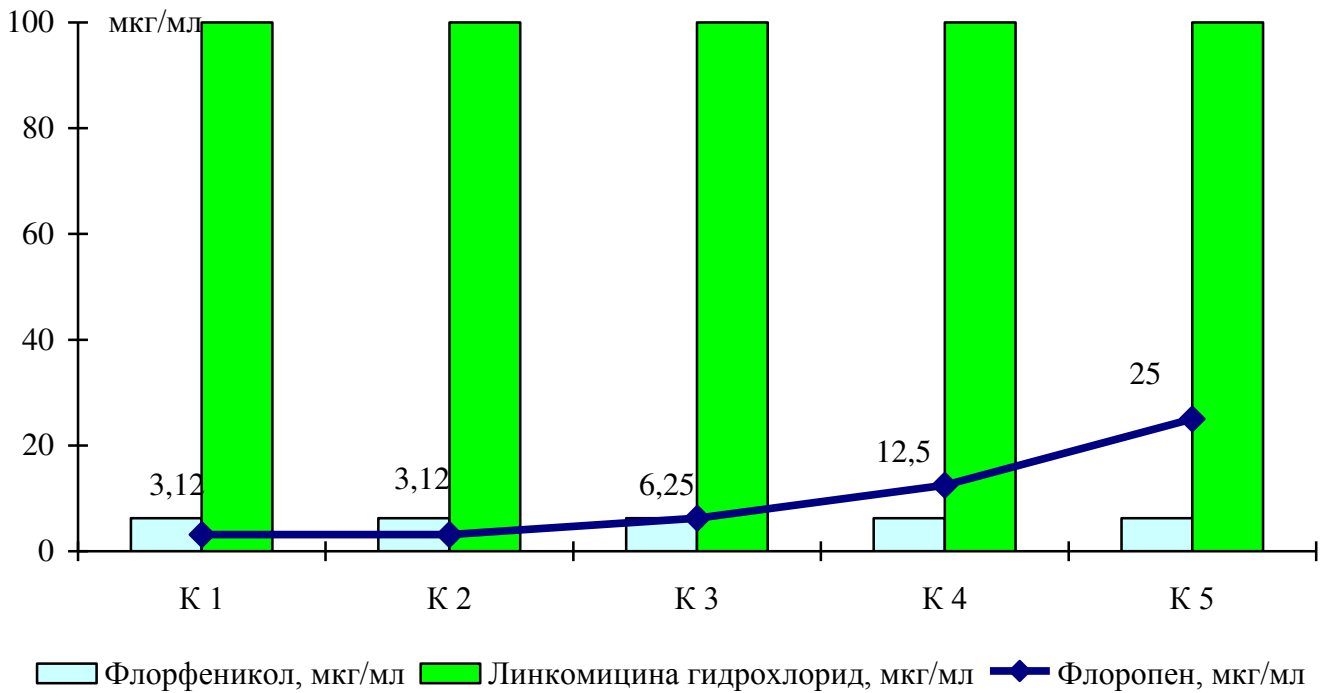


Рисунок 5 - Антимикробная активность флорфеникола, линкомицина и их композиций по отношению к *Enterococcus faecalis* (п)

В отношении *Escherichia coli* 866 МБсК композиций №1 и №2 по сравнению с флорфениколом (6,25 мкг/мл) не изменилась, композиций №3 и №4 увеличилась в 2 раза, а композиции №5 – в 8 раз. По сравнению с активностью линкомицина гидрохлорида (100,0 мкг/мл) МБсК композиций №1 и №2 снизилась в 16 раз, композиций №3 и №4 – в 8 раз, а композиции №5 – в 2 раза.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

В отношении *Staphylococcus aureus* 209P МБсК композиций №1 и №3 по сравнению с флорфениколом (3,12 мкг/мл) снизилась в 2 раза, композиции №2 – в 4 раза, композиции №4 осталась не изменой, а композиции №5 – возросла в 2 раза. По сравнению с активностью линкомицина (50,0 мкг/мл) антимикробная активность композиций №1 и №3 увеличилась в 32 раза, композиции №2 - в 64 раза, композиции №4 - в 16 раз и композиции №5 - в 8 раз.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

В отношении *Enterococcus faecalis* (п) по сравнению с активностью флорфеникола (6,25 мкг/мл) МБсК композиций №1 и №2 снизилась в 2 раза, композиции №3 не изменилась, композиций №4 и №5 – возросла в 2 и 4 раза соответственно. По сравнению с активностью линкомицина (100,0 мкг/мл) антимикробная активность композиций №1 и №2 возросла в 32 раза, композиции №3 - в 16 раз, композиции №4 - в 8 раз, а композиции №5 – в 4 раза.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

На основании полученных данных установлено, что наиболее выраженным антимикробным действием обладает композиция №2, которая была взята для дальнейших исследований и более детально изучена. Совместное применение флорфеникола и линкомицина гидрохлорида в соотношении 2,5:1,5 позволило снизить МБсК в отношении изученной микрофлоры, что свидетельствует о синергическом действии составляющих компонентов препарата.

4.1.3.3 Оптимальное соотношение действующих веществ в примапене

Для дальнейшего исследования были созданы композиции с различным соотношением действующих веществ (таблица 3) в препарате примапен и проведено изучение их антимикробной активности.

Таблица 3 - Состав различных композиций препарата примапен (в мас.%)

Препарат	Гентамицин	Диоксидин	Вспомог. вещества
Композиция 1 (К1)	3,25	0,25	до 100,0
Композиция 2 (К2)	3,0	0,5	до 100,0
Композиция 3 (К3)	2,5	1,0	до 100,0
Композиция 4 (К4)	2,0	1,5	до 100,0
Композиция 5 (К5)	1,5	2,0	до 100,0
Композиция 6 (К6)	1,0	2,5	до 100,0
Композиция 7 (К7)	0,5	3,0	до 100,0

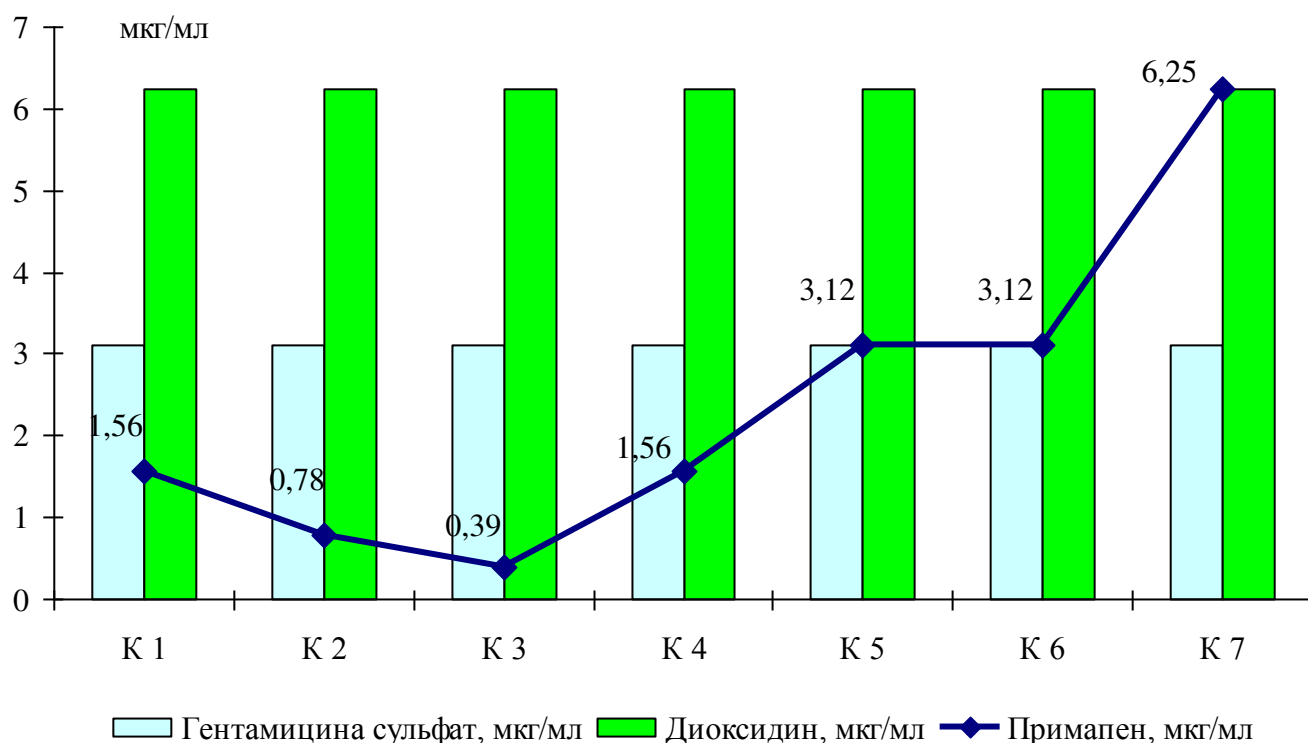


Рисунок 6 - Антимикробная активность гентамицина сульфата, диоксидина и их композиций по отношению к *Escherichia coli* 866

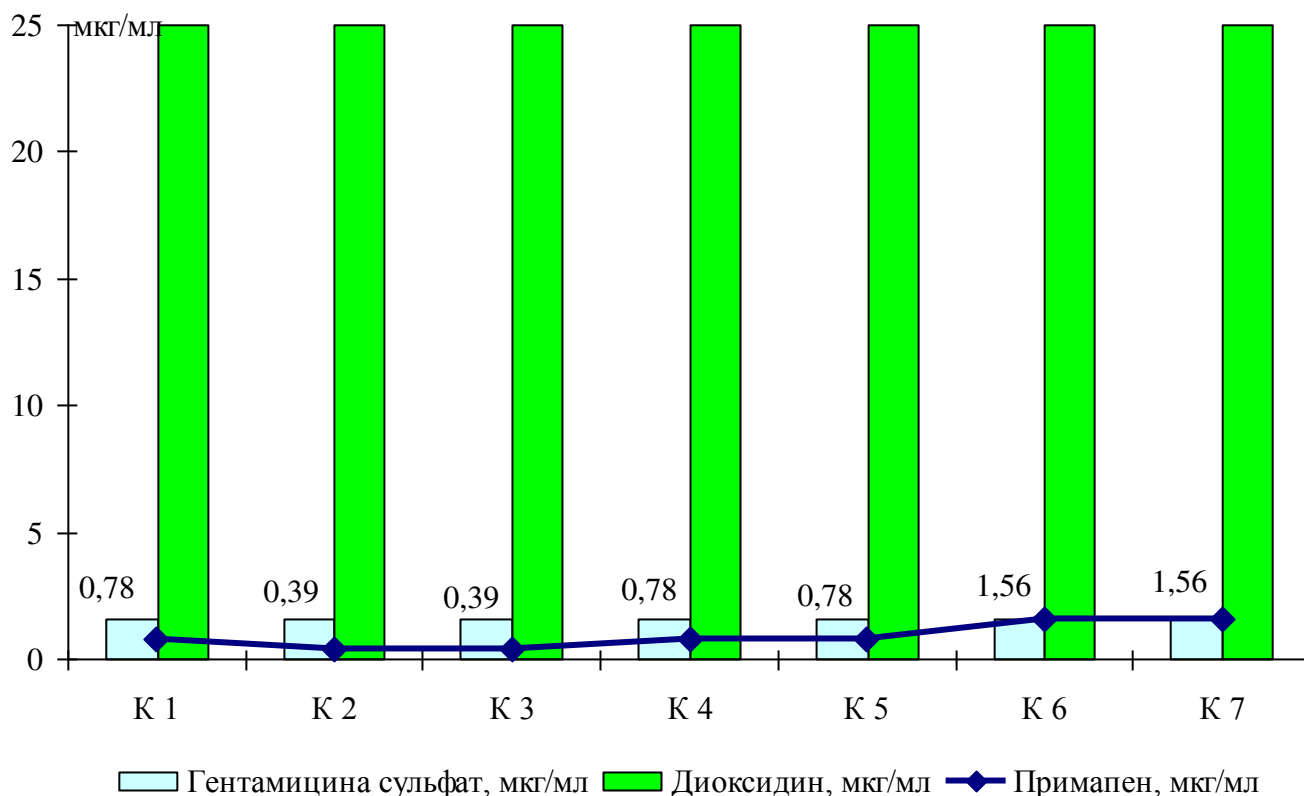


Рисунок 7 - Антимикробная активность гентамицина сульфата, диоксидина и их композиций по отношению к *Staphylococcus aureus* 209P

Для определения оптимального соотношения действующих веществ в примапене антимикробную активность различных композиций сравнивали с активностью исходных антибактериальных компонентов.

Результаты изучения антимикробной активности гентамицина сульфата, диоксидина и их различных композиций, представленные на рисунках 6 и 7, свидетельствуют о том, что гентамицин обладает большей антимикробной активностью по отношению к *Escherichia coli* 866 и *Staphylococcus aureus* 209P.

В отношении *Escherichia coli* 866 МБсК композиций №1 и №4 по сравнению с гентамицином (3,12 мкг/мл) снизилась в 2 раза, композиций №2 и №3 – в 4 и 8 раз соответственно, композиций №5 и №6 – не изменилась, а композиции №7 – увеличилась в 2 раза. По сравнению с активностью диоксидина (6,25 мкг/мл) МБсК композиций №1 и №4 уменьшилась в 4 раза, композиций №2 и №3 – в 8 и

16 раз соответственно, композиций №5 и №6 – в 2 раза, а композиции №7 не изменилась.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

В отношении *Staphylococcus aureus* 209P МБСК композиций №1, №4 и №5 по сравнению с гентамицином (3,12 мкг/мл) снизилась в 2 раза, композиций №2 и №3 – в 4 раза, композиций №6 и №7 – не изменилась. По сравнению с активностью диоксидина (25,0 мкг/мл) МБСК композиций №1, №4 и №5 уменьшилась в 32 раза, композиций №2 и №3 – в 64 раза, композиций №6 и №7 – в 16 раз.

Минимальная бактерицидная концентрация всех изученных композиций превышала бактериостатическую в 2 раза.

На основании полученных данных установлено, что наиболее выраженным антимикробным действием обладает композиция №3, которая была взята для дальнейших исследований и более детально изучена. Совместное применение гентамицина и диоксидина в соотношении 2,5:1,0 позволило снизить МБСК в отношении изученной микрофлоры, что свидетельствует о синергическом действии составляющих компонентов препарата.

4.1.4 Методы качественного и количественного анализа препаратов

Создание лекарственного препарата предполагает определение сроков годности и обоснование оптимальных сроков и режимов хранения. При этом должны быть определены и стандартизированы свойства лекарственного препарата в соответствии с фармакопейными требованиями.

Для стандартизации и контроля качества комплексных антибактериальных препаратов, а также изучения стабильности при хранении, были использованы методы оценки лекарственного средства, предъявляемые к аэрозолям, включающие определение внешнего вида, проверки упаковки на герметичность, процент выхода содержимого из упаковки, подлинности и содержания действующих веществ, а также микробиологической чистоты.

Методы контроля:

- внешний вид и цвет определяли визуально. Виапен должен представлять собой эмульсию светло-желтого цвета, образующую при эвакуации из баллона пену светло-желтого цвета. Флоропен должен представлять собой эмульсию белого цвета, образующую при эвакуации из баллона пену белого цвета. Примапен должен представлять собой эмульсию желтого цвета, образующую при эвакуации из баллона пену желтого цвета;

- проверку упаковки на герметичность проверяли погружением в водяную баню. Не должно наблюдаться выделения пузырьков газа;

- выход содержимого упаковки проверяли весовым методом. Выход содержимого должен быть не менее 90%;

- объем и стабильность пены проверяли с помощью мерного цилиндра и секундомера, замеряя объем пены, образовавшейся после эвакуации препарата в цилиндр и засекая время ее стабильности. После удаления содержимого из баллона должно образовываться не менее 300,0 см³ пены (при фасовке 65 г) и не менее 600 см³ пены (при фасовке 130 г), стабильность которой должна быть не менее 30 минут;

- среднюю массу одной дозы проверяли весовым методом. Средняя масса одной дозы должна составлять 60 г. Отклонение в массе не должно превышать $\pm 10\%$;

- подлинность 2,3-Ди(гидроксиметил)хиноксалин-1,4-диоксида (диоксидина), гентамицина сульфата и норфлоксацина гидрохлорида определяли методом тонкослойной хроматографии по соответствию пятен на хроматограмме стандартов 2,3-Ди(гидроксиметил) хиноксалин-1,4-диоксида, гентамицина и норфлоксацина и испытуемого препарата;

- подлинность флорфеникола определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Время удержания флорфеникола в испытуемом образце должно соответствовать времени его удержания в стандартном образце;

- подлинность линкомицина определяли по развитию слабозеленого окрашивания с раствором нитропруссид натрия;

- массовую долю 2,3-Ди(гидроксиметил) хиноксалин-1,4-диоксида (диоксидина) определяли спектрофотометрическим методом (в качестве стандарта использовали стандарт организации);

- массовую долю гентамицина сульфата определяли спектрофотометрическим методом (в качестве стандарта использовали стандарт ВГНКИ);

- массовую долю норфлоксацина гидрохлорида определяли спектрофотометрическим методом (в качестве стандарта использовали стандарт организации);

- массовую долю флорфеникола определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (в качестве стандарта использовали стандартный образец флорфеникола, полученный в SIGMA-ALDRICH);

- массовую долю линкомицина гидрохлорида определяли микробиологическим методом диффузии в агар (в качестве стандарта использовали стандарт ВГНКИ);

- микробиологическую чистоту определяли методом мембранной фильтрации в соответствии с Государственной Фармакопеей XII, ч. 1, стр. 160 ОФС 42-0067-07 «Микробиологическая чистота». В 1,0 г препарата общее число аэробных бактерий и грибов суммарно должно быть не более 100, энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий должно быть не более 10 при отсутствии *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

По показателям качества пенные аэрозоли должны соответствовать характеристикам и нормам, указанным в таблице 4.

Таким образом, применяемые методы качественного и количественного анализа препаратов могут быть использованы для обеспечения контроля надлежащего качества лекарственных средств в процессе производства, хранения и применения.

Таблица 4 - Показатели контроля качества

Наименование показателя	Характеристика и норма
1	2
Общие требования	
Проверка упаковки на герметичность	Выдерживает испытания
Объем пены (не менее), см ³ :	
- при фасовке 65 г	300
- при фасовке 130 г	600
стабильность пены (не менее), мин	30
Выход содержимого из упаковки (не менее), %	90,0
Средняя масса одной дозы, г	60,0
Отклонение, % (не более)	±5,0
Микробиологическая чистота	Выдерживает испытания
Виापеп	
Внешний вид, цвет	Эмульсия светло-желтого цвета, образующая при выпуске из баллона пену светло-желтого цвета
Подлинность норфлоксацина гидрохлорида	Выдерживает испытания
Подлинность 2,3-Ди (гидроксиметил) хиноксалин-1,4-диоксида	Выдерживает испытания
Массовая доля норфлоксацина гидрохлорида, мг/г	30,0
Массовая доля 2,3-Ди (гидроксиметил)хиноксалин-1,4-диоксида, мг/г	15,0
Флоропен	

1	2
Внешний вид, цвет	Эмульсия белого цвета, образующая при выпуске из баллона пену белого цвета
Подлинность флорфеникола	Выдерживает испытания
Подлинность линкомицина гидрохлорида	Выдерживает испытания
Массовая доля флорфеникола, мг/г	25,0
Массовая доля линкомицина гидрохлорида, мг/г	15,0
Примапен	
Внешний вид, цвет	Эмульсия жёлтого цвета, образующая при выпуске из баллона пену жёлтого цвета
Подлинность гентамицина сульфата	Выдерживает испытания
Подлинность 2,3-Ди (гидроксиметил) хиноксалин-1,4-диоксида	Выдерживает испытания
Массовая доля гентамицина сульфата, мг/г	25,0
Массовая доля 2,3-Ди (гидроксиметил)хиноксалин-1,4-диоксида, мг/г	10,0

4.1.5 Изучение стабильности препаратов при хранении

Срок годности устанавливали по результатам исследований стабильности в условиях долгосрочного хранения препаратов при температуре $+5\pm 2$ °С, $+20\pm 2$ °С и $+25\pm 2$ °С в защищенном от света месте через 6, 12, 18 и 24 месяца.

Результаты стабильности показателей в условиях долгосрочного исследования при разных температурных режимах хранения представлены в таблицах 5-13.

Согласно полученным результатам, анализируемые показатели качества подопытных серий препаратов при температуре $+5^{\circ}\text{C}$ и $+20^{\circ}\text{C}$, соответствовали установленным нормам в течение 18 месяцев. При повышении температуры хранения до $+25^{\circ}\text{C}$ происходило количественное снижение антимикробных компонентов. Кроме того, при длительном хранении препаратов выпуск содержимого из баллона становился прерывистым и пена приобретала светло-коричневатый оттенок.

Таким образом, по результатам исследования установленный срок годности препаратов составлял 1,5 года при рекомендуемой температуре хранения от $+5$ до $+20^{\circ}\text{C}$.

Таблица 5 - Показатели качества Виапена (серия № 1, серия № 2, серия № 3) в условиях хранения при температуре +5±2°C

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена светло-желтого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена светло-желтого цвета
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	94,4±0,35	93,9±0,34	93,2±0,30	92,5±0,27*	90,5±0,58*
Объём пены: 1-дозовый баллон, см ³ 2-дозовый баллон, см ³	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	61,8 <10%	61,5 <10%	60,8 <10%	59,8 <10%	58,4 <20%
Подлинность норфлоксацина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля норфлоксацина, мг/г	30,4±0,31	30,1±0,35	29,9±0,37	29,4±0,31	28,7±0,24*
Массовая доля диоксидина, мг/г	15,1±0,20	15,0±0,18	14,6±0,20	14,3±0,12*	13,5±0,15*
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	23,3±3,3	23,3±8,8	26,7±3,3	36,7±8,8*
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus – отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 6 - Показатели качества Виапена (серия № 1, серия № 2, серия № 3) в условиях хранения при температуре +20±2°C

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена светло-желтого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена светло-желтого цвета
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	94,3±0,35	93,6±0,1	93,4±0,32	92,4±0,17*	90,3±0,15**
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон 2-дозовый баллон	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	61,8 <10%	62,3 <10%	61,7 <10%	60,3 <10%	57,7 <10%
Подлинность норфлоксацина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля норфлоксацина, мг/г	30,4±0,31	30,1±0,32	29,5±0,38	28,8±0,59*	27,4±0,7*
Массовая доля диоксидина, мг/г	15,1±0,18	14,7±0,09*	14,3±0,24*	14,0±0,20*	13,5±0,25**
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	23,3±3,3	23,3±8,8	26,7±3,3*	36,7±8,8*
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 7 - Показатели качества Виапена (серия № 1, серия № 2, серия № 3) в условиях хранения при температуре +25±2°C

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена светло-желтого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена светло-коричневатого оттенка
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	94,3±0,35	93,1±0,23	92,4±0,46*	91,5±0,64	88,2±0,48**
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон	>600				
2-дозовый баллон	>300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	61,8 <10%	62,0 <10%	59,7 <10%	56,2 <10%	54,5 <10%
Подлинность норфлоксацина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля норфлоксацина, мг/г	30,4±0,31	29,8±0,33	29,5±0,35	28,5±0,56*	26,0±0,60**
Массовая доля диоксидина, мг/г	15,1±0,18	14,5±0,26	14,3±0,24*	13,7±0,10**	12,0±0,20**
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	30,0±5,8	26,7±2,7	36,7±3,3*	46,7±3,3**
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 8 - Показатели качества Флоропена (серия № 1, № 2, № 3) в условиях хранения при температуре +5±2 °С

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена белого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена белого цвета с желтоватым оттенком
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	93,0±0,09	92,9±0,27	92,6±0,1	91,7±0,1*	90,6±0,64*
Объём пены: 1-дозовый баллон, см ³ 2-дозовый баллон, см ³	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	60,5 <10%	60,2 <10%	60,4 <10%	60,0 <10%	59,6 <10%
Подлинность флорфеникола	Выдерживает испытания				
Подлинность линкомицина	Выдерживает испытания				
Массовая доля флорфеникола, мг/г	25,4±0,23	25,1±0,34	24,6±0,8	23,9±0,33*	23,31±0,29*
Массовая доля линкомицина, мг/г	15,1±0,23	14,94±0,18	14,9±0,31	14,62±0,21	14,57±0,20
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	10,0±0,1	16,67±3,3	16,67±3,3	20,0±5,77
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus – отсутствуют				

* -P < 0,05-0,01; ** -P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 9 - Показатели качества Флоропена (серия № 1, № 2, № 3) в условиях хранения при температуре +20±2 °С

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена белого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена белая с желтоватым оттенком
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	93,0±0,09	92,8±0,2	92,3±0,13*	91,5±0,23**	91,3±0,17**
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон 2-дозовый баллон	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	60,5 <10%	60,1 <10%	60,0 <10%	59,9 <10%	59,2 <10%
Подлинность флорфеникола	Выдерживает испытания				
Подлинность линкомицина	Выдерживает испытания				
Массовая доля флорфеникола, мг/г	24,9±0,46	24,3±0,29	24,8±0,30	23,8±0,14	23,0±0,17*
Массовая доля линкомицина, мг/г	15,1±0,23	15,0±0,26	15,0±0,33	14,6±0,27	14,3±0,14*
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	16,7±3,3	20,0±5,77	20,0±0,1	20,0±5,77
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* -P < 0,05-0,01; ** -P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 10 - Показатели качества Флоропена (серия № 1, № 2, № 3) в условиях хранения при температуре +25±2 °С

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена белого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена белого цвета с желтоватым оттенком
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	93,0±0,09	92,9±0,1*	92,3±0,12*	91,3±0,22*	91,2±0,41*
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон 2-дозовый баллон	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	60,5 <10%	60,5 <10%	60,1 <10%	59,5 <10%	59,3 <10%
Подлинность флорфеникола	Выдерживает испытания				
Подлинность линкомицина	Выдерживает испытания				
Массовая доля флорфеникола, мг/г	25,2±0,46	24,6±0,14	23,9±0,09*	23,5±0,28*	22,8±0,33**
Массовая доля линкомицина, мг/г	15,1±0,23	14,9±0,03	14,7±0,28	14,1±0,03*	13,7±0,12*
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	23,3±3,3	30,0±5,77*	33,3±3,33*	36,7±3,33**
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* -P < 0,05-0,01; ** -P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 11 - Показатели качества Примапена (серия №1, №2 и №3) в условиях хранения при температуре +5±2 °С

Показатели качества	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена желтого цвета			Выпуск из баллона прерывистый; пена желтого цвета с коричневатым оттенком	
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	94,1±0,23	93,2±0,15	92,9±0,09*	92,0±0,15*	90,9±0,23**
Объём пены: 1-дозовый баллон, см ³ 2-дозовый баллон, см ³	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	61,9 <10%	61,5 <10%	60,8 <10%	59,8 <10%	58,4 <10%
Подлинность гентамицина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля гентамицина, мг/г	25,4±0,31	25,1±0,32	24,9±0,12	24,1±0,27*	22,8±0,12**
Массовая доля диоксидина, мг/г	14,9±0,15	14,7±0,10	14,5±0,21*	14,2±0,21**	13,7±0,09**
Микробиологическая чистота	10,0±0,1 13,3±3,3 13,3±3,3 16,7±3,3 20,0±5,77 Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus – отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 12 - Показатели качества Примапена (серия №1, №2 и №3) в условиях хранения при температуре +20±2 °С

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена желтого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена желтого цвета с коричневатым оттенком
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	93,9±0,31	93,3±0,21	92,6±0,09*	92,4±0,23*	90,7±0,15**
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон 2-дозовый баллон	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	>30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	61,5 <10%	60,8 <10%	60,7 <10%	60,3 <10%	57,7 <10%
Подлинность гентамицина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля гентамицина, мг/г	25,4±0,31	25,0±0,33	24,5±0,35*	23,7±0,36**	22,5±0,60**
Массовая доля диоксидина, мг/г	15,0±0,12	14,8±0,12	14,5±0,15*	14,1±0,15**	13,5±0,13**
Микробиологическая чистота	10,0±0,1	13,3±3,3	16,7±3,3	20,0±5,77	26,7±3,3*
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

Таблица 13 - Показатели качества Примапена (серия №1, №2 и №3) в условиях хранения при температуре +25±2 °С

Показатели	Время проведения исследования				
	Исходное	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Внешний вид, цвет	При выпуске из баллона образуется пена желтого цвета				Выпуск из баллона прерывистый; пена желтого цвета с коричневатым оттенком
Герметичность упаковки	Герметична				
Выход содержимого из упаковки, %	93,6±0,35	93,0±0,27	92,5±0,21*	91,5±0,12*	90,6±0,30**
Объем пены, см ³ : 1-дозовый баллон 2-дозовый баллон	>600 >300				
Стабильность пены, мин.	Более 30				
Средняя масса дозы, г, отклонение, %	62,1 <10%	61,0 <10%	60,7 <10%	58,5 <10%	55,8 <10%
Подлинность гентамицина	Выдерживает испытания				
Подлинность диоксидина	Выдерживает испытания				
Массовая доля гентамицина, мг/г	25,5±0,24	25,0±0,15	24,7±0,27*	23,8±0,23**	22,9±0,44**
Массовая доля диоксидина, мг/г	15,2±0,12	15,0±0,15	14,8±0,19*	14,3±0,27**	13,6±0,30**
Микробиологическая чистота	13,3±3,3	16,7±3,3	26,7±3,3	30,0±5,77*	36,7±3,30*
	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, S. aureus - отсутствуют				

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 – по отношению к исходному показателю

4.2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА

4.2.1 Антимикробная активность виапена

Результаты изучения антимикробной активности препарата виапен представлены на рисунке 8.

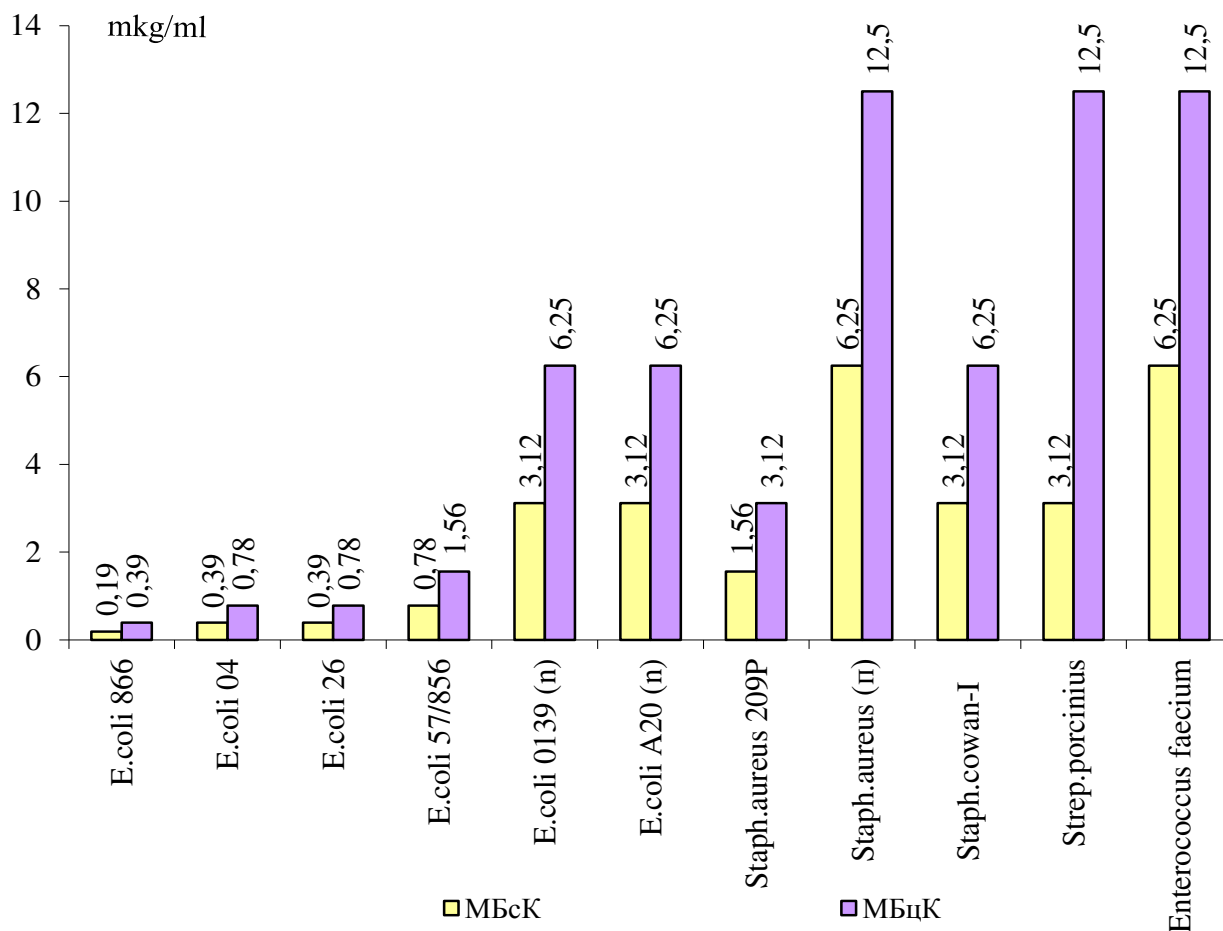


Рисунок 8 – Антимикробная активность виапена

Согласно полученным результатам, наибольшей активностью виапен обладал в отношении *E. coli*: МБсК составляла 0,19-0,78 мкг/мл, МБцК – 0,39-1,56 мкг/мл. При этом МБсК и МБцК в отношении полевых штаммов была выше и составляла 3,12 мкг/мл и 6,25 мкг/мл соответственно. МБсК виапена в отношении стафилококков и стрептококков составила 1,56-3,12 мкг/мл, а МБцК – 3,12-6,25 мкг/мл. Более низкой чувствительностью к препарату обладали *Staph. aureus* (п) и энтерококки: МБсК составила 6,25 мкг/мл, а МБцК – 12,5 мкг/мл.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что препарат виапен обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия, что свидетельствует о целесообразности его применения для лечения и профилактики послеродовых заболеваний у коров и свиноматок.

4.2.2 Острая токсичность виапена

Оценка острой токсичности виапена проведена при пероральном, подкожном и внутрибрюшинном способе введения. При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутривенно в дозах от 5000,0 до 50000,0 мг/кг массы тела.

Результаты, полученные при пероральном введении препарата лабораторным животным (таблица 14), используются для расчёта величины ЛД₅₀ виапена.

Таблица 14 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ виапена при пероральном введении белым мышам и белым крысам

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
1	2	3	4	5
Белые мыши				
5000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
10000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
15000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
20000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
25000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
30000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
35000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
40000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
45000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
50000,0	8	25,0	4,32581085995668	4,15162171991337
Белые крысы				

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
5000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
10000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
15000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
20000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
25000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
30000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
35000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
40000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
45000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
50000,0	8	25,0	4,32581085995668	4,15162171991337

Среднелетальную дозу (LD_{50}) определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутрижелудочном введении препарата в максимальном объёме в дозе 50000,0 мг/кг массы тела.

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].

При подкожном способе введения виапен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 16000,0 до 21000,0 мг/кг. Результаты исследований представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Токсикометрические параметры для расчета LD_{50} виапена при подкожном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
16000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
17000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
18000,0	8	37,5	4,68180013754702	4,68180013754702

1	2	3	4	5
19000,0	8	50,0	5,00	5,00
20000,0	8	75,0	5,67418914004332	4,15162171991337
21000,0	8	96,9	6,86314778235027	1,27370443529947
Белые крысы				
16000,0	8	3,14	3,13685221764973	1,27370443529947
17000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
18000,0	8	37,5	4,68180013754702	4,68180013754702
19000,0	8	50,0	5,00	5,00
20000,0	8	62,5	5,31819986245298	4,68180013754702
21000,0	8	96,9	6,86314778235027	1,27370443529947

На основании данных, представленных в таблице 15, были рассчитаны параметры острой токсичности виапена при подкожном введении лабораторным животным (таблица 16).

Таблица 16 - Параметры острой токсичности виапена для лабораторных животных при подкожном введении (мг/кг)

Параметры	Белые мыши	Белые крысы
МПД	16000	16000
ЛД ₁₀	16790,04	16727,10
ЛД ₁₆	17224,78	17212,00
ЛД ₅₀	18767,91 (17366-20170)	18767,91 (17369-20497)
ЛД ₈₄	20311,04	20654,29
ЛД ₉₀	20745,79	21139,19
ЛД ₁₀₀	21082,61	21514,87
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	385,78	430,29
Уровень надёжности	0,953	0,953

Следовательно, виапен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при подкожном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

При внутрибрюшинном способе введения виапен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 5000,0 до 17000,0 мг/кг массы тела.

Таблица 17 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ виапена при внутрибрюшинном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
Белые мыши				
5000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
7000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
9000,0	8	37,5	4,68180013754702	4,68180013754702
11000,0	8	50,0	5,00	5,00
13000,0	8	62,5	5,31819986245298	4,68180013754702
15000,0	8	87,5	6,15043562626776	3,04869312119673
17000,0	8	96,9	6,86314778235027	1,27370443529947
Белые крысы				
5000,0	8	3,13	3,13685221764973	1,27370443529947
7000,0	8	12,5	3,84956437373224	3,04869312119673
9000,0	8	25,0	4,32581085995668	4,15162171991337
11000,0	8	50,0	5,00	5,00
13000,0	8	62,5	5,31819986245298	4,68180013754702
15000,0	8	87,5	6,15043562626776	3,04869312119673
17000,0	8	96,9	6,86314778235027	1,27370443529947

На основании данных, представленных в таблице 17, были рассчитаны параметры острой токсичности виапена при внутрибрюшинном введении лабораторным животным (таблица 18).

Таблица 18 - Параметры острой токсичности виапена для лабораторных животных при внутрибрюшинном введении (мг/кг)

Параметры токсичности	Белые мыши	Белые крысы
МПД	5000,00	5000,00
ЛД ₁₀	6350,13	6831,88
ЛД ₁₆	7372,19	7802,53
ЛД ₅₀	11000,00 (8114-13886)	11247,84 (8507-13989)
ЛД ₈₄	14627,81	14693,16
ЛД ₉₀	15649,87	15663,81
ЛД ₁₀₀	16441,72	16415,82
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	811,20	770,40
Уровень надёжности	0,953	0,953

Следовательно, виапен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при внутрибрюшинном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

Острое отравление препаратом у белых мышей и белых крыс при внутрижелудочном, подкожном и внутрибрюшинном введении сопровождались симптомами возбуждения, которые сменялись угнетением, переходящим в кому.

При вскрытии павших лабораторных животных были зарегистрированы признаки гемодинамического расстройства. Застой венозной крови был особенно выражен в тканях лёгких, сердца, печени, почках и брыжеечных сосудах. Через 14 дней после начала опыта выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для проведения патологоанатомического исследования, которое показало отсутствие патологических изменений в их организме.

4.2.3 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 у животных опытных и контрольных групп.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови здоровых коров и свиноматок через 7 и 14 дней после однократного введения виапена в терапевтической и 3-кратно превышающей дозы представлены в таблицах 19-22.

Таблица 19 - Показатели крови здоровых коров через 7 дней после введения виапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе ($M \pm m$)

Показатели	Виापен 60 г (n=5)	Виापен 180 г (n=5)	Контроль (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	114,4±5,38	102,8±4,19	110,5±7,0
RBC, 10 ¹² /L	6,84±0,23	6,29±0,31	6,7±0,34
HCT, %	31,76±1,50	28,31±1,17	30,18±1,98
ESR, mm/h	1,4±0,2	0,8±0,3	1,0±0,2
WBC, 10 ⁹ /L	7,55±0,78	7,51±0,93	8,23±0,52
BAS, %	0,6±0,19	1,2±0,32	1,5±0,01
EOS, %	3,6±0,5	4,2±1,0	3,2±0,5
BAND, %	5,7±0,7	5,3±2,4	5,5±0,6
SEGS, %	25,5±3,1	22,9±1,8	24,2±2,5
MON, %	6,5±4,5	9,3±2,5	10,3±0,6
LYM, %	58,1±1,9	57,1±1,9	55,3±5,2
TP, g/L	79,4±2,0	76,3±6,2	79,3±2,6
Alb, g/L	28,9±0,9	29,1±1,8	27,1±0,9

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
ALT, U/L	7,8±2,2	14,3±1,3	10,9±3,9
AST, U/L	52,7±0,1	59,5±3,1	53,5±3,6
T.bil, µM/L	4,1±0,56	4,8±0,68	4,5±0,72
Urea, mM/L	4,4±0,7	5,3±0,6	4,2±0,5
Creat, µM/L	80,7±4,6	90,7±5,6	79,5±1,8
Glu, mM/L	2,77±0,1	2,22±0,1	2,46±0,2
Chol, mM/L	4,35±0,38	4,30±0,35	4,11±0,23
Ca, mM/L	2,44±0,1	2,39±0,1	2,40±0,1
P, mM/L	1,77±0,1	1,70±0,2	1,66±0,1

Таблица 20 - Показатели крови здоровых коров через 14 дней после введения виапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Виапен 60 г (n=5)	Виапен 180 г (n=5)	Контроль (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	115,2±5,0	112,9±4,5	112,5±4,0
RBC, 10 ¹² /L	6,93±0,36	6,79±0,39	6,8±0,45
HCT, %	31,16±1,54	31,28±1,71	30,21±1,8
ESR, mm/h	1,2±0,2	1,1±0,83	1,0±0,3
WBC, 10 ⁹ /L	7,75±0,71	7,81±0,83	8,24±0,72
BAS, %	1,0±0,1	1,0±0,2	1,1±0,3
EOS, %	3,5±0,5	3,3±0,5	3,3±0,5
BAND, %	5,4±0,5	5,5±0,4	5,3±1,0
SEGS, %	22,2±2,0	23,5±2,5	22,5±1,9
MON, %	9,3±0,5	8,5±1,5	9,1±1,5
LYM, %	58,8±5,2	58,0±1,9	58,7±1,9
TP, g/L	81,4±2,2	79,9±3,2	80,3±2,0

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Alb, g/L	28,5±1,3	27,1±1,4	26,7±1,2
ALT, U/L	12,9±3,0	13,8±2,4	13,3±3,3
AST, U/L	53,7±0,5	52,5±1,1	52,5±2,6
T.bil, µM/L	4,1±0,6	4,5±0,3	4,4±0,9
Urea, mM/L	4,3±0,5	4,5±0,5	4,2±0,7
Creat, µM/L	83,7±4,7	90,0±2,6	89,5±2,8
Glu, mM/L	2,57±0,2	2,60±0,2	2,40±0,2
Chol, mM/L	4,19±0,20	4,38±0,3	4,31±0,5
Ca, mM/L	2,46±0,1	2,42±0,1	2,45±0,1
P, mM/L	1,64±0,1	1,61±0,2	1,63±0,1

Как следует из данных, представленных в таблицах 19 и 20, при применении виапена в терапевтической и 3-кратно её превышающей дозе, гематологические и основные показатели обмена веществ коров опытных групп оставались в пределах референсных значений и достоверно не отличались от животных контрольной группы.

Таблица 21 - Показатели крови здоровых свиноматок через 7 дней после введения виапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Виापен 60 г (n=8)	Виापен 180 г (n=8)	Контроль (n=8)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	118,8±1,4	116,6±1,7	123,8±3,2
RBC, 10 ¹² /L	6,1±0,1	5,54±0,23	5,28±0,28
WBC, 10 ⁹ /L	10,5±0,3	13,1±0,5	11,6±0,6
BAS, %	1,2±0,1	1,2±0,2	0,8±0,1
EOS, %	0,8±0,1	0,6±0,1	1,0±0,1
BAND, %	4,3±0,1	4,0±0,8	3,8±0,5

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
SEGS, %	44,1±2,8	43,0±4,0	45,0±2,3
MON, %	2,4±0,3	2,8±0,3	2,0±0,3
LYM, %	47,0±2,5	49,2±2,7	46,8±2,8
TP, g/L	71,8±1,5	73,2±4,3	73,5±2,4
Alb, g/L	30,3±2,4	25,6±2,1	26,9±1,3
ALT, U/L	47,5±5,6	44,8±0,3	42,7±1,9
AST, U/L	52,0±1,5	51,4±0,3	54,1±0,6
ALP, U/L	124,3±1,7	139,5±0,8	135,6±1,4
GGT, U/L	68,4±0,6	65,7±1,0	61,2±1,5
Urea, mM/L	3,59±0,31	4,90±0,28	4,05±0,20
Creat, µM/L	111,8±5,0	126,4±1,8	124,7±5,5
Glu, mM/L	3,87±0,5	3,2±0,1	3,51±0,3
Chol, mM/L	2,35±0,1	2,5±0,2	2,0±0,1
TL, g/L	2,43±0,13	2,88±0,16	2,50±0,12
Ca, mM/L	2,72±0,1	2,42±0,2	2,8±0,1
P, mM/L	1,8±0,1	1,82±0,3	2,0±0,1

Таблица 22 - Показатели крови здоровых свиноматок через 14 дней после введения виапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Виापен 60 г (n=8)	Виापен 180 г (n=8)	Контроль (n=8)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	128,2±3,5	126,6±2,7	125,7±3,4
RBC, 10 ¹² /L	5,84±0,19	5,65±0,32	5,32±0,25
WBC, 10 ⁹ /L	10,4±0,4	11,1±0,5	10,6±0,5
BAS, %	1,0±0,2	0,8±0,1	1,0±0,1
EOS, %	0,8±0,2	1,0±0,1	1,3±0,5

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
BAND, %	4,0±0,1	4,0±0,5	3,5±0,5
SEGS, %	44,2±2,8	43,1±4,4	43,0±2,6
MON, %	2,8±0,2	2,5±0,3	2,6±0,2
LYM, %	47,2±2,0	48,6±2,5	48,6±2,2
TP, g/L	79,3±5,2	81,5±2,8	72,2±2,0
Alb, g/L	33,9±2,1	30,6±2,2	27,7±2,1
ALT, U/L	46,3±5,0	45,8±0,5	43,5±1,4
AST, U/L	52,8±1,5	51,6±0,9	51,2±0,5
ALP, U/L	121,3±2,4	129,4±1,8	138,1±1,7
GGT, U/L	66,1±0,5	65,6±1,0	62,5±1,1
Urea, mM/L	3,4±0,2	4,8±0,2	4,1±0,3
Creat, µM/L	121,8±5,0	122,4±4,8	122,6±6,5
Glu, mM/L	3,7±0,5	3,5±0,1	3,5±0,4
Chol, mM/L	2,4±0,1	2,3±0,2	2,1±0,2
TL, g/L	2,49±0,20	2,57±0,22	2,46±0,15
Ca, mM/L	2,7±0,2	2,4±0,2	2,7±0,1
P, mM/L	1,8±0,2	1,82±0,3	1,9±0,2

Как следует из данных, представленных в таблицах 21 и 22, при применении виапена в терапевтической и 3-кратно её превышающей дозе, основные морфологические и биохимические показатели крови свиноматок опытных групп оставались в пределах референсных значений и достоверно не отличались от животных контрольной группы.

Таким образом, на основании результатов опытов по изучению безвредности (переносимости) виапена в дозах 60 г и 180 г на животное установлено, что препарат не оказывает негативного влияния на организм коров и свиноматок.

4.2.4 Подострая токсичность виапена

Изучение параметров токсичности в подостром опыте показало, что многократное 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 показатели клинического гомеостаза организма крыс. На протяжении опыта при применении препарата в течение 21 дня и после 10-дневного восстановительного периода во всех подопытных группах гибели животных не было отмечено.

Результаты измерения привесов белых крыс в течение опыта представлены на рисунке 9.

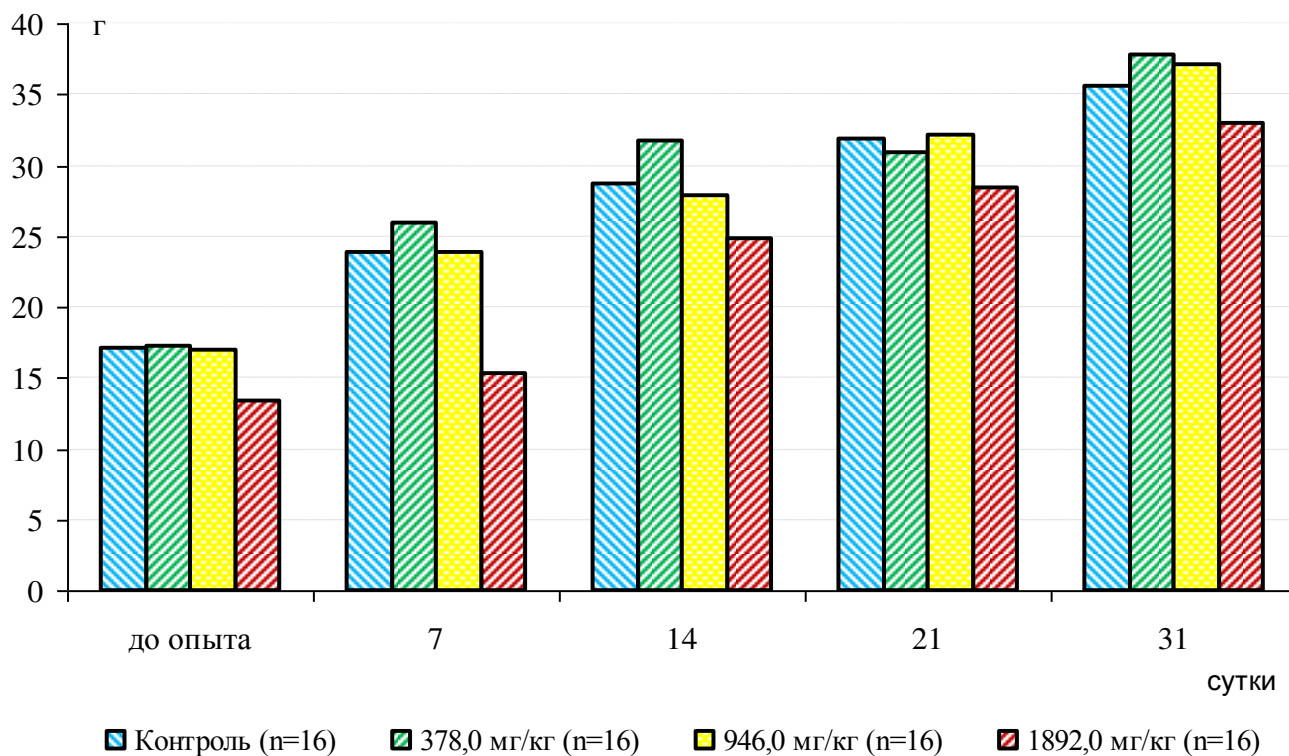


Рисунок 9 - Динамика привесов белых крыс при введении виапена

Как следует из диаграммы, статистического достоверного различия в привесах крыс 1 и 2 опытных групп (378,0 и 946,0 мг/кг) по сравнению с контролем не наблюдалось. В 3 опытной группе (1892,0 мг/кг) 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.

Результаты изменений коэффициентов массы внутренних органов крыс представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Коэффициент массы внутренних органов крыс при введении виапена ($M \pm m$)

Наименование внутреннего органа	Виापен 378,0 мг/кг	Виापен 946,0 мг/кг	Виापен 1892,0 мг/кг	Контроль
После длительного введения				
Hepar	33,5±0,26	33,2±1,08	32,1±0,60	32,3±0,82
Renes	5,64±0,16	5,74±0,29	5,56±0,37	5,62±0,50
Pulmo	5,86±0,25	5,94±0,17	5,90±0,20	5,87±0,22
Lien	3,67±0,17	3,61±0,21	3,71±0,31	3,89±0,62
Cardis	3,46±0,21	3,41±0,26	3,42±0,16	3,45±0,18
Thymus	1,19±0,11	1,12±0,10	1,13±0,14	1,12±0,11
Suprarenalis	0,24±0,01	0,25±0,01	0,26±0,01	0,25±0,02
После восстановительного периода				
Hepar	31,9±1,58	32,2±0,88	31,2±1,10	30,4±0,52
Renes	5,80±0,24	5,77±0,19	5,78±0,22	6,12±0,35
Pneumo	5,38±0,25	5,48±0,25	5,24±0,36	5,25±0,45
Lien	3,62±0,21	3,39±0,15	3,38±0,18	3,41±0,38
Cardis	3,28±0,41	3,31±0,58	3,73±0,23	3,34±0,22
Thymus	1,14±0,12	1,15±0,08	1,00±0,08	1,11±0,10
Suprarenalis	0,27±0,02	0,28±0,02	0,25±0,02	0,25±0,01

Как следует из данных, представленных в таблице 23, длительное подкожное введение виапена белым крысам в изученных дозах не оказывает

статистически достоверного влияния на показатели относительной массы внутренних органов на протяжении всего опыта.

При внешнем осмотре трупов животных опытных и контрольной групп установлено, что внешний вид и состояние органов имели одинаковую картину. Шерстный покров был гладкий и блестящий. Слизистая оболочка рта, носа и глаз блестящая, бледно-розового цвета. Кожа ушных раковин бледно-розового цвета. Кожные покровы эластичные, бледно-розовые. Подкожная клетчатка хорошо развита, бледно-розового цвета. Скелетные мышцы кровенаполнены, розового цвета, умеренной влажности, хорошо развиты. При вскрытии грудной и брюшной полостей отмечалось анатомически правильное расположение внутренних органов. Серозные оболочки полостей имели ярко-розовый цвет, гладкую и блестящую поверхность.

Слизистая гортани бледно-розовая, складчатая, блестящая. Слизистая пищевода гладкая, блестящая, бледно-розовая. Подчелюстные лимфоузлы бледно-розового цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. Кольца трахеи белого цвета.

Сердце округлой формы, упругой консистенции. Миокард на разрезе ярко-красного цвета, умеренной плотности. Перикард и эпикард гладкие, блестящие. Клапаны сердца тонкие, гладкие, блестящие.

Лёгкие обычной формы с поверхностью розовато-красного цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. На разрезе выражена дольчатость, лёгочная ткань бледно-розового цвета.

Тимус имел конусообразную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Печень обычной формы и размеров; капсула гладкая, блестящая, упругая, темно-красного цвета. Печень на разрезе - красно-коричневая, полнокровная, нормальной плотности.

Селезёнка удлинённой формы, плоская, пурпурно-бурого цвета, упругой консистенции. Капсула тонкая; с поверхности разреза соскоб скудный.

Почки бобовидной формы, симметрично расположены, темно-коричневого цвета, упругой консистенции; граница коркового и мозгового вещества чётко выражена. Фиброзная капсула блестящая, легко снималась.

Надпочечники желтовато-белого цвета, характерного размера и консистенции.

Тонкий и толстый кишечник заполнен содержимым с небольшим количеством слизи, без признаков вздутия; слизистые без изъязвлений, розового цвета.

Серозная и слизистая оболочка мочевого пузыря бледно-розовая. В полости мочевого пузыря присутствует небольшое количество мочи бледно-жёлтого цвета.

Матка и яичники у самок обычной формы; слизистая бледно-розового цвета.

Патологоанатомическое исследование, проведённое после восстановительного периода, также не выявило изменений во внутренних органах животных опытных групп по сравнению с контролем.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови подопытных животных при длительном подкожном применении виапена представлены в таблицах 24 и 25.

Таблица 24 - Гематологические показатели белых крыс через 21 день ежедневного введения виапена ($M \pm m$)

Показатели	Виापен 378,0 мг/кг	Виापен 946,0 мг/кг	Виापен 1892,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	144,8±4,11	141,0±2,55	137,2±3,61*	147,2±3,54
RBC, 10 ¹² /L	5,98±0,21	5,96±0,15	5,75±0,11	6,00±0,25
WBC, 10 ⁹ /L	8,90±0,43	8,79±0,49	9,47±0,37*	8,40±0,20
BAS, %	-	-	-	-
EOS, %	2,78±0,46	2,82±0,48	3,75±1,10	2,45±0,55

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
BAND, %	1,62±0,32	1,72±0,48	1,71±0,63	1,90±0,43
SEGS, %	23,8±1,58	21,5±2,19	22,4±2,44	22,9±1,10
MON, %	1,75±0,25	2,00±0,50	1,9±0,35	2,00±1,00
LYM, %	70,1±1,25	72,0±2,12	70,2±3,55	70,75±2,52

* P<0,05 – относительно контроля

Таблица 25 - Биохимические показатели крови белых крыс через 21 день ежедневного введения виапена (M±m)

Показатели	Виापен 378,0 мг/кг	Виापен 946,0 мг/кг	Виापен 1892,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
TP, g/L	64,8±2,1	65,1±0,50	63,6±0,82	66,2±1,93
Alb, g/L	34,5±0,72	32,0±1,25	32,4±1,11	35,3±0,46
α-Glob, g/L	5,11±0,32	5,51±0,43	5,39±0,41	4,96±0,65
β-Glob, g/L	11,32±0,55	12,45±0,58	12,25±0,25	12,45±0,46
γ-Glob, g/L	13,89±0,44	14,45±0,38	13,68±0,54	13,56±0,30
ALT, U/L	34,83±2,75	38,45±2,24	40,53±1,97	39,40±5,4
AST, U/L	98,2±7,68	95,8±4,64	99,1±5,28	105,7±9,54
ALP, U/L	138,0±15,1	135,4±8,89	141,4±8,56	142,9±9,32
GGT, U/L	0,94±0,11	0,93±0,12	1,05±0,48	1,15±0,20
T.bil, μM/L	0,88±0,18	1,10±0,17	1,15±0,14	0,97±0,11
Urea, mM/L	5,42±0,54	4,44±0,31	5,0±0,60	5,88±0,40
Creat, μM/L	28,31±2,14	32,48±3,64	30,96±2,54	32,36±2,45
Pyruvate, μM/L	162,0±2,38	166,8±2,18	171,0±4,21	164,0±3,41
Lactate, mM/L	1,66±0,10	1,46±0,11	1,55±0,12	1,58±0,16
Glu, mM/L	4,85±0,19	4,82±0,21	4,73±0,14	5,0±0,22
TL, g/L	2,25±0,20	2,61±0,25	2,38±0,19	2,49±0,13

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Chol, mM/L	2,52±0,17	2,38±0,15	2,18±0,12	2,12±0,10
Ca, mM/L	2,47±0,05	2,41±0,04	2,46±0,03	2,38±0,05
P, mM/L	1,69±0,01	1,65±0,05	1,65±0,05	1,73±0,09

После 21-дневного введения виапена в дозах 378,0 мг/кг и 946,0 мг/кг массы тела, существенных изменений в гематологических и морфологических показателях по сравнению с контрольной группой не было зарегистрировано. В 3 опытной группе отмечалось достоверное увеличение лейкоцитов на 18,9% ($P < 0,05$) и снижение гемоглобина на 10,4% ($P < 0,05$). Однако данные показатели соответствовали значениям референсных значений [И.М. Трахтенберг, 1991].

Результаты биохимических исследований свидетельствуют о том, что виапен не оказывает отрицательного влияния на показатели белкового (уровень общего белка, белковых фракций), липидного (общих липидов, холестерина), углеводного (лактата, пирувата, глюкозы) и минерального (кальция, фосфора) обменов.

При анализе биохимических показателей крови животных, позволяющих судить о негативном влиянии препарата на печень и почки (аспартат- и аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, γ -глутамилтрансфераза, билирубин, мочевины, креатинин), не было выявлено достоверных изменений, что свидетельствует о нормальном функционировании мочевыделительной и гепатобилиарной систем организма белых крыс.

Результаты исследований морфологического состава и биохимических показателей крови подопытных животных через 10 дней восстановительного периода после длительного введения виапена представлены в таблице 26.

Из представленных в таблице 26 данных следует, что через 10 дней восстановительного периода (после применения виапена в течение 21 дня в изученных дозах) по сравнению с показателями животных контрольной группы не отмечено существенных изменений морфологических и биохимических

показателей крови белых крыс. Следовательно, изменения, вызванные дозой 1892,0 мг/кг, имеют обратимый характер, так как в течение 10 дней после отмены препарата показатели восстанавливаются до контрольных значений.

Таблица 26 - Морфологические и биохимические показатели крови белых крыс после восстановительного периода ($M \pm m$)

Показатели	Виапен 378,0 мг/кг	Виапен 946,0 мг/кг	Виапен 1892,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	134,6±1,43	129,9±1,61	132,4±2,54	120,5±5,43
RBC, 10 ¹² /L	5,65±0,30	5,57±0,51	5,35±0,28	5,45±0,46
WBC, 10 ⁹ /L	11,2±0,61	11,4±1,7	10,6±1,94	11,2±0,46
BAS, %	-	-	-	-
EOS, %	2,51±0,12	2,10±0,22	2,40±0,57	2,24±0,35
BAND, %	2,52±0,31	2,20±0,13	2,20±0,24	2,34±0,45
SEGS, %	26,7±2,42	27,4±3,45	24,8±2,64	28,1±2,11
MON, %	2,00±0,21	1,50±0,50	2,00±0,41	1,9±0,34
LYM, %	66,27±3,41	68,98±2,22	68,6±2,74	65,42±4,63
TP, g/L	69,7±2,45	68,7±2,55	65,3±1,82	67,64±2,42
Alb, g/L	32,5±1,47	32,2±1,35	30,5±1,54	31,4±1,38
α-Glob, g/L	5,81±0,85	5,56±0,95	5,57±0,42	4,93±0,45
β-Glob, g/L	10,53±0,70	11,10±0,51	12,16±1,22	12,25±0,51
γ-Glob, g/L	16,65±0,41	15,76±0,45	16,34±0,65	17,18±0,75
ALT, U/L	64,6±3,65	59,6±5,50	57,6±8,10	60,6±3,5
AST, U/L	161,3±9,92	154,4±10,8	143,9±12,4	146,8±7,60
ALP, U/L	143,0±7,68	159,0±8,8	139,75±14,7	152,19±7,0
GGT, U/L	1,75±0,32	1,79±0,38	1,89±0,24	2,10±0,65
T.bil, μM/L	1,18±0,13	1,28±0,14	1,36±0,13	1,41±0,12
Urea, mM/L	5,15±0,11	4,98±0,14	5,22±0,11	5,25±0,23
Creat, μM/L	31,50±1,50	28,25±2,53	36,25±3,33	31,33±2,33

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Pyruvate, $\mu\text{M/L}$	161,0 \pm 4,00	164,0 \pm 1,58	156,3 \pm 2,21	179,0 \pm 8,08
Lactate, mM/L	1,65 \pm 0,11	1,67 \pm 0,13	1,61 \pm 0,15	1,60 \pm 0,13
Glu, mM/L	5,72 \pm 0,24	5,13 \pm 0,48	5,29 \pm 0,28	5,77 \pm 0,55
TL, g/L	3,34 \pm 0,11	3,58 \pm 0,12	3,68 \pm 0,13	3,5 \pm 0,12
Chol, mM/L	1,48 \pm 0,13	1,75 \pm 0,15	1,41 \pm 0,14	1,56 \pm 0,14
Ca, mM/L	2,29 \pm 0,02	2,31 \pm 0,02	2,29 \pm 0,01	2,34 \pm 0,01
P, mM/L	1,72 \pm 0,03	1,70 \pm 0,08	1,70 \pm 0,05	1,75 \pm 0,09

Таким образом, на основании данных клинических, патологоанатомических исследований, морфологических и биохимических показателей крови белых крыс установлено, что препарат в дозах 1/50 (378,0 мг/кг), 1/20 (946,0 мг/кг) и 1/10 ЛД₅₀ (1892,0 мг/кг массы тела) при подкожном введении в течение 21 дня не оказывает негативного воздействия на организм животных.

4.2.5 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. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса у животных опытных групп по сравнению с контрольными.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови коров и свиноматок после трёхкратного введения виапена в терапевтической дозе представлены в таблицах 27 и 28.

При трёхкратном введении виапена в терапевтической дозе, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ в опытных группах коров и свиноматок существенно не отличались от показателей до введения препарата и контрольной группы.

Таблица 27 - Показатели крови клинически здоровых коров при трёхкратном внутриматочном введении виапена ($M \pm m$)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=5)	Виапен (n=5)	Контроль (n=5)	Виапен (n=5)
HGB, g/L	110,5±5,60	108,3±7,3	118,4±6,2	121,5±5,3
RBC, 10 ¹² /L	5,2±0,08	5,12±0,3	6,24±0,6	6,85±1,3
WBC, 10 ⁹ /L	10,8±2,3	10,1±0,9	8,52±1,2	7,28±0,6
BAS, %	1,5±0,1	1,1±0,3	0,6±0,2	1,0±0,2
EOS, %	4,0±0,6	3,8±0,9	3,9±1,0	2,9±0,4
BAND, %	1,2±0,1	1,8±0,2	2,4±0,5	2,0±0,4
SEGS, %	38,0±1,8	39,6±0,7	32,5±0,9	34,8±1,5
MON, %	6,2±0,6	5,4±0,5	4,7±0,9	5,9±0,5
LYM, %	49,1±1,5	48,3±2,2	55,9±3,3	53,4±1,6
TP, g/L	80,5±1,6	84,3±13,5	85,4±7,6	84,4±2,3
Alb, g/L	43,1±0,6	44,0±0,9	46,0±2,0	45,8±1,6
α-Glob, g/L	15,4±0,4	16,4±0,2	16,8±0,4	14,8±0,6
β-Glob, g/L	17,8±0,7	15,2±0,9	15,7±0,6	13,5±0,5
γ-Glob, g/L	23,7±2,1	24,4±2,0	21,5±0,7	25,9±1,4
ALT, U/L	49,5±5,2	52,7±0,1	55,9±5,1	59,5±3,1
AST, U/L	12,8±5,9	14,3±1,3	18,4±1,6	19,6±2,3
Urea, mM/L	3,5±0,7	4,2±0,3	4,0±0,5	3,9±0,7
Creat, μM/L	97,3±12,0	105,11±5,1	94,6±5,0	77,5±6,2
Glu, mM/L	2,38±0,2	2,46±0,1	3,82±0,7	2,77±0,5
TL, g/L	2,99±0,5	3,1±0,7	3,2±0,4	2,84±0,5
Chol, mM/L	3,72±0,47	3,54±0,25	3,81±0,46	2,69±0,5
Ca, mM/L	2,95±0,08	2,62±0,4	2,52±0,1	2,83±0,18
P, mM/L	1,98±0,10	1,92±0,42	1,82±0,11	1,77±0,07

Таблица 28 - Показатели крови клинически здоровых свиноматок при трёхкратном внутриматочном введении виапена ($M \pm m$)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=8)	Виапен (n=8)	Контроль (n=8)	Виапен (n=8)
HGB, g/L	110,5±0,60	100,6±1,7	112,8±3,2	118,8±1,4
RBC, 10 ¹² /L	5,84±0,28	6,1±0,1	5,3±0,14	6,9±0,2
WBC, 10 ⁹ /L	10,8±2,3	12,1±0,6	11,6±0,6	12,8±0,9
BAS, %	1,2±0,1	0,8±0,01	1,0±0,1	1,2±0,02
EOS, %	1,3±0,2	1,0±0,02	0,6±0,05	0,8±0,05
BAND, %	3,3±0,1	5,8±0,2	1,9±0,2	3,5±0,2
SEGS, %	37,4±3,7	43,4±1,6	43,6±2,0	42,0±2,3
MON, %	2,6±0,6	3,2±0,5	1,9±0,4	5,5±0,5
LYM, %	54,2±4,6	45,8±1,8	51,0±2,5	47,0±2,7
TP, g/L	80,5±3,6	74,2±2,3	84,5±2,4	81,8±4,5
Alb, g/L	43,1±3,6	41,2±1,2	43,8±2,1	44,9±1,6
α-Glob, g/L	15,4±0,4	12,7±0,4	15,9±0,9	15,9±1,2
β-Glob, g/L	17,8±0,7	22,2±0,8	16,0±0,4	13,2±1,2
γ-Glob, g/L	23,7±2,1	23,9±1,7	24,3±1,2	26,0±1,0
ALT, U/L	42,8±5,9	47,5±5,6	42,1±4,3	44,8±3,3
AST, U/L	49,5±5,2	41,0±5,5	50,5±2,5	51,4±3,0
ALP, U/L	34,1±2,79	32,55±2,48	31,93±2,17	32,86±3,10
GGT, U/L	63,9±0,5	64,5±0,7	66,2±0,8	64,2±0,4
Urea, mM/L	3,5±0,7	3,6±0,2	4,0±0,5	3,8±0,3
Creat, μM/L	127,3±12,0	131,3±8,0	141,2±1,5	124,7±1,2
Glu, mM/L	3,82±0,7	3,91±0,3	3,65±0,5	3,9±0,1
TL, g/L	2,99±0,5	2,54±0,1	2,64±0,6	2,78±0,3
Chol, mM/L	2,69±0,5	2,40±0,1	2,8±0,3	2,60±0,1
Ca, mM/L	2,95±0,08	2,90±0,1	3,0±0,1	2,96±0,07
P, mM/L	1,98±0,10	1,85±0,10	2,0±0,11	1,97±0,15

Таким образом, при изучении влияния виапена установлено, что препарат не оказывает негативного действия на организм коров и свиноматок, так как исследованные показатели в опытных и контрольных группах соответствовали референсным значениям.

4.2.6 Раздражающие свойства препарата виапен

4.2.6.1 Раздражающее действие виапена на слизистые оболочки

(конъюнктивальная проба)

Клиническое исследование состояния организма подопытных кроликов после инстилляций виапена не выявило изменений основных показателей клинического статуса животных от референсных значений (таблица 29).

Таблица 29 - Данные о клиническом состоянии организма кроликов

Показатели	До опыта	Через 0,5 ч.	Через 1 ч.	Через 2 ч.	Через 3 ч.	Через 4 ч.	Через 5 ч.	Через 6 ч.
Кролик № 1								
Температура, °С	38,9	39,0	38,9	39,0	39,1	38,9	38,9	39,0
Пульс, уд./мин.	130	132	141	133	132	134	133	134
Дыхание, кол./мин.	52	52	53	52	51	53	52	53
Кролик № 2								
Температура, °С	38,7	38,8	38,9	38,8	38,8	38,7	38,8	38,9
Пульс, уд./мин.	125	133	133	135	134	135	134	136
Дыхание, кол./мин.	54	54	55	56	57	57	57	56
Кролик № 3								
Температура, °С	38,8	38,8	38,9	39,0	38,9	39,0	38,9	38,8
Пульс, уд./мин.	133	133	132	134	134	135	129	128
Дыхание, кол./мин.	53	53	54	54	55	54	55	54

Результаты визуальной оценки действия препарата на слизистую глаз подопытных кроликов, представленные в таблице 30, свидетельствуют о том, что

в течение опыта виапен не вызывает реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Таблица 30 - Оценка раздражающего эффекта виапена при нанесении на конъюнктиву кроликов (балл)

Время исследования	Кролик № 1	Кролик № 2	Кролик № 3
До опыта	0	0	0
Через 0,5 ч	0	0	0
Через 1,0 ч	0	0	0
Через 2,0 ч	0	0	0
Через 3,0 ч	0	0	0
Через 4,0 ч	0	0	0
Через 5,0 ч	0	0	0
Через 6,0 ч	0	0	0

Таким образом, на основании результатов исследований можно сделать вывод, что виапен не оказывает раздражающего действия на слизистые.

4.2.6.2 Раздражающее действие виапена на кожные покровы

Результаты опыта по оценке раздражающего действия виапена, представленные в таблице 31, 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 на животное.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что виапен не обладает раздражающим действием на кожные покровы.

Таблица 31 - Оценка местно-раздражающего действия виапена

Доза виапена, г/животное	Средний балл выраженности				Наблюдаемый эффект	
	эритемы		отёка			
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
1 час						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
24 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
1	2	3	4	5	6	7
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
48 часов						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
72 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0

4.2.7 Изучение аллергизирующих свойств препарата виапен

4.2.7.1 Метод накожных аппликаций

В результате опыта по оценке аллергизирующих свойств виапена методом накожных аппликаций на морских свинках было установлено, что при двадцатикратном нанесении на кожные покровы, препарат не вызывает явлений сенсibilизации (таблица 32).

Таблица 32 - Оценка аллергизирующего действия виапена (балл)

Симптомы	Виапен			Контроль		
	Время наблюдений					
	10 дней	14 дней	20 дней	10 дней	14 дней	20 дней
Гиперемия	0	0	0	0	0	0
Отёк кожи	0	0	0	0	0	0
Десквамация эпителия	0	0	0	0	0	0

4.2.7.2 Конъюнктивальная проба

Результаты опыта по оценке аллергизирующих свойств виапена при аппликации на конъюнктиву морских свинок, представленные в таблице 33, свидетельствуют о том, что препарат не вызывает реакции гиперчувствительности, как у сенсibilизированных, так и интактных морских свинок.

Таблица 33 - Выявление гиперчувствительности у морских свинок при применении виапена (балл)

Группа	Конъюнктивальный тест	
	Через 15 мин.	Через 24 ч.
Контрольная группа	0	0
Опытная группа	0	0

4.2.7.3 Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НДТК)

Изучение аллергизирующих свойств виапена методом непрямо́й дегрануляции тучных клеток на белых крысах показало, что ПДТК (показатель дегрануляции тучных клеток) во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже 10% (таблица 34). Следовательно, изучаемый препарат не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таблица 34 - Показатель дегрануляции тучных клеток (%)

Показатели	Виапен 378,0 мг/кг	Виапен 1892,0 мг/кг	Контроль
2 день			
ПДТК	0,17±0,003	0,17±0,002	0,16±0,002
% к контролю	106,3	106,3	100,0
8 день			
ПДТК	0,19±0,002	0,21±0,001	0,20±0,002
% к контролю	95,0	105,0	100,0
15 день			
1	2	3	4
ПДТК	0,21±0,001	0,25±0,002	0,23±0,003
% к контролю	91,3	108,7	100,0

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов по изучению аллергизирующих свойств виапена (конъюнктивальная проба, метод накожных аппликаций, реакция непрямой дегрануляции тучных клеток), можно сделать заключение, что препарат не обладает аллергизирующим действием.

4.2.8 Эмбриотоксическое и тератогенное действие виапена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. Общее состояние беременных самок опытных групп не отличалось от животных контрольной группы. Также не было зарегистрировано отличий по внешнему виду волосяного покрова и видимых слизистых, поведению, потреблению корма и воды. Динамика массы тела белых крыс, которым вводили виапен подкожно в дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг, и животных контрольной группы была положительной и не имела достоверно значимых отличий.

Как следует из представленных в таблице 35 данных, в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе 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 отличается. 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.

Таблица 35 - Эмбриотоксическое и тератогенное действие виапена ($M \pm m$)

Показатели	Виापен		Контроль (n=10)
	300 мг/кг (n=10)	900 мг/кг (n=10)	
Количество жёлтых тел	15,25±0,37	15,50±0,33	16,0±0,27
Количество мест имплантации	12,25±0,16	12,0±0,27	11,88±0,35
Количество живых плодов	10,88±0,23	11,13±0,13	10,50±0,33
Количество мёртвых плодов	1,13±0,23	1,13±0,13	1,38±0,18
Предимплантационная гибель, %	21,0±2,55	20,98±1,69	24,46±1,92
Постимплантационная гибель, %	10,45±2,05	10,13±1,15	13,23±1,84
Общая эмбриональная смертность, %	28,46±1,98	28,08±1,21*	32,57±1,51
Средний вес крысёнка, г	2,67±0,19	2,41±0,04	2,58±0,15
Кранио-каудальный размер, мм	37,16±0,68	37,46±0,50	37,64±0,44
Средняя масса плаценты, мг	528,3±5,0	532,4±7,0	531,3±11,9
Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета	нет	нет	нет

* $P < 0,05$ – по отношению к контролю

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.

При исследовании внутренних органов по методике Вильсона и состояния скелета по методике Доусона (в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР) эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы. Не было отмечено аномалий окостенения, а также изменений в состоянии нижней челюсти, твёрдого неба, носовой полости, глаз, головного и спинного мозга,

гортани, трахеи, лёгких, бронхов, крупных сосудов, сердца, диафрагмы, пищевода, желудка, кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочеточников, мочевого пузыря и половых органов у крыс, как опытных, так и контрольной групп.

Следует также отметить, что показатели физического развития и скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов крысят, рождённых от самок, получавших виапен в период беременности, не отличаются от животных контрольной группы. Так, у всех подопытных особей отлипание ушной раковины в среднем наблюдалось на 2-е сутки, появление первичного волосяного покрова - на 5-й день, прорезывание резцов - на 8-й день, а открытие глаз - на 15-16 день. В течение опыта не было отмечено гибели крысят контрольной и опытных групп, изменений двигательной активности.

Таким образом, на основании проведённых исследований можно сделать заключение, что введение виапена во время беременности самкам белых крыс не оказывает отрицательного влияния на физиологическое состояние животных, течение беременности и развитие плодов, что подтверждается отсутствием проявления врождённых пороков и выраженных отклонений в физическом развитии у потомства.

4.2.9 Определение остаточных количеств виапена в организме коров и свиноматок

Результаты изучения остаточных количеств норфлоксацина гидрохлорида и диоксидина в крови и молоке коров и свиноматок после введения виапена представлены на рисунках 10 и 11.

Как следует из представленных данных, при внутриматочном введении виапена его компоненты попадают в кровь и выделяются с молоком в более низких концентрациях (рисунках 10 и 11).

Количественное определение норфлоксацина и диоксидина 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.

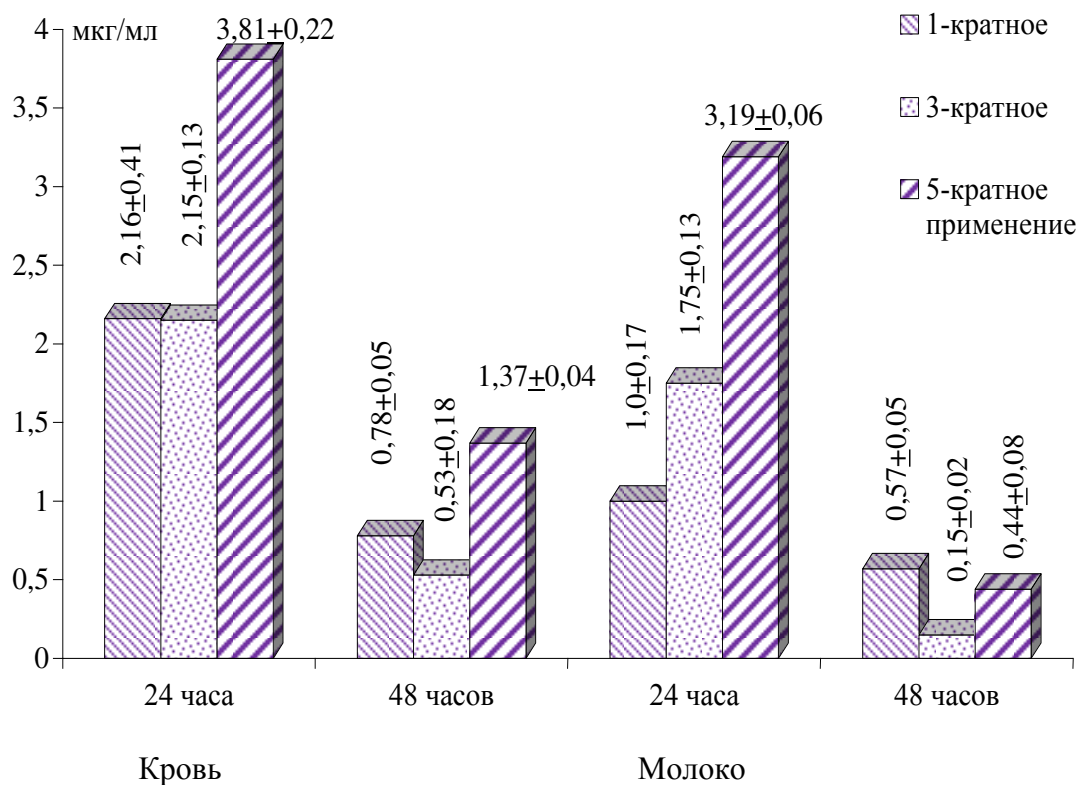


Рисунок 10 - Остаточные количества норфлоксацина в крови и молоке коров и свиноматок после применения виапена

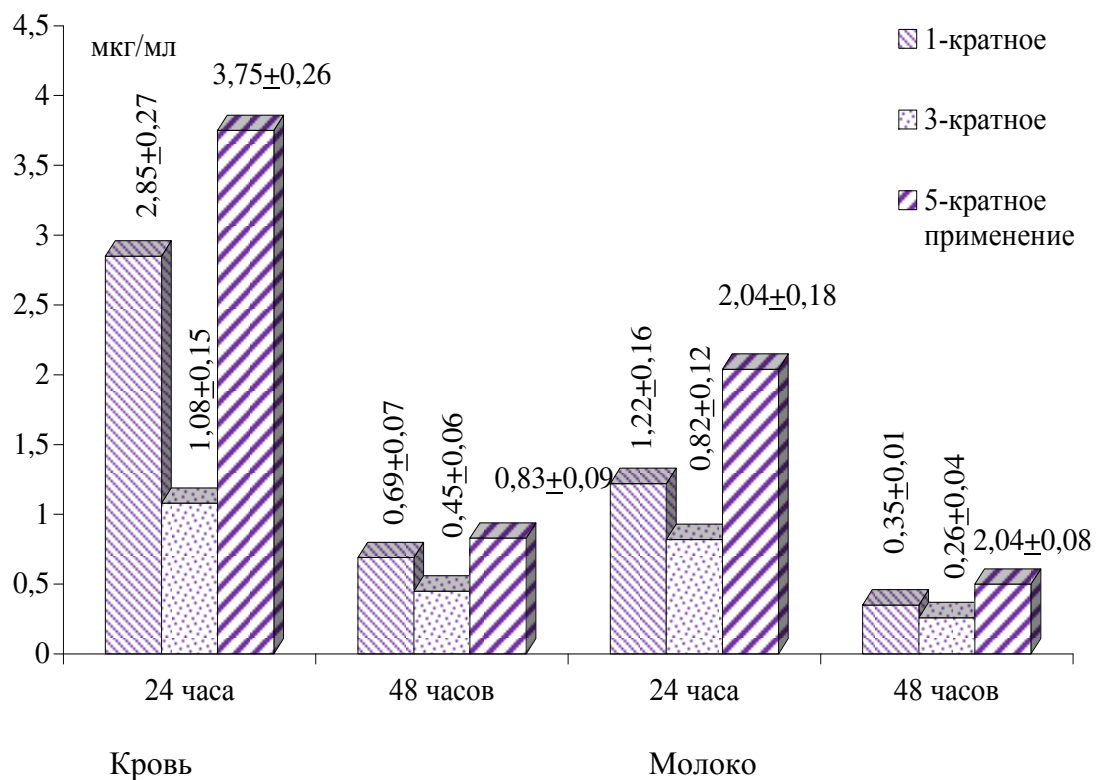


Рисунок 11 - Остаточные количества диоксидина в крови и молоке коров и свиноматок после применения виапена

У коров после пятикратного применения виапена регистрируется аналогичная динамика. Однако остаточные количества норфлоксацина и диоксицина фиксируются ниже предела количественного анализа (менее 0,025-0,035 мкг/мл) более длительное время - в течение 72 часов, а через 96 часов отсутствуют.

Результаты изучения остаточных количеств норфлоксацина гидрохлорида и диоксицина в мышцах, печени и почках коров и свиноматок после введения виапена представлены на рисунках 12 и 13.

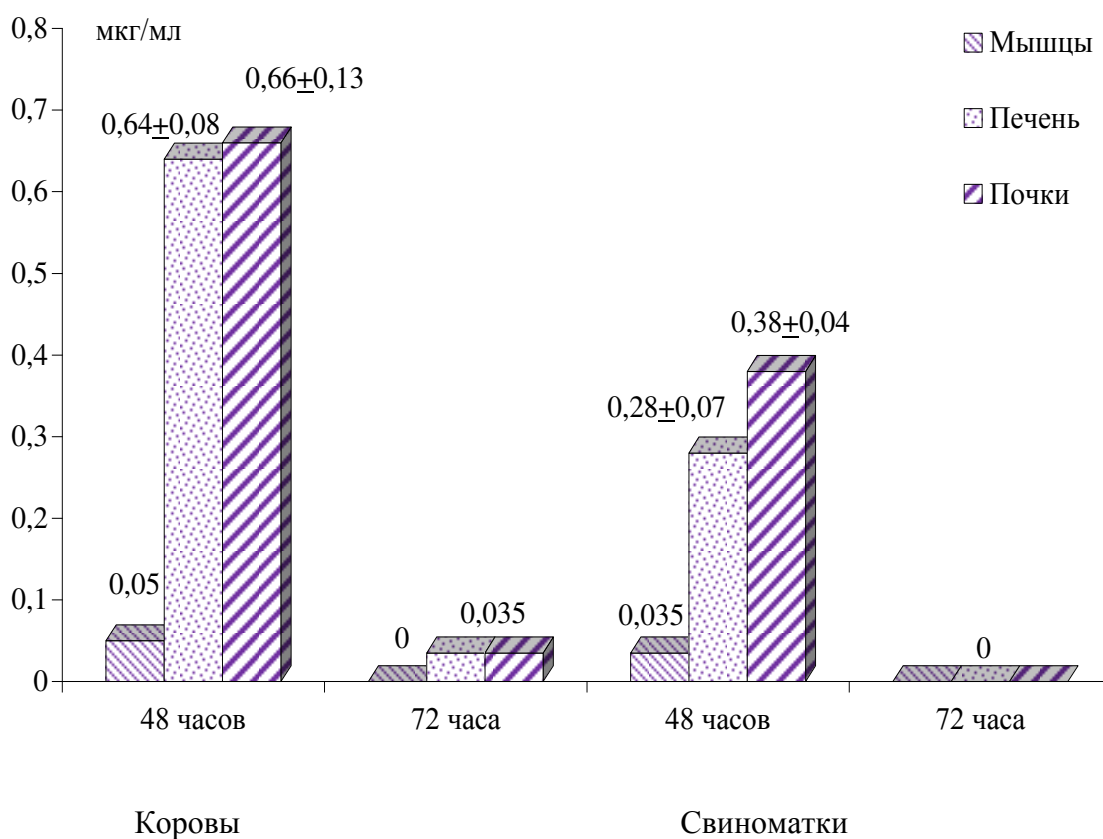


Рисунок 12 - Остаточные количества норфлоксацина в мышцах, печени и почках коров и свиноматок после применения виапена

Концентрации норфлоксацина и диоксицина в мышечной ткани коров и свиноматок, близкие к пределам детектирования, отмечаются в течение первых двух суток, а затем не обнаруживаются.

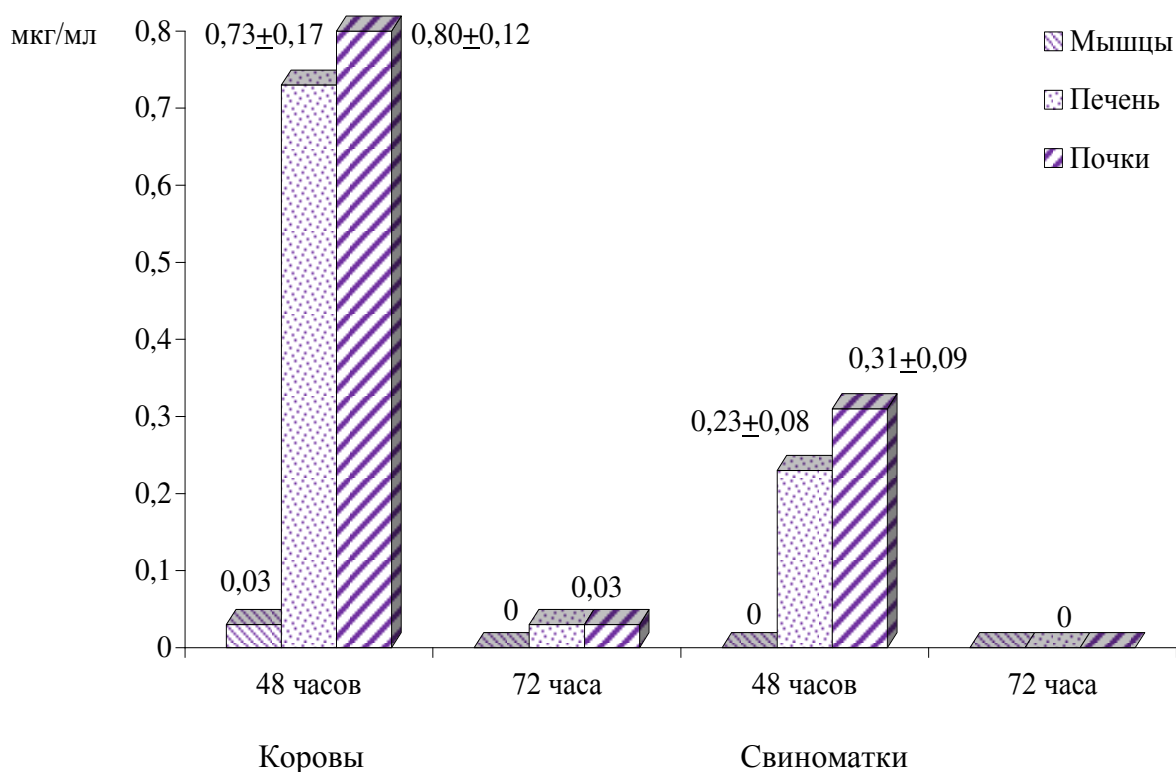


Рисунок 13 - Остаточные количества диоксилина в мышцах, печени и почках коров и свиноматок после применения виапена

Наибольший уровень норфлоксацина и диоксилина фиксируется 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, на основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что после 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, установлены следующие сроки ожидания: молоко в пищевых целях можно употреблять через 5 суток после последнего введения препарата, а убой животных может быть разрешён через 3 суток.

4.3 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ВИАПЕНА

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

Результаты первой серии опытов по определению оптимальной дозы виапена для лечения острого послеродового эндометрита коров представлены на рисунке 14.

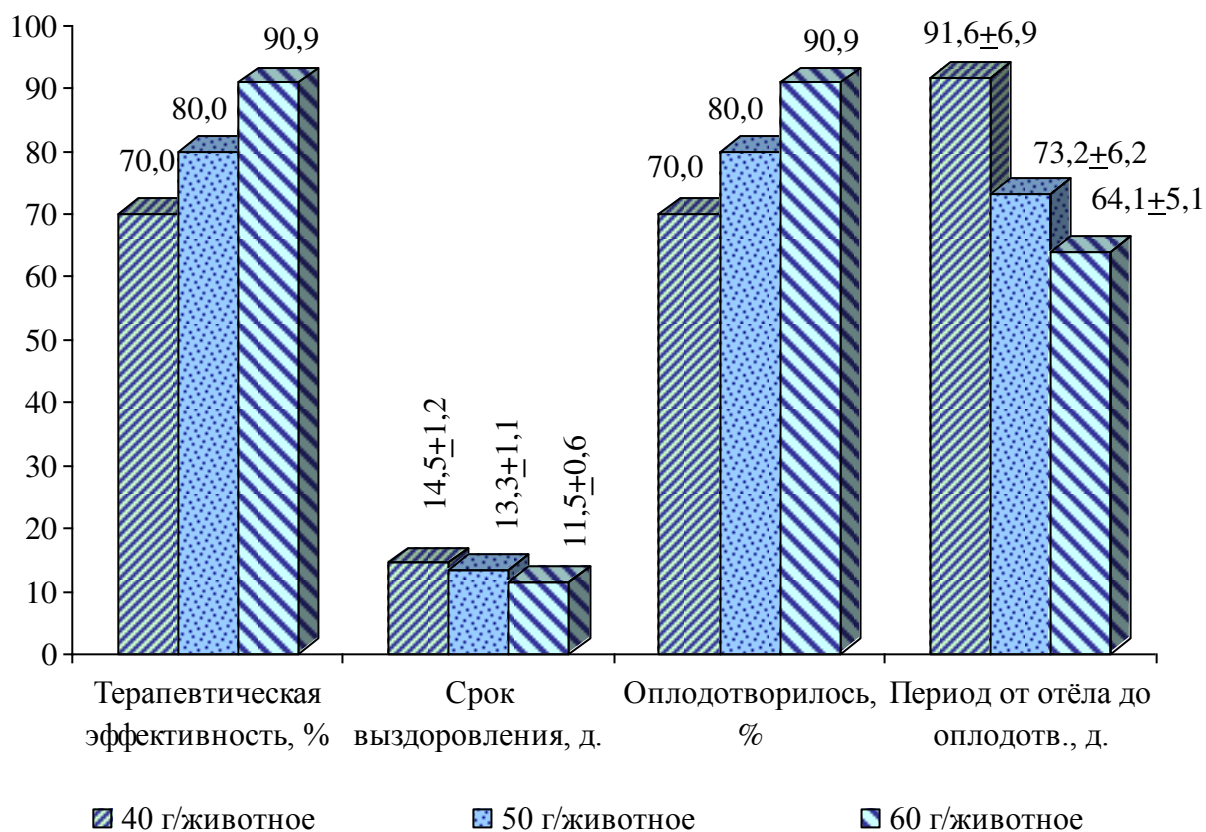


Рисунок 14 – Эффективность разных доз виапена при терапии острого послеродового эндометрита у коров

Как следует из представленных на рисунке 14 данных, при применении виапена в дозе 60 г/животное (n=11) выздоровело на 20,9% и 10,9% больше коров, 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 $3,36 \pm 0,27$; $P < 0,05$) и 1,2 раза (с $3,89 \pm 0,32$) соответственно.

После лечения острого послеродового эндометрита, включающего внутриматочное введение виапена в дозе 60 г/животное, оплодотворилось на 20,9% и 10,9% больше коров в сравнении с первой и второй группами соответственно, 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 ($2,91 \pm 0,17$; $P < 0,02$) и 1,2 раза ($2,33 \pm 0,12$) соответственно.

По результатам микробиологических исследований содержимого матки при применении виапена в дозе 40 г/животное было установлено, что контаминация органа *E. coli* снизилась в 1,5 раза (с 60,0% до 40,0%), а *Enterococcus spp.*, наоборот, возросла в 1,3 раза (с 40,0% до 50,0%). При введении виапена в дозе 50 г/животное контаминация матки микрофлорой снизилась в 1,7 раза (с 50,0% до 30,0%). До применения виапена в дозе 60 г/животное контаминация матки *E. coli* и *Enterococcus spp.* составила 54,5% и 36,4%, а после лечения патогенной и условно-патогенной микрофлоры не выявлено.

На основании результатов исследований можно сделать вывод, что рекомендуемая доза введения виапена составляет 60 г/животное.

Результаты второй серии опытов по определению интервала между введениями виапена представлены на рисунке 15.

Полученные данные свидетельствуют о том, что эффективность применения виапена с 48-часовым интервалом ($n=59$) была выше, чем при введении энроцида ($n=55$) на 13,9%. При этом период от отёла до оплодотворения по сравнению с базовым вариантом сократился на 22,2%, продолжительность выздоровления уменьшилась на 16,4%, оплодотворилось на 14,0% коров больше, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,4 раза (с $2,69 \pm 0,10$ до $1,92 \pm 0,04$; $P < 0,002$).

Эффективность применения виапена с 24-часовым интервалом ($n=97$) между введениями была выше на 20,9%, чем в контроле. При этом период от отёла до оплодотворения по сравнению с энроцидом сократился на 22,4%, сроки выздоровления уменьшились на 22,6%, оплодотворилось на 20,6% больше коров, а коэффициент оплодотворения снизился в 1,5 раза (до $1,84 \pm 0,03$; $P < 0,001$).

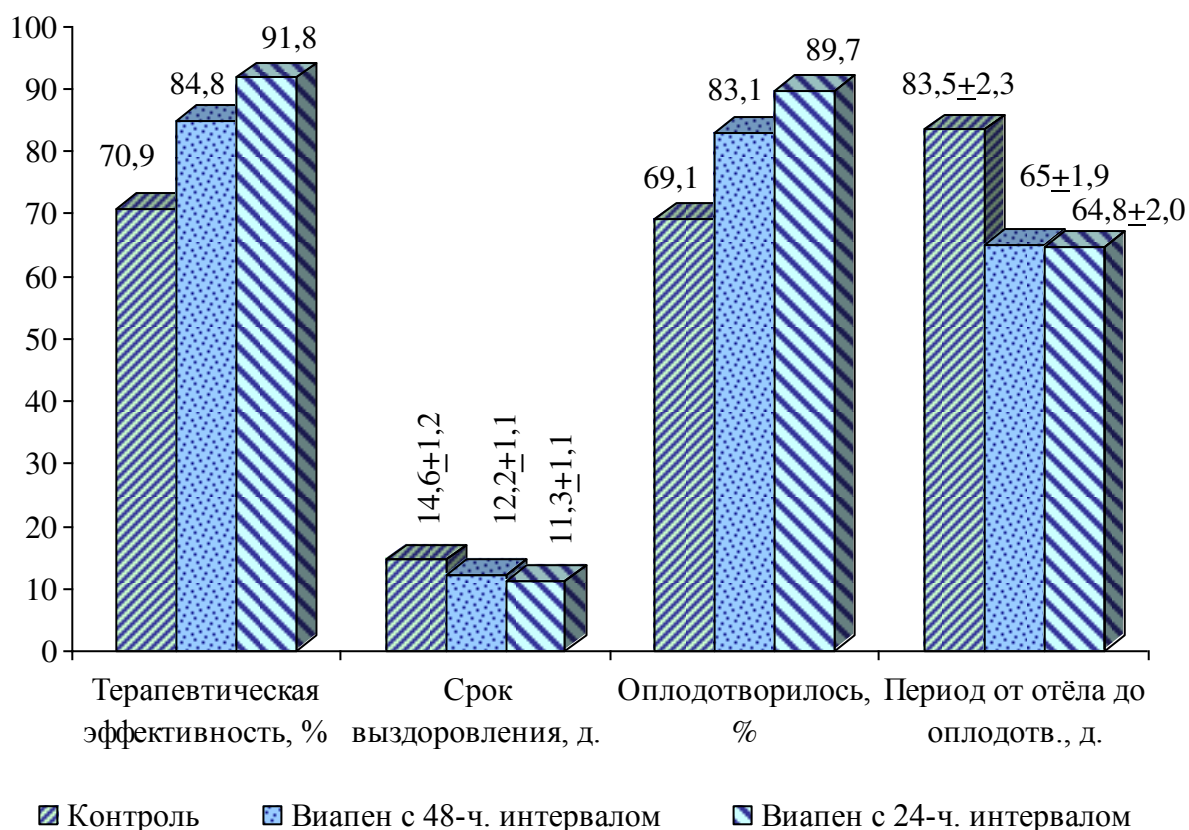


Рисунок 15 – Эффективность виапена при разном интервале между введениями

Следовательно, для терапии больных острым послеродовым эндометритом коров наиболее оптимальным является 24-часовой интервал между внутриматочными введениями виапена.

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

4.3.2 Определение оптимальной дозы виапена и кратности введения при лечении послеродовых заболеваний у свиноматок

Результаты первой серии опытов по определению оптимальной дозы препарата виапен для лечения свиноматок на примере метрит-мастит-агалактии представлены на рисунке 16.

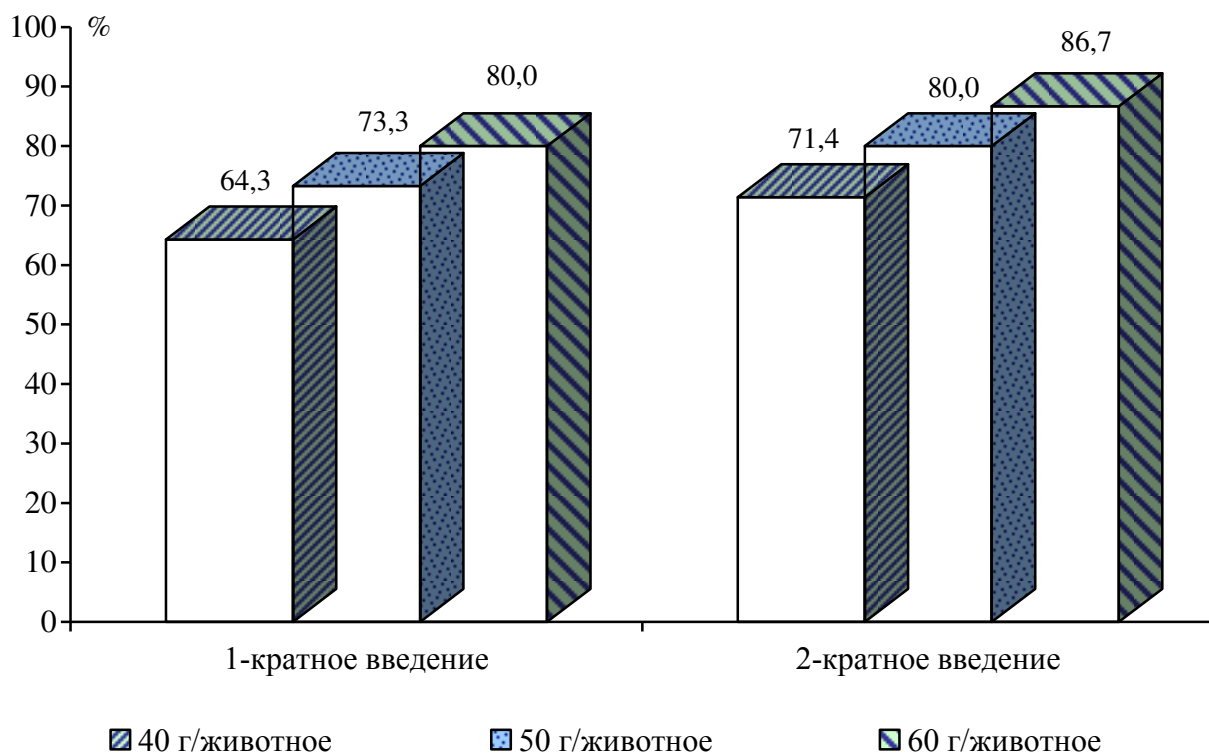


Рисунок 16 – Эффективность разных доз виапена для лечения свиноматок

Из представленных на рисунке 16 данных следует, что наибольший терапевтический эффект при метрит-мастит-агалактии 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 на 15,5%.

Во второй серии опытов изучили терапевтическую эффективность виапена при метрит-мастит-агалактии свиноматок (n=36) в зависимости от кратности введения в дозе 60 г/животное.

Терапевтический эффект после однократного внутриматочного введения виапена свиноматкам в дозе 60 г/животное при метрит-мастит-агалактии составил 80,6%, после двукратного – 88,9% и трёхкратного - 100,0%.

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

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

Результаты изучения терапевтической эффективности виапена при комплексном лечении послеродового эндометрита у коров представлены на рисунке 17.

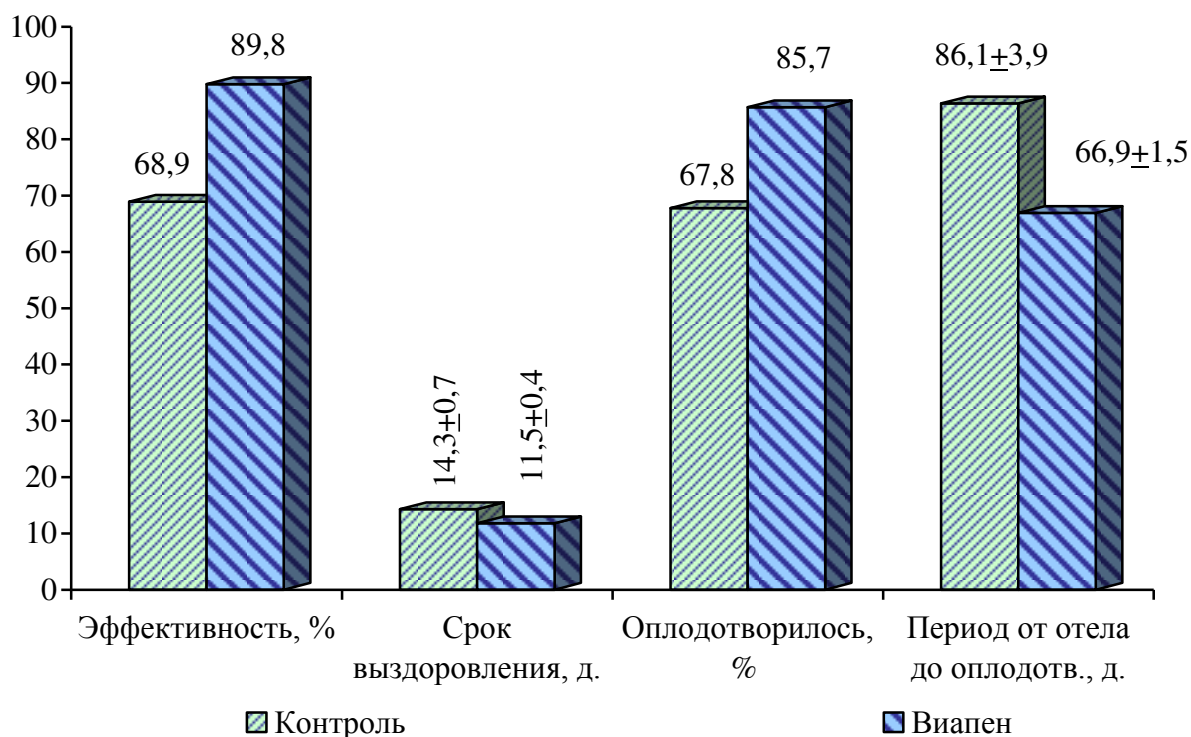


Рисунок 17 – Терапевтическая эффективность виапена при остром послеродовом эндометрите у коров

Оценка эффективности препарата свидетельствует о том, что при применении в качестве этиотропного средства виапена (n=98) в сравнении с энроцидом (n=90) эффективность лечения увеличилась на 20,9%, сроки выздоровления сократились на 19,6% при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств с $4,0 \pm 0,31$ до $3,2 \pm 0,22$ ($P < 0,05$). 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 (с $2,6 \pm 0,19$ - в контрольной группе до $1,9 \pm 0,14$ - в опытной; $P < 0,02$).

Результаты исследования морфологических и биохимических показателей крови (n=18), больных острым послеродовым эндометритом коров, до и после внутриматочного введения виапена представлены в таблице 36.

Таблица 36 - Показатели крови больных острым послеродовым эндометритом коров до и после комплексного лечения с применением виапена (M±m)

Показатели	До лечения	После лечения
HGB, g/L	108,3±3,02	129,0±1,91**
RBC, 10 ¹² /L	5,9±0,16	6,78±0,26*
HCT, %	36,6±0,76	37,88±0,67
WBC, 10 ⁹ /L	9,1±1,24	7,0±0,89
TP, g/L	80,83±3,73	81,4±2,91
Alb, g/L	47,3±1,84	48,3±1,17
α-Glob, g/L	9,9±0,66	10,2±0,84
β-Glob, g/L	14,1±0,51	14,3±0,96
γ-Glob, g/L	28,7±1,38	27,2±1,59
ALT, U/L	24,9±2,21	18,4±1,96*
AST, U/L	78,4±5,12	73,6±6,12
ALP, U/L	79,5±7,61	60,8±6,36
GGT, U/L	21,6±1,39	20,8±1,92
Urea, mM/L	3,35±0,22	3,28±0,19
Creat, μM/L	70,3±7,31	65,4±4,88
TL, g/L	3,95±0,08	4,89±0,32*
Chol, mM/L	2,28±0,36	2,08±0,16
Ca, mM/L	2,52±0,18	2,67±0,08
P, mM/L	1,82±0,11	1,85±0,15
Mg, mM/L	0,85±0,04	0,89±0,05

* - P < 0,05; ** - P < 0,001 - по отношению к показателям до лечения

Из результатов, представленных в таблице 36, следует, что в процессе выздоровления происходит нормализация гематологического и биохимического гомеостаза. Так, в крови у коров в конце комплексного лечения с использованием в качестве антимикробного средства виапена, увеличилось содержание эритроцитов и гемоглобина на 14,9% ($P < 0,05$) и 19,1% ($P < 0,001$) соответственно, что свидетельствует об активизации окислительно-восстановительных процессов в организме животных.

Динамика изменения витаминно-минерального обмена характеризовалась повышением в крови витаминов Е - на 27,5%, С - на 25,8% и А - на 12,5%, а также 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%.

В процессе выздоровления подопытных животных не было отмечено существенных изменений в показателях белкового обмена. Однако увеличение в крови уровня общих липидов на 23,8% ($P < 0,05$), при снижении концентрации холестерина на 8,8%, а также активности щелочной фосфатазы, аланин- и аспаргатаминотрансферазы - на 23,5% ($P < 0,05$), 26,1% и 6,1%, соответственно, свидетельствует об уменьшении нагрузки на печень, а понижение концентрации мочевины (на 2,1%) и креатинина (на 7,0%) - на почки.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что виапен обладает высокой терапевтической эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров и за счёт устранения этиологического фактора способствует восстановлению гомеостаза организма подопытных животных.

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

Результаты изучения терапевтической эффективности виапена при послеродовом гнойно-катаральном эндометрите и ММА у свиноматок представлены на рисунке 18.

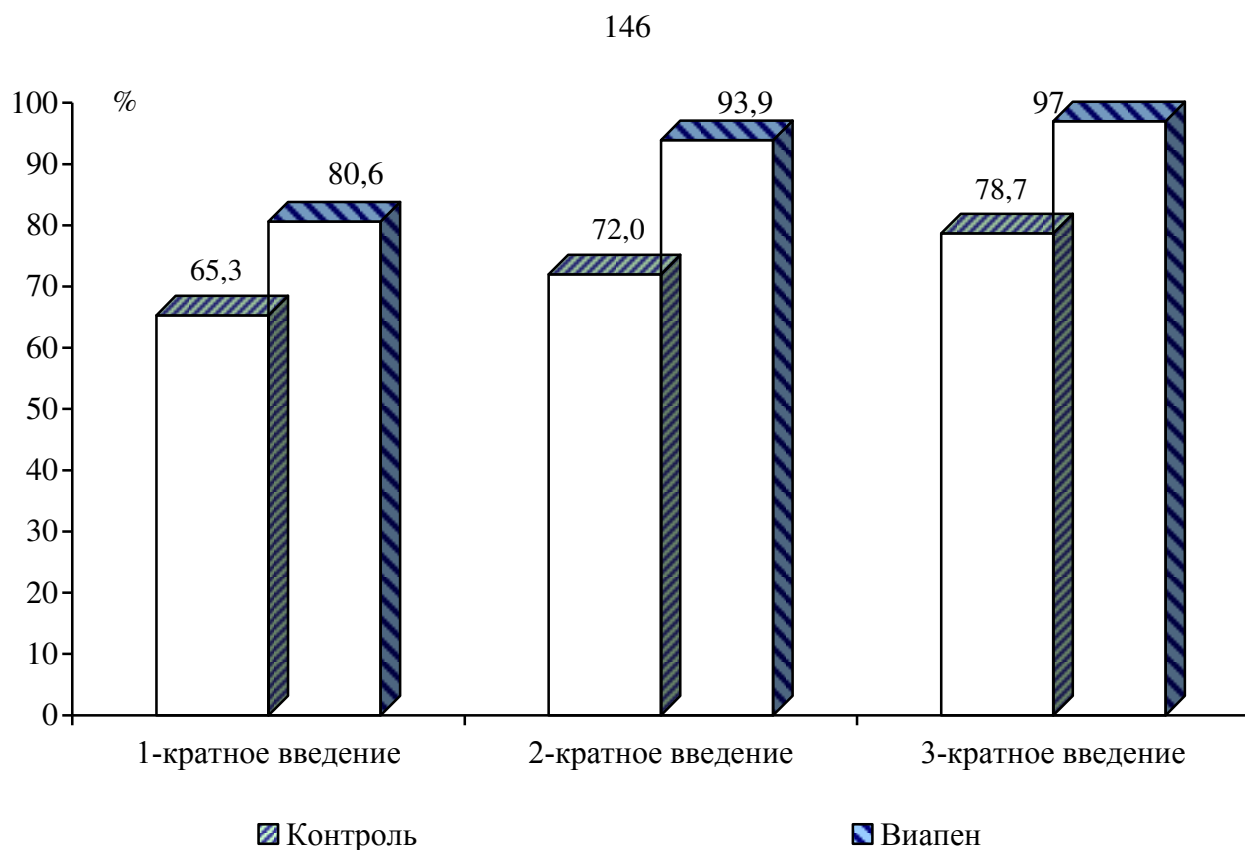


Рисунок 18 - Эффективность виапена при гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок

В результате исследования терапевтической эффективности было установлено, что после трёхкратного внутриматочного введения виапена больным гнойно-катаральным эндометритом ($n=98$) свиноматкам, выздоровело на 18,3% больше животных по сравнению с энроцидом ($n=75$).

Результаты изучения терапевтической эффективности виапена при гнойно-катаральном эндометрите и ММА у свиноматок представлены на рисунке 19.

В результате исследования терапевтической эффективности было установлено, что после трёхкратного внутриматочного введения виапена больным ММА ($n=82$) свиноматкам, выздоровело на 10,4% больше животных по сравнению с энроцидом ($n=71$).

Следовательно, виапен обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении гнойно-катарального эндометрита и ММА у свиноматок.

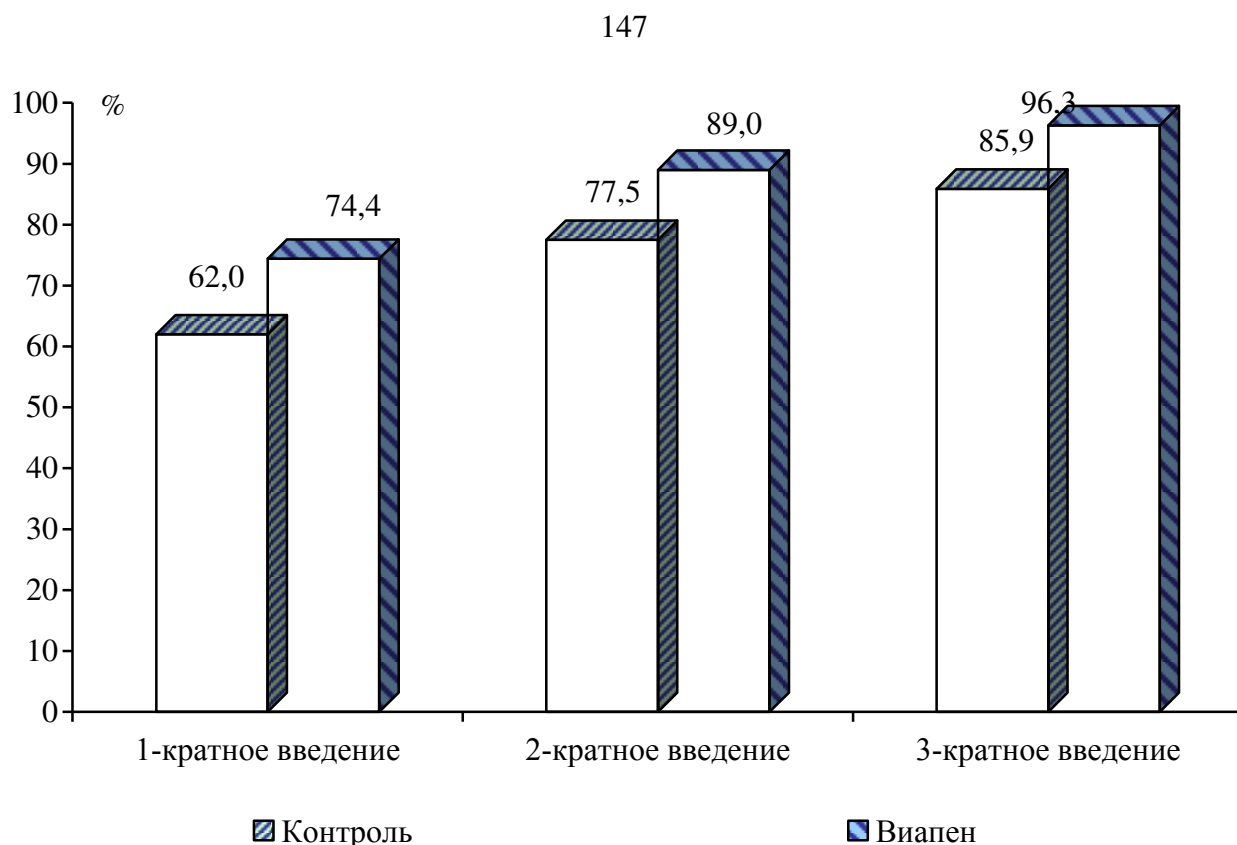


Рисунок 19 - Эффективность виапена при ММА у свиноматок

При исследовании крови, полученной от свиноматок (по n=10) до и после лечения, выявлены изменения показателей, свидетельствующие о нормализации метаболических процессов у животных и их выздоровлении (таблица 37).

Таблица 37 - Показатели крови больных свиноматок до и после лечения (M±m)

Показатели	До лечения		После лечения	
	Энроцид	Виापен	Энроцид	Виापен
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	116,6±2,71	109,9±0,80	105,9±2,24**	115,4±4,09
RBC, 10 ¹² /L	5,1±0,08	5,3±0,14	5,2±0,20	6,03±0,32*
HCT, %	36,8±0,97	35,4±1,17	33,2±0,70**	37,2±1,48
WBC, 10 ⁹ /L	9,8±0,39	10,2±1,13	11,5±0,35**	13,3±0,66*
TP, g/L	81,9±0,92	78,5±2,26	85,4±3,63	82,5±1,48
Alb, g/L	40,4±0,76	41,5±0,96	41,6±1,11	42,7±1,56

1	2	3	4	5
α -Glob, g/L	19,08±1,79	17,2±0,70	16,6±1,54	16,9±1,64
β -Glob, g/L	18,9±1,09	20,9±0,86	17,8±0,56	17,7±0,55**
γ -Glob, g/L	21,5±1,29	20,3±1,31	23,9±1,05	22,7±1,0,7
ALT, U/L	36,7±3,61	38,5±4,99	39,3±2,71	37,1±2,69
AST, U/L	45,2±4,17	58,0±7,12	29,5±3,18*	33,5±3,20**
ALP, U/L	103,4±22,0	90,8±10,1	56,8±6,72*	59,4±7,61*
GGT, U/L	32,3±2,75	43,0±13,1	32,0±7,66	43,6±10,2
Urea, mM/L	3,42±0,54	4,1±0,91	4,5±0,41	5,03±0,41
Creat, μ M/L	125,2±5,07	122,0±4,1	136,4±6,82	125,3±2,19
Glu, mM/L	3,38±0,33	3,32±0,34	3,35±0,30	3,12±0,16
TL, g/L	3,35±0,14	3,09±0,06	2,98±0,36	2,65±0,14*
Chol, mM/L	2,26±0,13	2,29±0,36	2,77±0,37	2,04±0,26
Vit. A, μ M/L	1,53±0,16	1,20±0,06	1,46±0,064	1,39±0,10
Vit. E, mM/L	9,94±0,73	9,53±0,60	11,1±0,72	10,7±0,50
Ca, mM/L	2,37±0,06	2,41±0,04	2,49±0,10	2,64±0,13
P, mM/L	2,23±0,24	2,08±0,19	1,83±0,17	1,94±0,23
Mg, mM/L	0,79±0,02	0,78±0,04	0,87±0,03*	0,94±0,04*
Cu, μ M/L	17,27±1,38	15,63±1,42	15,30±0,70	15,02±0,27
Zn, μ M/L	39,33±1,71	39,82±2,33	42,75±0,57*	43,49±0,48
Mn, μ M/L	2,00±0,18	2,35±0,17	2,58±0,09*	2,77±0,12*
API, nM/L	283,66±18,91	279,72±12,61	262,39±137,89	315,97±8,67*
Fe, μ M/L	3,92±0,11	3,87±0,13	3,90±0,10	3,96±0,08

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$ - по отношению к показателям до лечения

У свиноматок в конце лечения с использованием в качестве антимикробного средства виапена, увеличивалось содержание в крови эритроцитов на 13,2% ($P < 0,05$), гемоглобина и гематокрита - на 5,0%, что

свидетельствовало об активизации окислительно-восстановительных процессов в их организме.

Повышение в крови выздоравливающих животных количества лейкоцитов на 30,4% ($P < 0,05$) и γ -глобулинов на 11,8% за счёт понижения β -глобулинов на 15,3% ($P < 0,01$), свидетельствовало об интенсификации защитных механизмов в их организме.

Также отмечалось уменьшение нагрузки на печень: активность аспаратаминотрансферазы и щелочная фосфатазы снизилась на 42,2% ($P < 0,01$) и 34,6 ($P < 0,05$) соответственно. При этом повышение концентрации в крови общего кальция на 9,5%, при понижении неорганического фосфора на 6,7% свидетельствовало о нормализации фосфорно-кальциевого обмена.

Динамика изменения витаминно-минерального обмена характеризовалась повышением в крови витаминов А и Е на 15,8% и 10,9% соответственно, а также магния, марганца, связанного с белком йода и цинка на 20,5% ($P < 0,05$), 17,9% ($P < 0,05$), 13,0% ($P < 0,05$) и 9,2% соответственно.

Следовательно, представленные изменения морфологических и биохимических показателей крови указывают на восстановление гомеостаза подопытных животных в процессе лечения.

Для оценки терапевтической эффективности виапена при ММА у свиноматок до и после лечения было проведено исследование секрета молочной железы. Результаты опыта представлены на рисунке 20.

При исследовании 91 пробы молозива было установлено, что до лечения количество соматических клеток (СК) в здоровых, условно-здоровых и поражённых долях составило $608,1 \pm 36,7$, $1444,1 \pm 78,9$ и $2553,4 \pm 187,4$ тыс./мл соответственно.

После лечения свиноматок энроцидом ($n=46$) мастит регистрировали в 2,8 раза реже, а в поражённых долях молочной железы было отмечено снижение концентрации соматических клеток до $1339,9 \pm 212,7$ тыс./мл.

Введение виапена ($n=45$) снизило поражённость долей молочной железы маститом в 5,9 раза, при значительном уменьшении количества соматических клеток

в секрете в поражённых долях молочной железы до $1146,6 \pm 82,3$ тыс./мл.

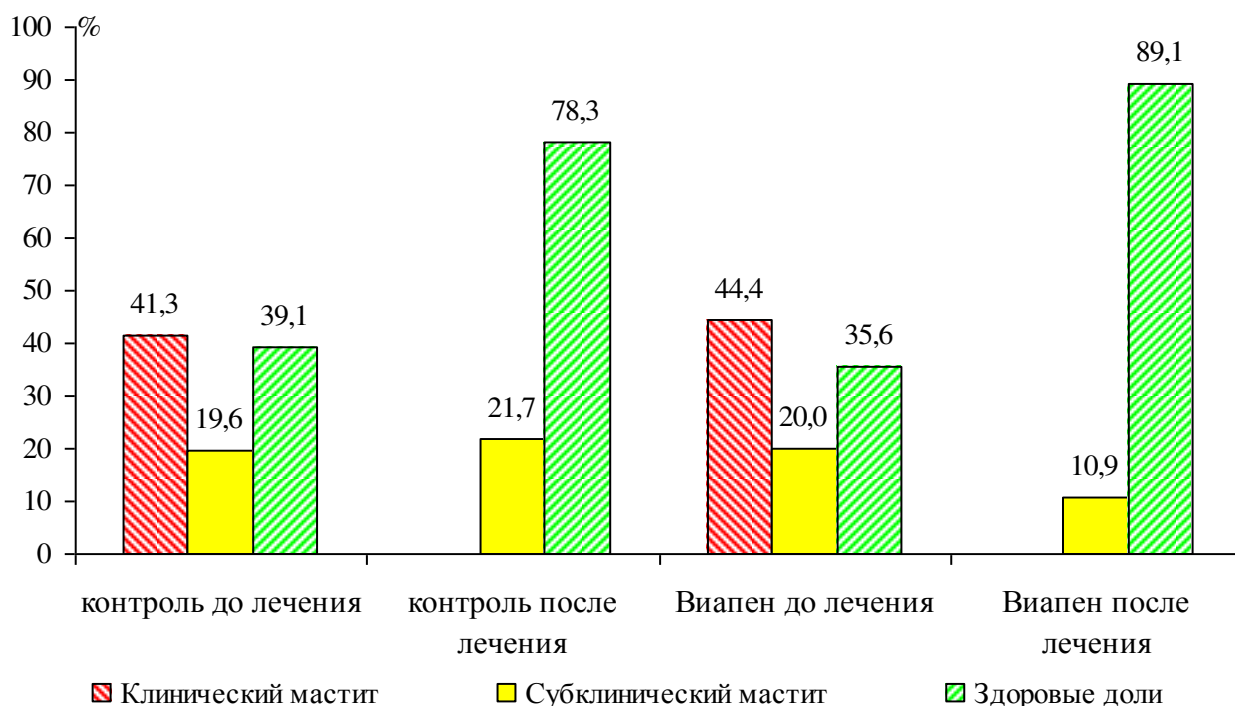


Рисунок 20 – Динамика изменения количества соматических клеток при внутриматочном введении антимикробных средств при ММА свиноматок

Следовательно, внутриматочное введение антимикробных препаратов для терапии воспалительных заболеваний матки одновременно способствует снижению заболеваемости молочной железы. Необходимо отметить, что количество поражённых долей у свиноматок после внутриматочного введения виапена оказалось меньше контроля в 2,0 раза.

Таким образом, виапен в дозе 60,0 г на животное при введении с 24-часовым интервалом обладает высокой терапевтической эффективностью при метрит-мастит-агалактии и гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок.

4.3.5 Эффективность применения виапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Результаты оценки виапена при профилактике острого послеродового эндометрита у коров, представленные на рисунке 21, свидетельствуют, что эффективность применения изучаемого препарата при самопроизвольном ($n=97$)

и оперативном отделении последа (n=88) выше на 13,6% и на 17,3% соответственно, чем после применения энроцида (n=87 и n=96, соответственно), и в 1,3 и 5,8 раз соответственно выше, чем в отрицательном контроле (n=55 и n=50, соответственно).

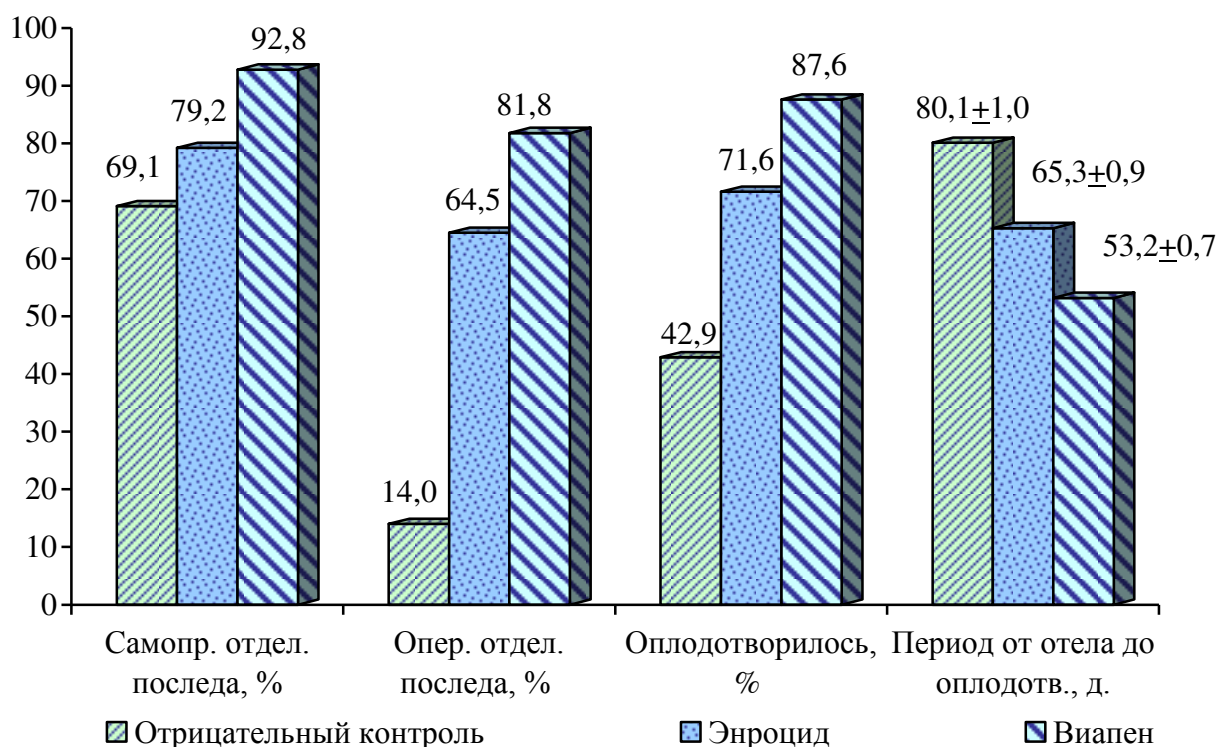


Рисунок 21 - Эффективность применения виапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

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 ($P < 0,005$) соответственно (с $2,0 \pm 0,14$ и $2,29 \pm 0,13$ до $1,67 \pm 0,06$).

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

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

Результаты оценки профилактической эффективности применения виапена при послеродовом эндометрите и ММА у свиноматок представлены на рисунке 22.

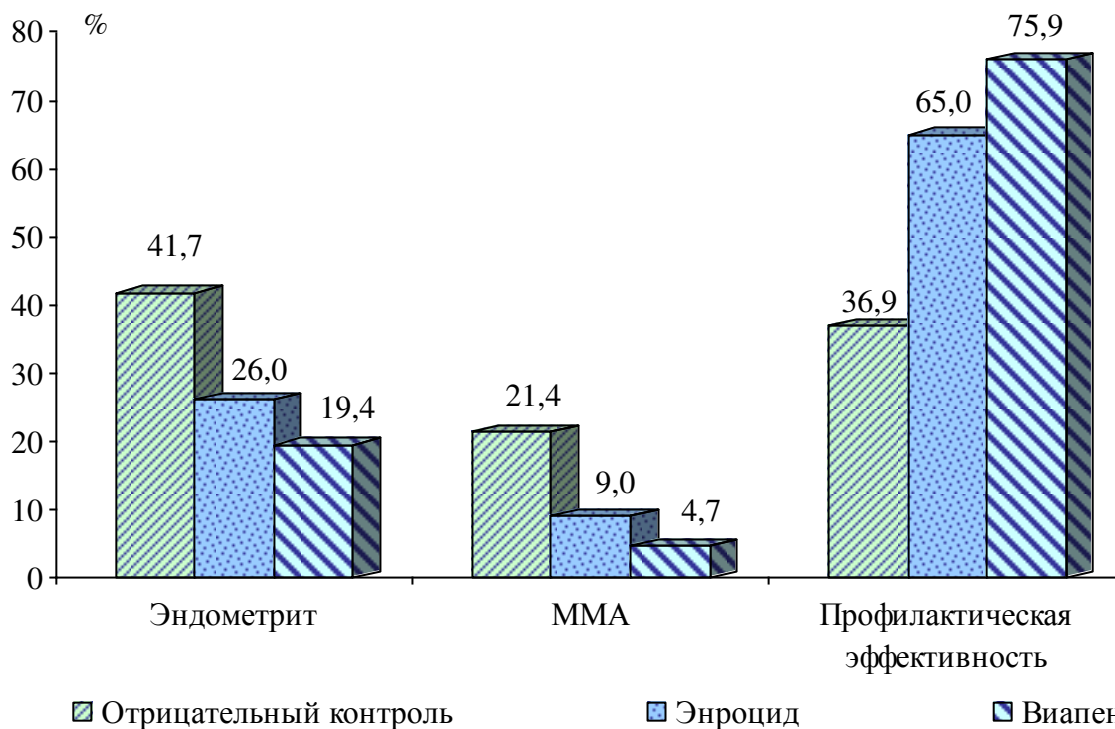


Рисунок 22 - Эффективность применения виапена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок

Наибольшая профилактическая эффективность послеродовых заболеваний установлена в группе животных, которым применяли виапен (n=129). 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 метрит-мастит-агалактии – в 2,0 раза, а при эндометрите – в 1,3 раза.

При исследовании молозива, взятого у свиноматок перед введением препаратов, в 25,0% секреторирующих долей молочной железы первой (n=28), в

22,6% - второй (n=31) и в 21,2% - третьей (n=33) групп было обнаружено повышенное количество соматических клеток (свыше 2 млн./мл). Через 5-6 суток после введения препаратов был установлен субклинический мастит - повышенное количество соматических клеток в 21,4% функционирующих долей молочных желёз группы контроля, в 12,9% - группы сравнения и в 9,1% - опытной группы.

Результаты проведённых исследований позволяют сделать вывод, что внутриматочное введение виапена через 4-6 часов после родов уменьшает риск развития субклинического мастита по отношению к отрицательному контролю и энроциду в 2,0 и 1,3 раза соответственно.

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

4.4 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА

4.4.1 Антимикробная активность флоропена

Результаты изучения антимикробной активности препарата флоропен представлены на рисунке 23.

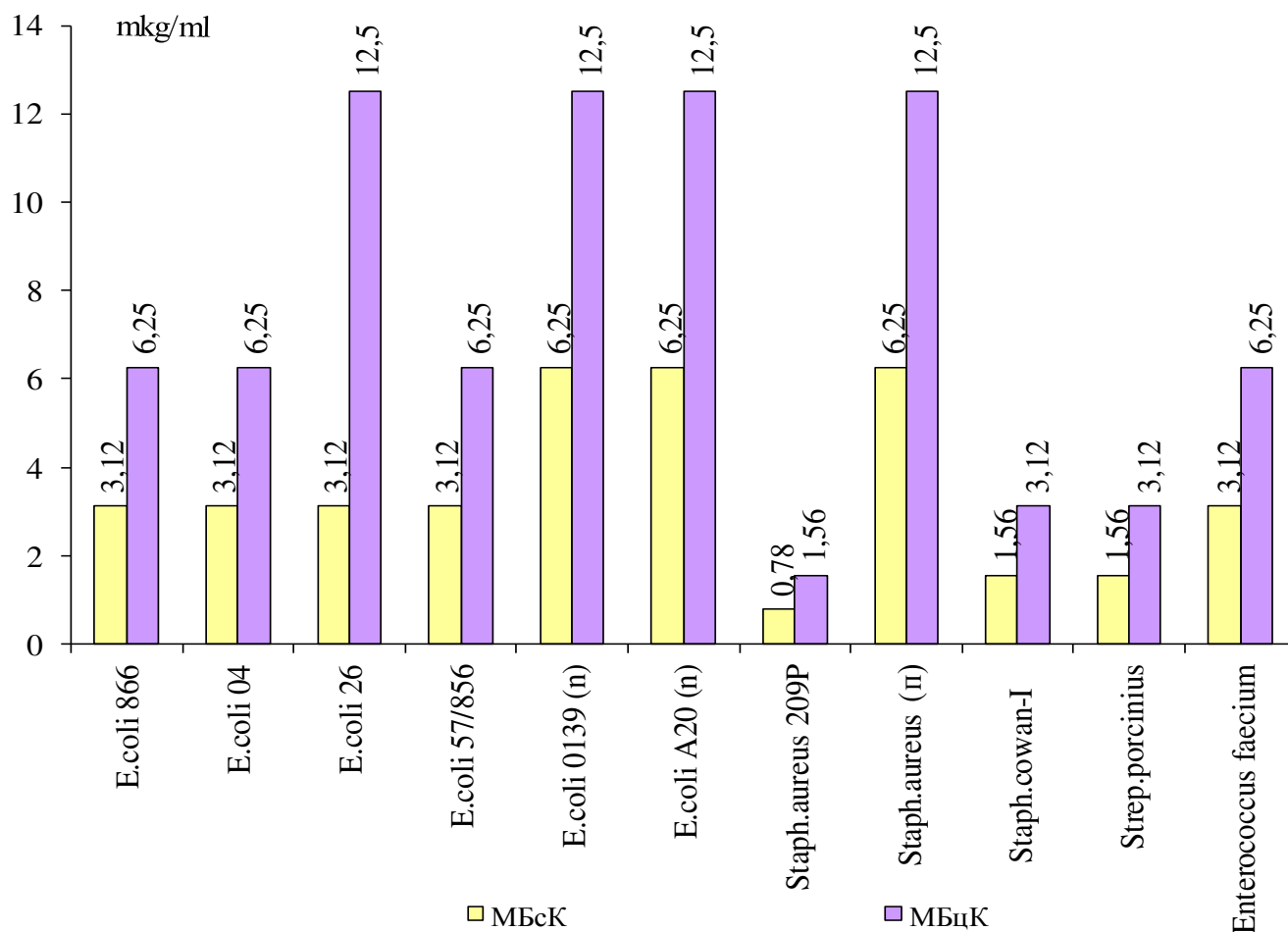


Рисунок 23 – Антимикробная активность флоропена

Согласно полученным результатам, флоропен обладает высокой антимикробной активностью в отношении кокков: МБсК составила 0,78-3,12 мкг/мл, МБцК – 1,56-12,5 мкг/мл. МБсК в отношении E. coli составила 3,12-6,25 мкг/мл, МБцК – 6,25-12,5 мкг/мл.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что препарат флоропен обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия, что свидетельствует о целесообразности применения

флоропена для лечения и профилактики послеродовых заболеваний у коров и свиноматок.

4.4.2 Острая токсичность флоропена

Оценка острой токсичности флоропена проведена при пероральном, подкожном и внутрибрюшинном способе введения. При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутривенно в дозах от 5000,0 до 30000,0 мг/кг массы тела.

Результаты, полученные при пероральном введении препарата лабораторным животным (таблица 38), используются для расчёта величины ЛД₅₀ флоропена.

Таблица 38 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ флоропена при пероральном введении белым мышам и белым крысам

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
7500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
12500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
17500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
20000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
22500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
25000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
27500,0	8	12,5	3,8496	3,0487
30000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
Белые крысы				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
7500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
12500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
17500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
20000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
22500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
25000,0	8	12,5	3,8496	3,0487

Среднелетальную дозу (ЛД₅₀) определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутрижелудочном введении препарата в максимальном объёме в дозе 25000,0 мг/кг для белых крыс и 30000,0 мг/кг для белых мышей массы тела.

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].

При подкожном способе введения флоропен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 10000,0 до 25000,0 мг/кг. Результаты исследований представлены в таблице 39.

Таблица 39 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ флоропена при подкожном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
12500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	12,5	3,8496	3,0487

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
17500,0	8	25,0	4,3258	4,1516
20000,0	8	50,0	5,0	5,0
22500,0	8	75,0	5,6742	4,1516
25000,0	8	96,9	6,8631	1,2737
Белые крысы				
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
12500,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
17500,0	8	25,0	4,3258	4,1516
20000,0	8	50,0	5,0	5,0
22500,0	8	75,0	5,6742	4,1516
25000,0	8	96,9	6,8631	1,2737

На основании данных, представленных в таблице 39, были рассчитаны параметры острой токсичности флоропена при подкожном введении лабораторным животным (таблица 40).

Таблица 40 - Параметры острой токсичности флоропена для лабораторных животных при подкожном введении (мг/кг)

Параметры	Белые мыши	Белые крысы
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
МПД	12500	12500
ЛД ₁₀	14396,82	14396,82
ЛД ₁₆	15551,45	15551,45
ЛД ₅₀	19649,79 (15927-23373)	19649,79 (15927-23373)
ЛД ₈₄	23748,14	23748,14
ЛД ₉₀	24902,76	24902,76

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
ЛД ₁₀₀	25797,3161	25797,3161
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	969,70	969,70
Уровень надёжности	0,953	0,953

Следовательно, флоропен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при подкожном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

При внутрибрюшинном способе введения флоропен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 5000,0 до 19000,0 мг/кг массы тела.

Таблица 41 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ флоропена при внутрибрюшинном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
7000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
9000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
11000,0	8	37,5	4,6818	4,6818
13000,0	8	50,0	5,00	5,00
15000,0	8	75,0	5,6742	4,1516
17000,0	8	87,5	6,1505	3,0487
19000,0	8	96,9	6,8632	1,2737
Белые крысы				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
7000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
9000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
11000,0	8	37,5	4,6818	4,6818

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
13000,0	8	62,5	5,3182	4,6818
15000,0	8	75,0	5,6742	4,1516
17000,0	8	87,5	6,1504	3,0487
19000,0	8	96,9	6,8631	1,2737

На основании данных, представленных в таблице 41, были рассчитаны параметры острой токсичности флоропена при внутрибрюшинном введении (таблица 42).

Таблица 42 - Параметры острой токсичности флоропена для лабораторных животных при внутрибрюшинном введении (мг/кг)

Параметры токсичности	Белые мыши	Белые крысы
МПД	5000,00	5000,00
ЛД ₁₀	6892,62	6741,08
ЛД ₁₆	8069,22	7897,01
ЛД ₅₀	12245,59 (9253-15238)	12000,00 (9060-14940)
ЛД ₈₄	16421,95	16102,99
ЛД ₉₀	17598,55	17258,92
ЛД ₁₀₀	18510,13	18154,49
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	841,24	828,68
Уровень надёжности	0,953	0,953

Следовательно, флоропен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при внутрибрюшинном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

Острое отравление препаратом у белых мышей и белых крыс при внутрижелудочном, подкожном и внутрибрюшинном введении сопровождались симптомами возбуждения, которые сменялись угнетением, переходящим в кому.

При вскрытии павших лабораторных животных были зарегистрированы признаки гемодинамического расстройства. Застой венозной крови был особенно выражен в тканях лёгких, сердца, печени, почках и брыжеечных сосудах. Через 14 дней после начала опыта выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для проведения патологоанатомического исследования, которое показало отсутствие патологических изменений в их организме.

4.4.3 Безвредность (переносимость) флоропена на сельскохозяйственных животных

В результате проведённых исследований было установлено, что однократное применение флоропена в дозах 60 г и 180 г на животное не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса у животных опытных и контрольной групп.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови здоровых коров и свиноматок через 7 и 14 дней после однократного введения флоропена в терапевтической и 3-кратно превышающей дозы представлены в таблицах 43-46.

Таблица 43 - Показатели крови здоровых коров через 7 дней после введения флоропена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Флоропен 60 г (n=5)	Флоропен 180 г (n=5)	Контроль (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	109,37±3,67	109,75±2,21	108,89±3,89
RBC, 10 ¹² /L	5,56±0,21	5,47±0,38	5,83±0,27
WBC, 10 ⁹ /L	7,18±0,81	7,97±1,83	7,73±1,61
EOS, %	5,28±2,11	5,12±1,49	5,76±1,76

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
BAND, %	2,21±0,32	2,36±0,57	2,45±0,13
SEGS, %	39,17±3,51	39,95±3,41	38,18±3,35
MON, %	2,28±0,47	2,15±0,23	2,01±0,45
LYM, %	51,06±3,25	50,42±3,53	51,60±2,21
TP, g/L	72,32±2,55	72,41±5,33	71,76±3,14
ALT, U/L	32,83±9,01	26,83±2,81	33,5±5,65
AST, U/L	62,48±3,52	66,88±0,88	72,16±5,28
ALP, U/L	36,57±5,39	33,95±7,14	35,79±3,67
T.bil., μM/L	4,1±0,56	4,8±0,68	4,5±0,72
Urea, mM/L	3,85±0,14	3,80±0,62	4,2±0,5
Creat, μM/L	70,67±8,0	82,83±13,10	79,5±1,8
Glu, mM/L	3,00±0,24	3,10±0,10	3,14±0,16
TL, g/L	3,28±0,12	3,34±0,21	3,18±0,16
Chol, mM/L	2,48±0,17	2,29±0,12	2,0±0,19
Ca, mM/L	2,43±0,05	2,54±0,08	2,48±0,08
P, mM/L	1,89±0,07	1,93±0,04	2,00±0,07

Таблица 44 - Показатели крови здоровых коров через 14 дней после введения флоропена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Флоропен 60 г (n=5)	Флоропен 180 г (n=5)	Контроль (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	108,75±2,99	106,3±3,24	109,29±3,21
RBC, 10 ¹² /L	5,89±0,24	5,64±0,52	5,55±0,23
WBC, 10 ⁹ /L	8,87±1,83	9,2±1,5	8,18±0,81
EOS, %	5,69±1,45	5,3±0,73	5,36±2,3

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
BAND, %	2,12±0,31	2,3±0,13	1,89±0,54
SEGS, %	38,89±3,66	35,6±1,77	38,76±3,81
MON, %	51,31±3,88	54,4±2,20	51,88±3,48
LYM, %	1,99±0,69	2,4±0,23	2,11±0,23
TP, g/L	67,77±1,38	67,99±1,64	66,68±0,75
ALT, U/L	33,5±6,51	30,17±4,66	32,84±3,78
AST, U/L	68,32±4,40	64,60±2,84	65,0±3,27
ALP, U/L	32,34±3,82	31,41±5,53	28,89±3,92
Urea, mM/L	3,70±0,21	3,67±0,46	3,85±0,28
Creat, µM/L	76,45±9,10	76,31±11,25	74,67±10,86
Glu, mM/L	2,5±0,21	2,72±0,17	2,7±0,22
TL, g/L	3,08±0,1	3,0±0,14	3,13±0,18
Chol, mM/L	2,39±0,20	2,34±0,16	2,29±0,21
Ca, mM/L	2,55±0,07	2,62±0,06	2,47±0,12
P, mM/L	0,87±0,20	2,0±0,1	2,1±0,08

Как следует из данных, представленных в таблицах 43-44, при применении флоропена в терапевтической и 3-кратно её превышающей дозе, гематологические и основные показатели обмена веществ коров опытных групп оставались в пределах референсных значений и достоверно не отличались от животных контрольной группы.

Как следует из данных, представленных в таблицах, при применении флоропена в терапевтической и 3-кратно её превышающей дозе, основные морфологические и биохимические показатели крови свиноматок опытных групп оставались в пределах референсных значений и достоверно не отличались от животных контрольной группы.

Таблица 45 - Показатели крови здоровых свиноматок через 7 дней после введения флоропена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Флоропен 60 г (n=8)	Флоропен 180 г (n=8)	Контроль (n=8)
HGB, g/L	135,1±5,23	129,9±8,19	134,6±4,18
RBC, 10 ¹² /L	6,19±0,11	6,04±0,36	6,11±0,42
WBC, 10 ⁹ /L	13,7±0,68	15,1±0,75	14,8±0,93
BAS, %	-	0,33±0,21	-
EOS, %	3,60±0,25	3,73±0,39	3,82±0,16
BAND, %	4,80±0,19	5,26±0,70	5,10±0,54
SEGS, %	36,4±2,76	35,0±3,24	35,6±3,03
MON, %	3,92±0,81	3,59±0,55	3,67±0,70
LYM, %	51,3±3,66	52,1±5,32	51,8±4,63
TP, g/L	83,4±3,29	82,7±4,10	81,3±4,51
ALT, U/L	46,9±3,99	52,2±5,24	49,1±4,56
AST, U/L	59,1±3,71	60,4±7,13	63,7±5,28
ALP, U/L	150,3±12,0	145,9±9,81	151,2±10,1
GGT, U/L	26,0±1,99	25,3±4,16	23,8±3,24
Urea, mM/L	3,17±0,12	3,56±0,31	3,49±0,09
Creat, μM/L	102,1±2,19	96,9±1,11	98,6±4,08
Glu, mM/L	4,39±0,25	4,45±0,20	4,66±0,41
Chol, mM/L	2,20±0,09	2,06±0,07	2,11±0,07
TL, g/L	3,37±0,20	3,21±0,19	3,12±0,26
Ca, mM/L	2,60±0,08	2,65±0,19	2,63±0,11
P, mM/L	1,94±0,08	1,90±0,12	1,89±0,08

Таблица 46 - Показатели крови здоровых свиноматок через 14 дней после введения флоропена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Флоропен 60 г (n=8)	Флоропен 180 г (n=8)	Контроль (n=8)
HGB, g/L	139,3±4,12	133,1±5,02	136,1±6,04
RBC, 10 ¹² /L	6,13±0,29	6,17±0,44	6,04±0,51
WBC, 10 ⁹ /L	13,2±0,49	14,5±0,53	14,0±0,71
BAS, %	0,50±0,34	0,50±0,22	0,17±0,17
EOS, %	3,00±0,97	3,50±0,67	3,67±0,76
BAND, %	4,50±0,21	4,56±0,32	4,78±0,40
SEGS, %	38,9±3,62	39,0±5,02	39,8±4,15
MON, %	50,4±4,17	49,9±4,50	49,3±3,20
LYM, %	2,67±0,67	2,50±0,92	2,33±0,56
TP, g/L	83,9±7,12	83,2±5,15	82,6±3,37
ALT, U/L	48,6±5,36	50,9±5,26	51,5±4,06
AST, U/L	58,5±7,49	62,0±9,08	59,9±6,56
ALP, U/L	154,8±17,7	141,4±12,6	147,3±14,0
GGT, U/L	22,9±3,69	23,6±3,58	24,3±2,85
Urea, mM/L	3,25±0,11	3,27±0,11	3,53±0,18
Creat, μM/L	95,8±7,79	94,9±7,23	99,1±7,47
Glu, mM/L	4,45±0,34	4,35±0,21	4,31±0,29
Chol, mM/L	2,15±0,25	1,97±0,11	2,05±0,15
TL, g/L	3,50±0,14	3,42±0,15	3,26±0,06
Ca, mM/L	2,54±0,08	2,52±0,08	2,47±0,10
P, mM/L	1,92±0,14	1,86±0,10	1,95±0,15

Таким образом, на основании результатов опытов по изучению безвредности (переносимости) флоропена в дозах 60 г и 180 г на животное

установлено, что препарат не оказывает негативного влияния на организм коров и свиноматок.

4.4.4 Подострая токсичность флоропена

Изучение параметров токсичности в подостром опыте показало, что многократное 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. На протяжении опыта при применении препарата в течение 21 дня и после 10-дневного восстановительного периода во всех подопытных группах не было отмечено гибели животных.

Результаты измерения привеса белых крыс в течение опыта представлены на рисунке 24.

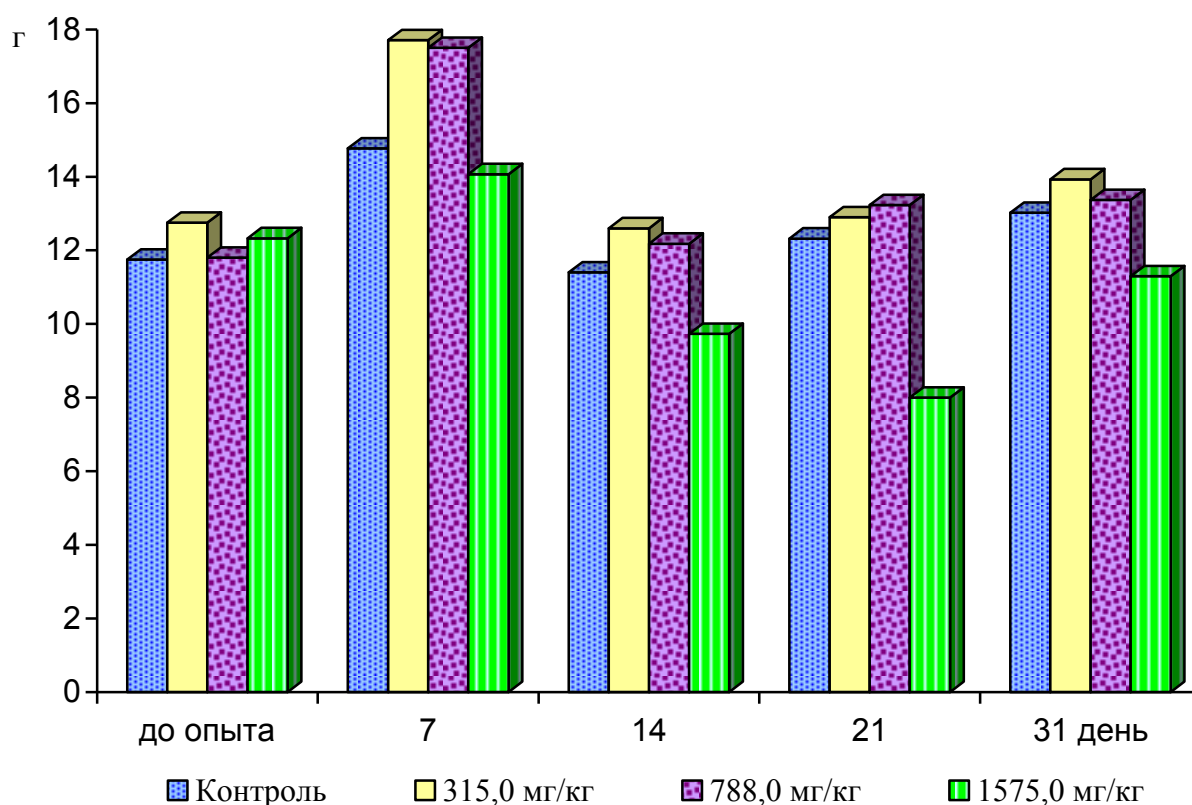


Рисунок 24 - Динамика привесов белых крыс при введении флоропена

Как следует из диаграммы, статистического достоверного различия в привесах крыс 1 и 2 опытных групп (315,0 и 788,0 мг/кг) по сравнению с контролем не наблюдается. В 3 опытной 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.

Результаты изменений коэффициента массы внутренних органов крыс представлены в таблице 47.

Таблица 47 - Коэффициент массы внутренних органов крыс при введении флоропена ($M \pm m$)

Наименование внутреннего органа	Флоропен 315,0 мг/кг	Флоропен 788,0 мг/кг	Флоропен 1575,0 мг/кг	Контроль
После длительного введения				
Hepar	31,1±1,64	29,9±1,07	30,6±1,62	30,1±1,51
Renes	5,48±0,13	5,55±0,21	5,58±0,27	5,62±0,16
Pulmo	5,32±0,32	5,11±0,28	4,91±0,36	5,28±0,15
Lien	3,96±0,10	3,83±0,14	3,80±0,17	4,00±0,33
Cardis	3,48±0,18	3,78±0,13	3,94±0,20	3,55±0,15
Thymus	1,22±0,13	1,05±0,08	1,10±0,16	1,01±0,04
Suprarenalis	0,20±0,004	0,20±0,015	0,20±0,019	0,21±0,02
После восстановительного периода				
Hepar	29,35±2,74	29,62±2,38	31,07±1,84	32,3±0,46
Renes	5,46±0,31	5,35±0,12	5,39±0,26	5,40±0,26
Pulmo	5,54±0,31	5,33±0,06	5,29±0,23	5,27±0,31
Lien	3,92±0,26	3,91±0,27	3,83±0,23	3,77±0,25
Cardis	3,13±0,12	3,30±0,25	3,32±0,17	3,22±0,17
Thymus	1,17±0,12	1,14±0,11	1,13±0,10	1,09±0,23
Suprarenalis	0,21±0,014	0,22±0,01	0,20±0,011	0,20±0,012

Как следует из данных, представленных в таблице 47, длительное подкожное введение флоропена белым крысам в изученных дозах не оказывает статистически достоверного влияния на показатели относительной массы внутренних органов на протяжении всего опыта.

При внешнем осмотре трупов животных опытных и контрольной групп установлено, что внешний вид и состояние органов имели одинаковую картину. Шерстный покров был гладкий и блестящий. Слизистая оболочка рта, носа и глаз блестящая, бледно-розового цвета. Кожа ушных раковин бледно-розового цвета. Кожные покровы эластичные, бледно-розовые. Подкожная клетчатка хорошо развита, бледно-розового цвета. Скелетные мышцы кровенаполнены, розового цвета, умеренной влажности, хорошо развиты. При вскрытии грудной и брюшной полостей отмечалось анатомически правильное расположение внутренних органов. Серозные оболочки полостей имели ярко-розовый цвет, гладкую и блестящую поверхность.

Слизистая гортани бледно-розовая, складчатая, блестящая. Слизистая пищевода гладкая, блестящая, бледно-розовая. Подчелюстные лимфоузлы бледно-розового цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. Кольца трахеи белого цвета.

Сердце округлой формы, упругой консистенции. Миокард на разрезе ярко-красного цвета, умеренной плотности. Перикард и эпикард гладкие, блестящие. Клапаны сердца тонкие, гладкие, блестящие.

Лёгкие обычной формы с поверхностью розовато-красного цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. На разрезе выражена дольчатость, лёгочная ткань бледно-розового цвета.

Тимус имел конусообразную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Печень обычной формы и размеров; капсула гладкая, блестящая, упругая, темно-красного цвета. Печень на разрезе - красно-коричневая, полнокровная, нормальной плотности.

Селезёнка удлинённой формы, плоская, пурпурно-бурого цвета, упругой консистенции. Капсула тонкая; с поверхности разреза соскоб скудный.

Почки бобовидной формы, симметрично расположены, темно-коричневого цвета, упругой консистенции; граница коркового и мозгового вещества чётко выражена. Фиброзная капсула блестящая, легко снималась.

Надпочечники желтовато-белого цвета, характерного размера и консистенции.

Тонкий и толстый кишечник заполнен содержимым с небольшим количеством слизи, без признаков вздутия; слизистые без изъязвлений, розового цвета.

Серозная и слизистая оболочка мочевого пузыря бледно-розовая. В полости мочевого пузыря присутствует небольшое количество мочи бледно-жёлтого цвета.

Матка и яичники у самок обычной формы; слизистая бледно-розового цвета.

Патологоанатомическое исследование, проведённое после восстановительного периода, также не выявило изменений во внутренних органах животных опытных групп по сравнению с контролем.

Результаты исследований гематологических и биохимических показателей крови подопытных животных при длительном подкожном применении флоропена представлены в таблицах 48 и 49.

Таблица 48 - Гематологические показатели белых крыс через 21 день ежедневного введения флоропена ($M \pm m$)

Показатели	Флоропен 315,0 мг/кг	Флоропен 788,0 мг/кг	Флоропен 1575,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	124,4±9,1	123,2±6,1	113,0±8,5	120,7±6,9
HCT, %	42,6±2,13	42,4±2,9	42,0±3,7	41,1±1,19
RBC, 10 ¹² /L	7,4±0,5	7,2±0,3	7,3±0,6	7,2±0,7

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
WBC, 10 ⁹ /L	11,0±3,0	12,1±2,4	13,9±0,9	11,9±1,3
EOS, %	4,12±0,40	3,78±0,29	4,22±0,30	4,38±0,32
BAND, %	2,48±0,18	2,72±0,20	1,88±0,23	2,53±0,30
SEGS, %	27,7±3,20	25,0±0,16	27,1±1,26	26,9±1,19
MON, %	1,00±0,47	1,00±0,60	1,00±0,50	1,00±0,44
LYM, %	64,7±1,94	67,9±0,90	65,8±1,36	65,4±4,11

После 21-дневного введения флоропена в дозах 315,0 мг/кг и 788,0 мг/кг массы тела, существенных изменений в гематологических и морфологических показателях крови по сравнению с контрольной группой не было зарегистрировано. В третьей группе отмечена тенденция увеличения лейкоцитов (на 16,8%) и снижения гемоглобина (на 6,4%). Также было зафиксировано более напряжённое функционирование мочевыделительной и гепатобиллиарной системы организма крыс. Так, у животных достоверно возросло содержание в сыворотке крови креатинина на 18,3% ($P < 0,005$), мочевины - на 26,2% ($P < 0,05$), а также имелась тенденция к повышению активности аспартат- и аланинаминотрансферазы на 19,1% и 24,6% соответственно. Однако значения данных показателей находились в пределах референсных значений для данного вида животных [И.М. Трахтенберг, 1991].

Таблица 49 - Биохимические показатели крови белых крыс через 21 день после ежедневного введения флоропена ($M \pm m$)

Показатели	Флоропен 315,0 мг/кг	Флоропен 788,0 мг/кг	Флоропен 1575,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
TP, g/L	71,5±2,11	70,3±4,68	69,5±5,12	70,1±3,24
Alb, g/L	35,1±3,19	33,7±2,11	33,1±1,53	34,8±1,45
α -Glob, g/L	4,99±0,29	5,11±0,30	5,83±0,43	5,17±0,14

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
β -Glob, g/L	12,14 \pm 0,80	11,05 \pm 2,17	13,00 \pm 2,30	11,37 \pm 1,12
γ -Glob, g/L	18,67 \pm 2,08	20,44 \pm 1,70	17,57 \pm 2,05	18,76 \pm 1,15
ALT, U/L	59,84 \pm 9,68	52,80 \pm 3,52	71,28 \pm 9,68	57,2 \pm 4,40
AST, U/L	117,92 \pm 7,92	106,48 \pm 6,16	137,28 \pm 6,0	115,28 \pm 16,72
ALP, U/L	158,72 \pm 5,89	171,12 \pm 6,51	156,86 \pm 3,41	164,92 \pm 8,37
T.bil, μ M/L	2,90 \pm 0,17	3,10 \pm 0,16	3,04 \pm 0,13	2,92 \pm 0,30
Urea, mM/L	4,21 \pm 0,16	4,00 \pm 0,22	5,25 \pm 0,20*	4,16 \pm 0,32
Creat, μ M/L	45,9 \pm 3,10	41,5 \pm 4,51	47,8 \pm 1,54**	40,4 \pm 1,10
Glu, mM/L	7,00 \pm 0,34	7,18 \pm 0,29	7,36 \pm 0,61	7,13 \pm 0,43
TL, g/L	1,84 \pm 0,15	1,68 \pm 0,03	1,71 \pm 0,02	1,78 \pm 0,09
Chol, mM/L	1,25 \pm 0,09	1,20 \pm 0,11	1,30 \pm 0,15	1,36 \pm 0,14
TG, mM/L	0,75 \pm 0,03	0,70 \pm 0,06	0,71 \pm 0,01	0,70 \pm 0,01
Ca, mM/L	2,28 \pm 0,04	2,31 \pm 0,02	2,25 \pm 0,03	2,33 \pm 0,02
P, mM/L	1,73 \pm 0,05	1,66 \pm 0,03	1,72 \pm 0,04	1,70 \pm 0,11

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,005$ - по отношению к контролю

Результаты исследований морфологического состава и биохимических показателей крови подопытных животных через 10 дней восстановительного периода после длительного введения флоропена представлены в таблице 50.

Таблица 50 - Морфологические и биохимические показатели крови белых крыс после восстановительного периода ($M \pm m$)

Показатели	Флоропен 315,0 мг/кг	Флоропен 788,0 мг/кг	Флоропен 1575,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	133,1 \pm 7,9	133,2 \pm 4,4	132,8 \pm 4,5	124,1 \pm 10,1
HCT, %	44,1 \pm 1,27	45,0 \pm 5,6	45,4 \pm 3,7	40,5 \pm 3,56
RBC, 10^{12} /L	8,4 \pm 0,2	8,1 \pm 0,2	8,4 \pm 0,3	8,4 \pm 0,4

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
WBC, 10 ⁹ /L	12,9±1,1	13,1±1,7	13,5±1,6	13,4±0,6
EOS, %	2,35±0,26	2,10±0,50	2,54±1,11	2,18±0,10
BAND, %	1,78±0,35	1,40±0,32	1,56±0,45	1,32±0,40
SEGS, %	26,9±2,19	25,3±3,25	26,8±2,75	27,1±0,71
MON, %	1,27±0,30	1,00±0,66	1,50±1,00	1,00±0,50
LYM, %	67,7±4,10	70,2±5,17	67,6±2,13	68,4±6,13
TP, g/L	68,94±1,98	67,20±2,13	68,36±3,74	66,04±2,56
Alb, g/L	37,6±3,77	34,2±2,12	35,4±1,01	35,2±1,69
α-Glob, g/L	6,91±1,02	5,86±0,88	6,34±1,12	6,28±0,67
β-Glob, g/L	11,13±0,90	14,18±0,70	12,57±0,36	12,21±0,72
γ-Glob, g/L	13,30±1,18	12,96±0,52	14,05±0,28	12,35±0,16
ALT, U/L	67,76±8,80	62,48±7,04	60,72±9,68	66,0±7,92
AST, U/L	108,24±7,92	90,64±3,52	101,2±1,76	110,0±10,56
ALP, U/L	144,77±3,10	140,12±4,34	144,77±1,55	155,0±4,65
T.bil, μM/L	3,25±0,11	3,30±0,20	3,44±0,60	3,25±0,24
Urea, mM/L	3,28±0,25	3,62±0,16	3,96±0,43	3,95±0,60
Creat, μM/L	48,2±2,9	46,7±1,5	47,0±1,7	47,3±2,5
Glu, mM/L	7,62±0,23	7,80±0,17	7,53±0,48	7,74±0,51
TL, g/L	1,36±0,10	1,44±0,14	1,41±0,12	1,42±0,20
Chol, mM/L	2,04±0,11	1,89±0,06	1,89±0,06	2,10±0,10
TG, mM/L	0,83±0,02	0,76±0,02	0,74±0,03	0,76±0,01
Ca, mM/L	2,31±0,02	2,38±0,04	2,36±0,07	2,36±0,03
P, mM/L	1,73±0,05	1,66±0,13	1,72±0,04	1,70±0,12

Из представленных в таблице 50 данных следует, что через 10 дней восстановительного периода (после применения флоропена в течение 21 дня в изученных дозах) по сравнению с показателями животных контрольной группы

не отмечается существенных изменений гематологических и биохимических показателей крови белых крыс. Следовательно, изменения, вызванные дозой 1575,0 мг/кг, имеют обратимый характер, так как в течение 10 дней после отмены препарата показатели восстанавливались до контрольных значений.

Таким образом, на основании данных клинических, патологоанатомических исследований, морфологических и биохимических показателей крови белых крыс было установлено, что препарат в дозах 1/50 (315,0 мг/кг), 1/20 (788,0 мг/кг) и 1/10 ЛД₅₀ (1575,0 мг/кг массы тела) при подкожном введении в течение 21 дня не оказывает негативного воздействия на организм животных.

4.4.5 Субхроническая токсичность флоропена

В результате проведённых исследований было установлено, что трёхкратное введение флоропена в терапевтической дозе (60 г/животное) не оказывает негативного влияния на организм коров и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса у животных опытных групп по сравнению с контрольными.

Результаты исследований гематологических и биохимических показателей крови коров и свиноматок после трёхкратного введения флоропена в терапевтической дозе представлены в таблицах 51 и 52.

Таблица 51 - Показатели крови клинически здоровых коров при трёхкратном внутриматочном введении флоропена (M±m)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=5)	Флоропен (n=5)	Контроль (n=5)	Флоропен (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	107,99±2,17	107,95±2,11	108,11±3,21	107,88±3,95
RBC, 10 ¹² /L	5,71±0,23	5,53±0,21	5,67±0,25	5,57±0,23
WBC, 10 ⁹ /L	9,22±1,30	8,85±2,11	9,18±0,93	8,89±0,87
BAS, %	1,0±0,24	1,1±0,31	1,2±0,29	1,3±0,3
EOS, %	7,0±0,6	5,8±0,27	5,8±0,48	6,0±0,5

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
BAND, %	2,2±0,12	2,4±0,45	2,3±0,33	2,2±0,26
SEGS, %	27,6±1,21	26,0±0,7	29,7±1,10	30,4±0,79
MON, %	4,1±0,46	5,0±0,3	4,4±0,31	4,4±0,40
LYM, %	58,1±4,40	59,7±1,27	56,6±1,61	55,7±1,63
TP, g/L	80,21±4,57	80,35±5,25	80,13±5,34	80,82±3,87
Alb, g/L	39,47±3,22	37,97±3,75	36,98±2,45	40,41±1,62
α-Glob, g/L	15,35±0,23	15,41±0,27	14,99±0,24	14,78±0,25
β-Glob, g/L	16,84±1,54	16,33±0,31	16,87±1,31	16,27±1,40
γ-Glob, g/L	21,54±0,86	22,41±0,65	22,18±0,73	22,81±0,85
ALT, U/L	87,45±2,35	80,00±2,24	79,31±2,22	76,5±1,83
AST, U/L	45,1±2,60	46,3±2,10	39,42±2,50	40,5±2,36
ALP, U/L	69,5±2,63	62,5±2,81	76,9±3,19	69,5±2,52
Urea, mM/L	4,51±0,24	4,73±0,11	4,62±0,09	4,62±0,14
Creat, μM/L	80,85±3,07	76,45±2,32	77,44±2,59	72,60±0,77
Glu, mM/L	3,6±0,07	3,8±0,07	3,7±0,07	3,8±0,08
Chol, mM/L	2,1±0,11	2,3±0,11	2,2±0,01	2,4±0,01
Ca, mM/L	2,1±0,11	2,3±0,07	2,2±0,09	2,2±0,05
P, mM/L	1,2±0,03	1,2±0,03	1,2±0,03	1,1±0,02

Таблица 52 - Показатели крови клинически здоровых свиноматок при трёхкратном внутриматочном введении флоропена (M±m)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=5)	Флоропен (n=5)	Контроль (n=5)	Флоропен (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	128,7±3,27	127,3±3,12	121,9±4,56	125,8±5,96
HCT, %	37,5±1,02	37,7±0,98	37,1±1,15	36,9±1,81

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
RBC, 10 ¹² /L	5,76±0,31	5,83±0,19	5,84±0,41	5,90±0,30
WBC, 10 ⁹ /L	15,7±1,18	14,1±1,08	15,0±2,03	13,6±1,01
BAS, %	-	-	-	-
EOS, %	3,31±0,24	3,25±0,45	2,88±0,30	2,75±0,73
BAND, %	2,98±0,14	3,50±0,24	3,91±0,17	3,18±0,43
SEGS, %	40,1±2,96	42,5±3,33	38,5±3,07	41,2±0,96
LYM, %	50,5±3,62	47,8±3,94	52,3±2,63	50,6±2,97
MON, %	3,15±0,71	3,00±0,41	2,43±0,65	2,25±0,63
TP, g/L	72,9±6,92	73,5±2,76	77,0±5,19	79,7±4,36
Alb, g/L	45,7±2,97	46,8±2,01	46,4±2,17	49,8±2,38
α-Glob, g/L	16,0±1,09	15,3±0,74	15,2±1,31	14,4±1,27
β-Glob, g/L	17,7±1,25	16,1±0,80	18,1±0,96	14,7±1,06
γ-Glob, g/L	20,6±1,91	21,8±1,02	20,3±2,11	21,1±1,20
ALT, U/L	38,4±3,98	40,8±1,52	40,0±4,86	36,0±1,13
AST, U/L	44,1±4,13	41,1±3,24	38,8±4,63	40,6±2,44
ALP, U/L	161,3±9,17	159,8±11,7	165,9±7,24	123,5±7,79
GGT, U/L	28,6±2,71	32,0±5,88	33,1±3,04	30,5±3,49
Urea, mM/L	4,36±0,52	4,15±0,23	4,15±0,39	3,95±0,49
Creat, μM/L	141,1±10,5	136,0±11,0	138,4±6,27	125,0±12,9
Glu, mM/L	4,07±0,21	4,53±0,25	4,43±0,38	4,88±0,34
Lactate, mM/L	1,80±0,13	1,94±0,09	1,91±0,34	2,02±0,13
Pyruvate, μM/L	149,8±5,18	153,3±13,1	154,5±4,87	156,4±6,15
TL, g/L	3,70±0,12	3,96±0,30	3,84±0,26	3,87±0,23
Chol, mM/L	2,33±0,26	2,17±0,41	2,51±0,19	2,22±0,39
Ca, mM/L	2,61±0,10	2,70±0,03	2,75±0,29	2,67±0,03
P, mM/L	2,05±0,08	2,32±0,07	2,11±0,07	2,02±0,09

При трёхкратном введении флоропена в терапевтической дозе, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ в опытных группах коров и свиноматок существенно не отличались от показателей до введения препарата и контрольной группы.

Таким образом, при изучении влияния трёхкратного введения флоропена в дозе 60 г/животное было установлено, что препарат не оказывает негативного действия на организм коров и свиноматок, так как изученные показатели соответствовали референсным значениям.

4.4.6 Раздражающие свойства препарата флоропен

4.4.6.1 Раздражающее действие флоропена на слизистые оболочки

(конъюнктивальная проба)

Клиническое исследование состояния организма подопытных кроликов после инстилляций флоропена не выявило изменений основных показателей клинического статуса животных от референсных значений (таблица 53).

Таблица 53 - Данные о клиническом состоянии организма кроликов

Показатели	До опыта	Через 0,5 ч.	Через 1 ч.	Через 2 ч.	Через 3 ч.	Через 4 ч.	Через 5 ч.	Через 6 ч.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Кролик № 1								
Температура, °С	38,9	39,0	38,9	39,0	38,9	38,9	39,0	39,1
Пульс, уд./мин.	133	134	140	126	128	130	130	137
Дыхание, кол./мин.	73	73	74	73	74	72	73	74
Кролик № 2								
Температура, °С	39,0	39,0	38,8	39,0	38,9	39,1	39,1	38,9
Пульс, уд./мин.	139	137	137	138	137	128	131	131
Дыхание, кол./мин.	65	71	71	73	70	73	75	75
Кролик № 3								
Температура, °С	38,8	38,9	38,9	39,0	38,9	38,8	38,8	39,0

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Пульс, уд./мин.	139	137	138	136	133	133	138	138
Дыхание, кол./мин.	75	73	72	73	75	74	71	71

Результаты визуальной оценки действия препарата на слизистую глаз подопытных кроликов, представленные в таблице 54, свидетельствуют о том, что в течение опыта флоропен не вызывает реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Таблица 54 - Оценка раздражающего эффекта флоропена при нанесении на конъюнктиву кроликов (балл)

Время исследования	Кролик № 1	Кролик № 2	Кролик № 3
До опыта	0	0	0
Через 0,5 ч	0	0	0
Через 1,0 ч	0	0	0
Через 2,0 ч	0	0	0
Через 3,0 ч	0	0	0
Через 4,0 ч	0	0	0
Через 5,0 ч	0	0	0
Через 6,0 ч	0	0	0

Таким образом, на основании результатов исследований можно сделать вывод, что флоропен не оказывает раздражающего действия на слизистые.

4.4.6.2 Раздражающее действие флоропена на кожные покровы

Результаты опыта по оценке раздражающего действия флоропена, представленные в таблице 55, 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.

Таблица 55 - Оценка местно-раздражающего действия флоропена (балл)

Доза флоропена, г/животное	Средний балл выраженности				Наблюдаемый эффект	
	эритемы		отёка			
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
1 час						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
24 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
48 часов						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
72 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что флоропен не обладает раздражающим действием на кожные покровы.

4.4.7 Изучение аллергизирующих свойств препарата флоропен

4.4.7.1 Метод накожных аппликаций

В результате опыта по оценке аллергизирующих свойств флоропена методом накожных аппликаций на морских свинках было установлено, что при

двадцатикратном нанесении на кожные покровы, препарат не вызывает явлений сенсibilизации (таблица 56).

Таблица 56 - Оценка аллeргизирующего действия флоропена (балл)

Симптомы	Флоропен			Контроль		
	Время наблюдений					
	10 дней	14 дней	20 дней	10 дней	14 дней	20 дней
Гиперемия	0	0	0	0	0	0
Отёк кожи	0	0	0	0	0	0
Десквамация эпителия	0	0	0	0	0	0

4.4.7.2 Конъюнктивальная проба

Результаты опыта по оценке аллeргизирующих свойств флоропена при аппликации на конъюнктиву морских свинок, представленные в таблице 57, свидетельствуют о том, что препарат не вызывает реакции гиперчувствительности, как у сенсibilизированных, так и интактных морских свинок.

Таблица 57 - Выявление гиперчувствительности у морских свинок при применении флоропена (балл)

Группа	Конъюнктивальный тест	
	Через 15 мин.	Через 24 ч.
Контрольная группа	0	0
Опытная группа	0	0

4.4.7.3 Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НТДК)

Изучение аллeргизирующих свойств флоропена методом непрямо́й дегрануляции тучных клеток на белых крысах показало, что ПДТК во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже

10% (таблица 58). Следовательно, изучаемый препарат не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таблица 58 - Показатель дегрануляции тучных клеток (%)

Показатели	Флоропен 315,0 мг/кг	Флоропен 1575,0 мг/кг	Контроль
2 день			
ПДТК	0,15±0,002	0,14±0,001	0,14±0,002
% к контролю	107,1	100,0	100,0
8 день			
ПДТК	0,15±0,002	0,14±0,002	0,15±0,002
% к контролю	100,0	93,3	100,0
15 день			
ПДТК	0,15±0,002	0,14±0,003	0,14±0,003
% к контролю	107,1	100,0	100,0

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов по изучению аллергизирующих свойств виапена (конъюнктивальная проба, метод накожных аппликаций, реакция непрямой дегрануляции тучных клеток), можно сделать заключение, что препарат не обладает аллергизирующим действием.

4.4.8 Иммунотоксические свойства препарата флоропен

Bretzlaff K.N. [1987], Shuang G. [2011], Hassanin O. [2014], Hu D. [2016] и ряд других исследователей выявили наличие иммуносупрессивного действия у флорфеникола. В связи с этим, мы провели ряд опытов по определению степени воздействия флоропена на клеточное и гуморальное звено иммунитета белых мышей.

4.4.8.1 Реакция гиперчувствительности замедленного типа

Результаты изучения влияния введения флоропена на клеточное звено иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа представлены в таблице 59.

Как видно из представленных в таблице 59 данных, введение эритроцитов барана всем лабораторным животным, как на фоне применения флоропена, так и в контрольных группах 1 и 2, вызывает повышение индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа по сравнению с неиммунизированными животными интактной группы. При этом сила специфического ответа в группах не различается.

Таблица 59 - Индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа

Группа	Доза, мг/кг	Масса контрольной лапы, мг	Масса опытной лапы, мг	Индекс реакции, %
Интактная	-	159,9±3,19	160,0±3,18	0,05±0,02
Контроль 1	-	163,0±2,32	184,7±3,27	13,3±0,98
Контроль 2	-	168,2±2,77	191,6±3,00	14,0±1,28
Опытная 1	1575,0	163,7±1,78	185,3±2,85	13,2±0,66
Опытная 2	157,5	166,4±1,70	188,0±2,57	13,0±0,71
Опытная 3	1575,0	166,1±1,68	189,9±1,80	14,4±0,88
Опытная 4	157,5	166,6±1,56	189,6±2,44	14,1±0,80

4.4.8.2 Влияние флоропена на гуморальный иммунитет

Результаты исследований влияния флоропена на гуморальный иммунитет путём определения уровня IgG в сыворотке крови мышей представлены в таблице 60.

Таблица 60 - Уровень специфического IgG в сыворотке крови мышей

Группа	Уровень специфического IgG, Ед.опт.пл. при $\lambda=492$ нм	
	через 7 дней	через 21 день
Интактная группа	0,123±0,003	0,129±0,003
Контрольная группа	0,158±0,002	0,136±0,004
Флоропен 1575,0 мг/кг	0,163±0,005	0,136±0,006
Флоропен 157,5 мг/кг	0,155±0,004	0,133±0,005

Как следует из данных представленных в таблице 60, внутрибрюшинное введение раствора БСА всем лабораторным животным, как на фоне применения флоропена, так и в контрольной группе, вызывает стимуляцию специфического IgG-ответа по сравнению с неиммунизированными животными интактной группы. При этом сила и продолжительность специфического ответа в исследованных группах не различается.

Таким образом, на основании результатов проведённых исследований по определению степени воздействия флоропена на клеточное и гуморальное звено иммунитета белых мышей можно сделать вывод, что изучаемый препарат не обладает иммуносупрессивным действием.

4.4.9 Эмбриотоксическое и тератогенное действие флоропена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. Общее состояние беременных самок опытных групп не отличалось от животных контрольной группы. Также не было зарегистрировано отличий по внешнему виду волосяного покрова и видимых слизистых, поведению, потреблению корма и воды. Динамика массы тела белых крыс, которым вводили флоропен подкожно в дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг, и животных контрольной группы была положительной и не имела достоверно значимых отличий.

Таблица 61 - Эмбриотоксическое и тератогенное действие флоропена (M±m)

Показатели	Флоропен		Контроль (n=10)
	300 мг/кг (n=10)	900 мг/кг (n=10)	
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Количество жёлтых тел	13,27±2,34	13,59±2,63	13,84±1,52
Количество мест имплантации	10,73±1,84	10,81±3,45	11,77±2,47
Количество живых плодов	9,37±0,42	9,59±0,56	10,12±0,34
Количество мёртвых плодов	1,36±0,21	1,22±0,13	1,65±0,13

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Предимплантационная гибель, %	19,14±2,13	20,46±1,66	14,96±5,88
Постимплантационная гибель, %	12,67±1,42	11,29±2,15	14,02±2,54
Общая эмбриональная смертность, %	29,39±2,76	29,43±3,70	26,88±3,77
Средний вес крысёнка, г	4,64±0,21	4,60±0,20	4,65±0,23
Кранио-каудальный размер, мм	4,50±0,04	4,40±0,02	4,48±0,03
Средняя масса плаценты, мг	402,3±16,8	389,4±19,0	407,5±17,7
Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета	нет	нет	нет

* $P < 0,05$ – по отношению к контролю

Как следует из представленных в таблице 61 данных, в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе 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 отличается. 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.

При исследовании внутренних органов по методике Вильсона и состояния скелета по методике Доусона (в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР) эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы. Не было отмечено аномалий окостенения, а также изменений в состоянии нижней челюсти, твёрдого неба, носовой полости, глаз, головного и спинного мозга, гортани, трахеи, лёгких, бронхов, крупных сосудов, сердца, диафрагмы, пищевода, желудка, кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочеточников, мочевого пузыря и половых органов у крыс, как опытных, так и контрольной групп.

Следует также отметить, что показатели физического развития и скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов крысят, рождённых от самок, получавших флоропен в период беременности, не отличались от животных контрольной группы. Так, у всех подопытных особей отлипание ушной раковины в среднем наблюдается на 2-е сутки, появление первичного волосяного покрова - на 5-й день, прорезывание резцов - на 8-й день, а открытие глаз - на 15-16 день. В течение опыта не было отмечено гибели крысят контрольной и опытных групп, изменений двигательной активности.

Таким образом, на основании проведённых исследований можно сделать заключение, что введение флоропена во время беременности самкам белых крыс не оказывает отрицательного влияния на физиологическое состояние животных, течение беременности и развитие плодов, что подтверждается отсутствием проявления врождённых пороков и выраженных отклонений в физическом развитии у потомства.

4.4.10 Определение остаточных количеств флоропена в организме свиноматок

При внутриматочном введении флоропена его компоненты попадают в кровь. Через 24 часа флорфеникол регистрируется в пробах крови в концентрации $0,93 \pm 0,1$ мкг/мл, через 48 часов снижается до $0,48 \pm 0,03$ мкг/мл, через 72 часа определяется в следовых количествах (менее $0,05$ мкг/мл), а через 5 суток не обнаруживается (рисунок 25).

После трёхкратного введения препарата остатки флорфеникола и флорфениколамина в течение 48 часов содержатся в образцах мышц в следовых количествах ($0,025 \pm 0,012$ мкг/г), а через 72 часа – отсутствуют. В печени и почках обнаруживаются в течение 48 часов ($0,06 \pm 0,003$ мкг/г и $0,1 \pm 0,024$ мкг/г), через 72 часа - в следовых количествах, а через 96 часов – отсутствуют. 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, 12 и 2 раза.

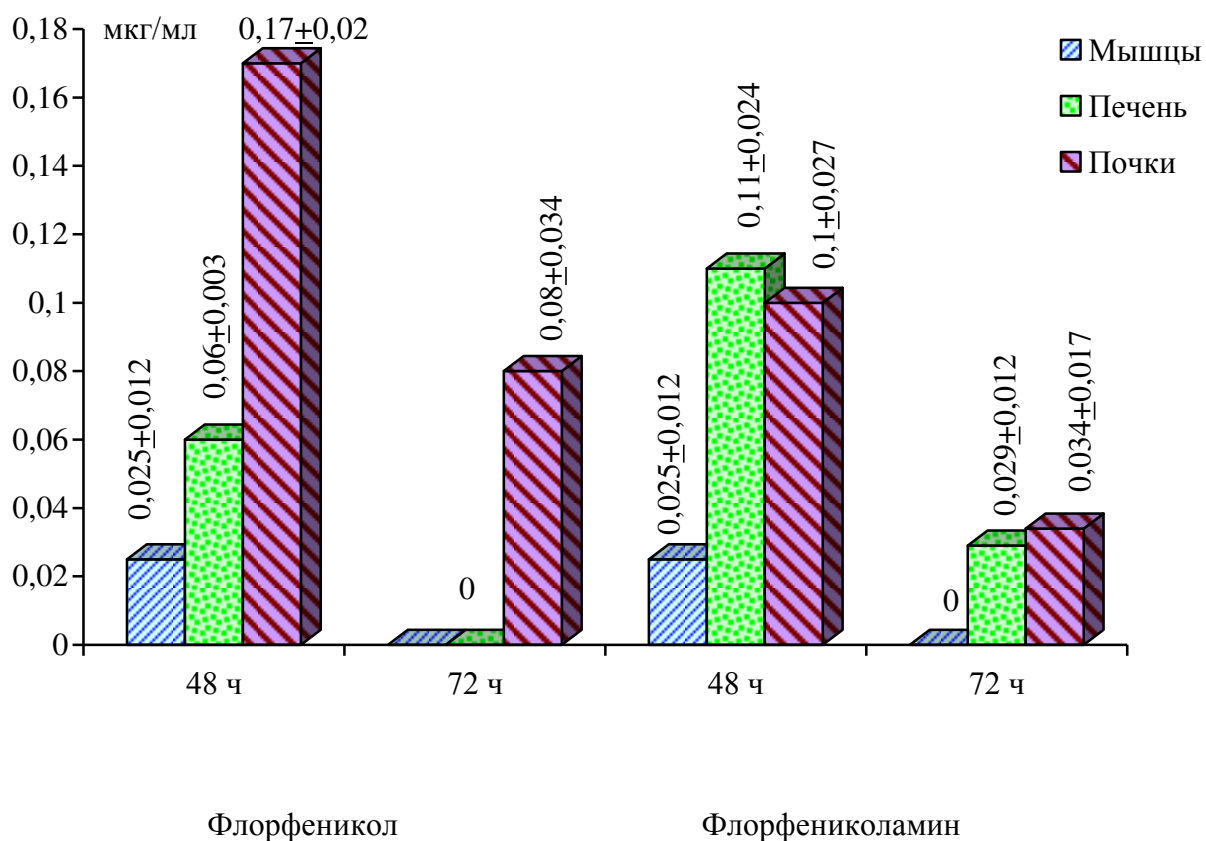


Рисунок 25 - Остаточные количества флорфеникола и флорфениколамина в организме свиноматок после применения флоропена

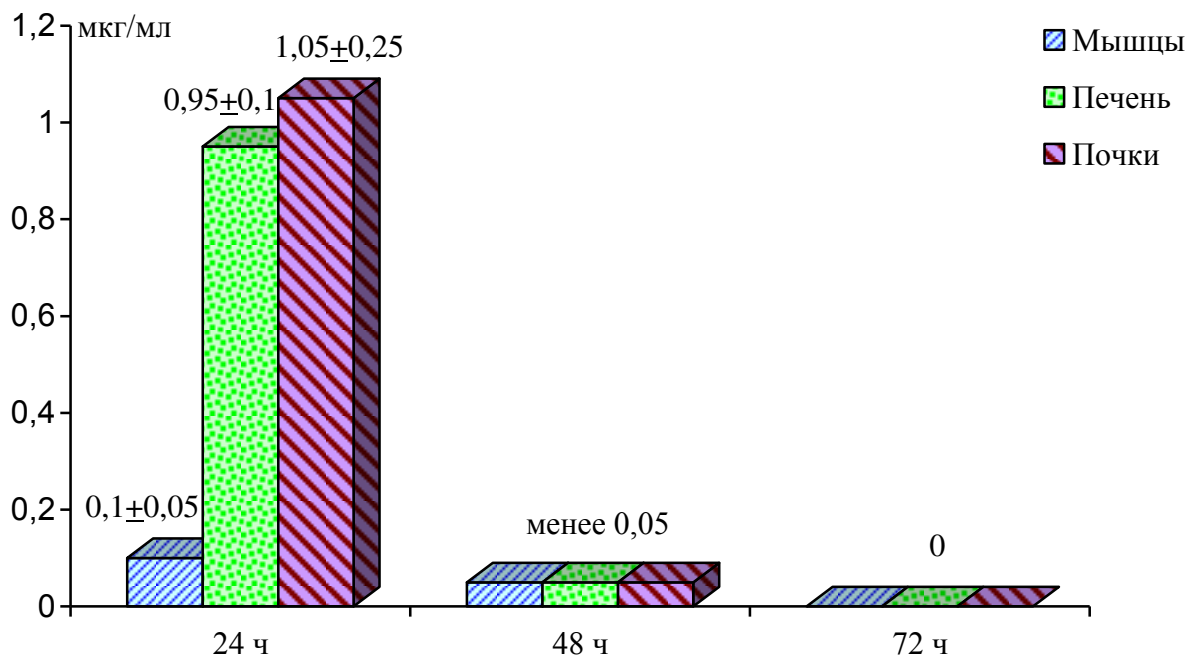


Рисунок 26 - Остаточные количества линкомицина гидрохлорида в организме свиноматок после применения флоропена

Через 24 часа после последнего введения флоропена линкомицин (рисунок 26) регистрируется в пробах крови в концентрации $1,40 \pm 0,50$ мкг/мл, через 48 часов определяется в следовых количествах (менее 0,05 мкг/мл), а через 72 часа не обнаруживается.

В мышцах, печени и почках остатки линкомицина также были ниже пределов детектирования через 48 часов (менее 0,05 мкг/г) после введения препарата, а через 72 часа не регистрировались. При этом концентрация линкомицина гидрохлорида в мышечной ткани, печени и почках через 48 часов после введения флоропена была также ниже рекомендуемых нормативов в 2, 10 и 3 раза соответственно.

Следовательно, в соответствии с приложением №21 к СанПиН 2.3.2.1078-01 период каренции составляет 2 суток после последнего введения препарата.

4.5 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ФЛОРОПЕНА

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

Результаты первой серии опытов по определению оптимальной дозы флоропена для лечения острого послеродового эндометрита коров представлены на рисунке 27.

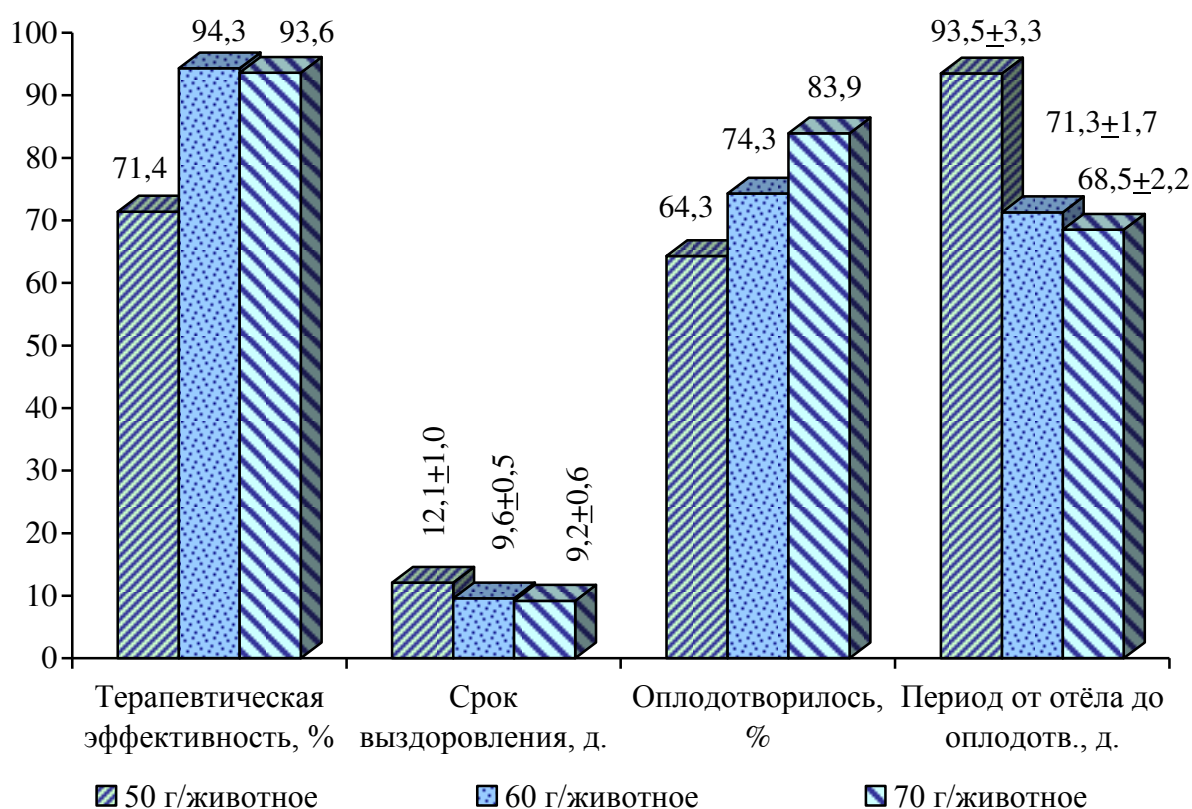


Рисунок 27 – Эффективность разных доз флоропена при терапии острого послеродового эндометрита у коров

Как следует из представленных на рисунке 27 данных, препарат 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 в 94,3% и 93,6%, при сокращении внутриматочных введений в 1,3 и 1,4 раза соответственно (с $3,71 \pm 0,24$ до $2,87 \pm 0,22$ ($P < 0,05$) и $2,75 \pm 0,19$ ($P < 0,01$) и сроков выздоровления на 20,7% и 24,0% (с $12,1 \pm 1,0$ до $9,6 \pm 0,51$ ($P < 0,005$) и $9,2 \pm 0,6$ ($P < 0,005$) дней

соответственно). Оплодотворилось на 10,0% и 19,6% соответственно больше животных, период от отёла до оплодотворения сократился на 23,7% ($P<0,001$) и 26,7% ($P<0,001$) соответственно, а коэффициент оплодотворения – в 1,5 раза (с $2,69\pm 0,20$ до $1,81\pm 0,06$ ($P<0,01$) и $1,77\pm 0,09$ ($P<0,002$) соответственно).

Из результатов оценки терапевтической эффективности следует, что флоропен рекомендуется вводить в дозе 60,0 г/животное, так как доза 70,0 г/животное экономически менее выгодна.

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.

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

Результаты первой серии опытов по определению оптимальной дозы препарата флоропен для лечения свиноматок на примере послеродового гнойно-катарального эндометрита представлены на рисунке 28.

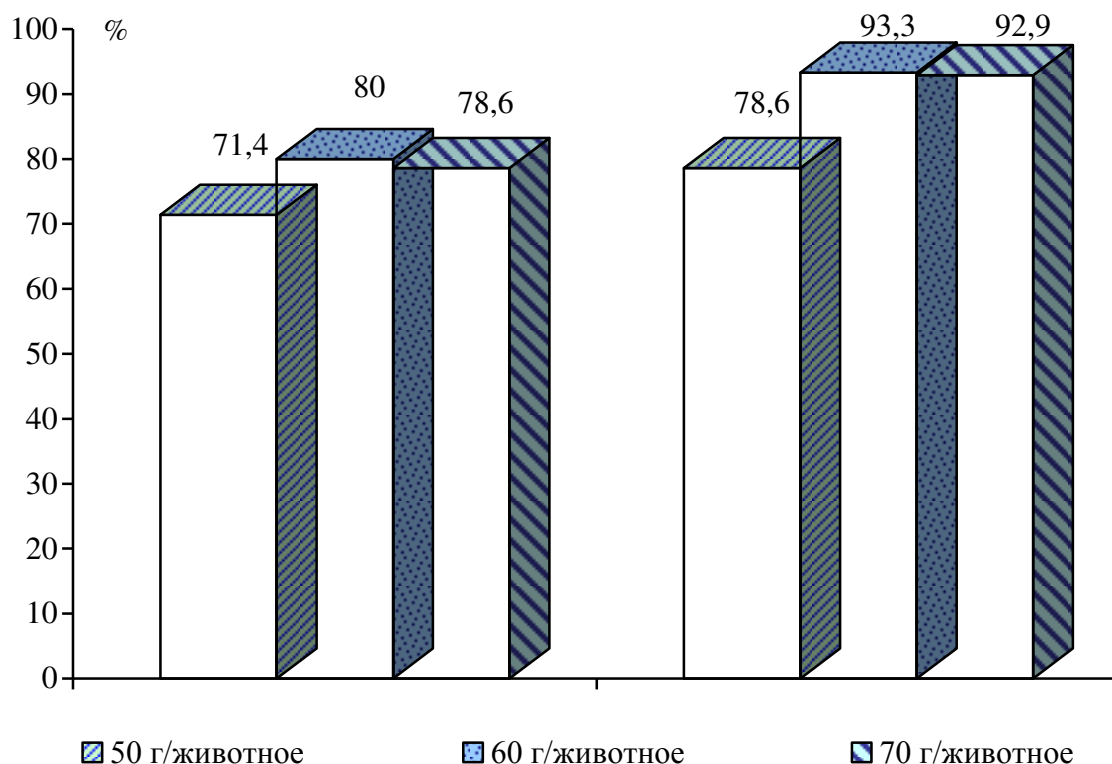


Рисунок 28 – Эффективность разных доз флоропена для лечения свиноматок

Из представленных на рисунке 28 данных следует, что 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), что выше эффективности применения флоропена в дозе 50 г/животное (n=14) в среднем на 11,7% соответственно.

Во второй серии опытов изучили терапевтическую эффективность флоропена при послеродовом гнойно-катаральном эндометрите в зависимости от кратности введения в дозе 60 г/животное (рисунок 29).

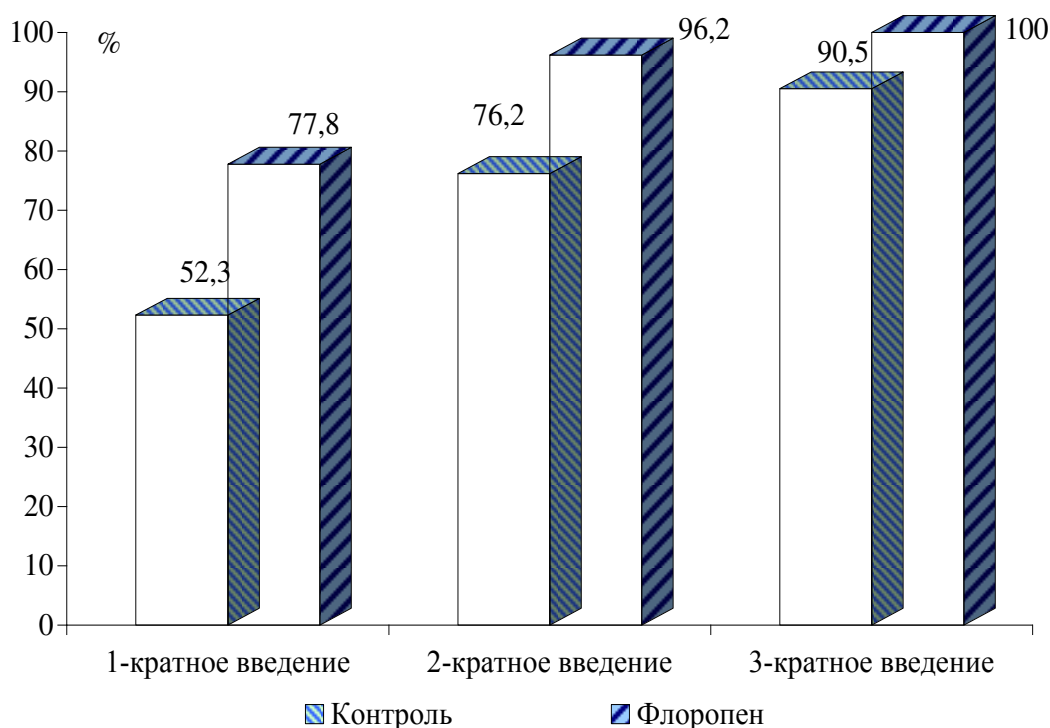


Рисунок 29 – Терапевтический эффект флоропена при лечении свиноматок

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.

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

Результаты изучения терапевтической эффективности флоропена при лечении острого послеродового эндометрита у коров представлены на рисунке 30.

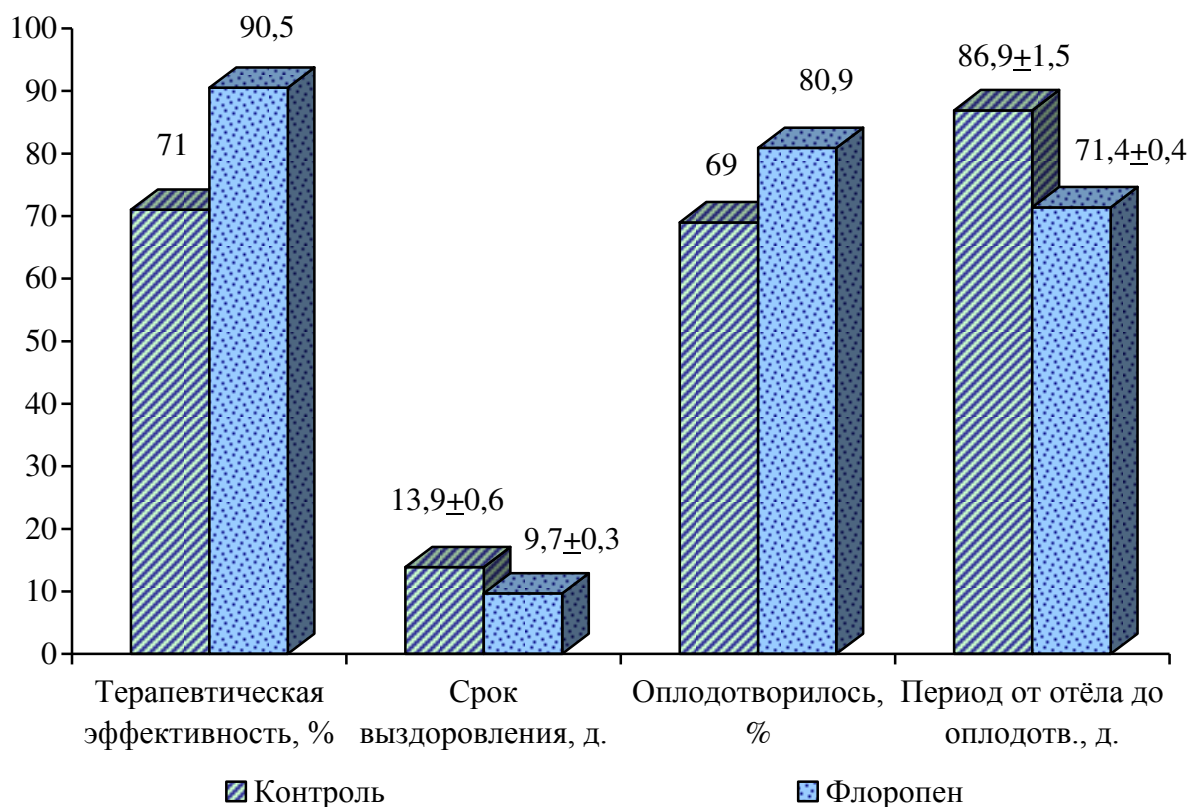


Рисунок 30 – Терапевтическая эффективность флоропена при остром гнойно-катаральном эндометрите коров

Оценка эффективности препарата свидетельствует о том, что 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% ($P<0,001$) при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств (с $4,38\pm 0,18$ - в контрольной группе до $2,85\pm 0,07$ - в опытной; $P<0,001$). В опытной группе оплодотворилось на 11,9% ($P<0,005$) больше животных, при этом период от отёла до оплодотворения

сократился на 17,8% ($P < 0,001$), а коэффициент оплодотворения – в 1,4 раза ($2,66 \pm 0,17$ - в контрольной группе до $1,87 \pm 0,05$ - в опытной; $P < 0,005$).

Результаты исследования морфологических и биохимических показателей крови больных острым послеродовым эндометритом коров ($n=19$) до и после внутриматочного введения флоропена представлены в таблице 62.

Таблица 62 - Показатели крови больных острым послеродовым эндометритом коров до и после комплексного лечения с применением флоропена ($M \pm m$)

Показатели	До лечения	После лечения
HGB, g/L	106,8±5,67	125,7±6,13*
RBC, $10^{12}/L$	6,8±0,19	6,9±0,16
WBC, $10^9/L$	11,6±0,35	8,9±0,56**
TP, g/L	74,1±1,66	83,3±1,72**
ALT, U/L	29,6±1,29	24,1±3,07
AST, U/L	97,7±2,97	67,6±5,14**
ALP, U/L	145,9±9,87	113,3±9,16*
Urea, mM/L	5,48±0,43	4,76±0,66
Creat, $\mu M/L$	93,1±7,18	83,7±4,02
Glu, mM/L	3,45±0,44	4,08±0,31
TL, g/L	4,14±0,31	5,65±0,50*
Chol, mM/L	3,11±0,24	2,71±0,12
API, nM/L	404,22±42,55	512,17±48,85
Vit. A, $\mu M/L$	1,24±0,29	1,59±0,14
Vit. E, mM/L	14,21±1,28	19,9±1,34*
Carotin, $\mu M/L$	9,52±1,26	10,52±1,12
Ca, mM/L	2,43±0,11	2,57±0,07
P, mM/L	1,70±0,09	1,73±0,10

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,005$; *** - $P < 0,001$ - по отношению к показателям до лечения

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

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что флоропен обладает высокой терапевтической эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров и за счёт устранения этиологического фактора способствует восстановлению гомеостаза организма подопытных животных.

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

Результаты изучения терапевтической эффективности флоропена при гнойно-катаральном эндометрите и ММА у свиноматок представлены на рисунке 31.

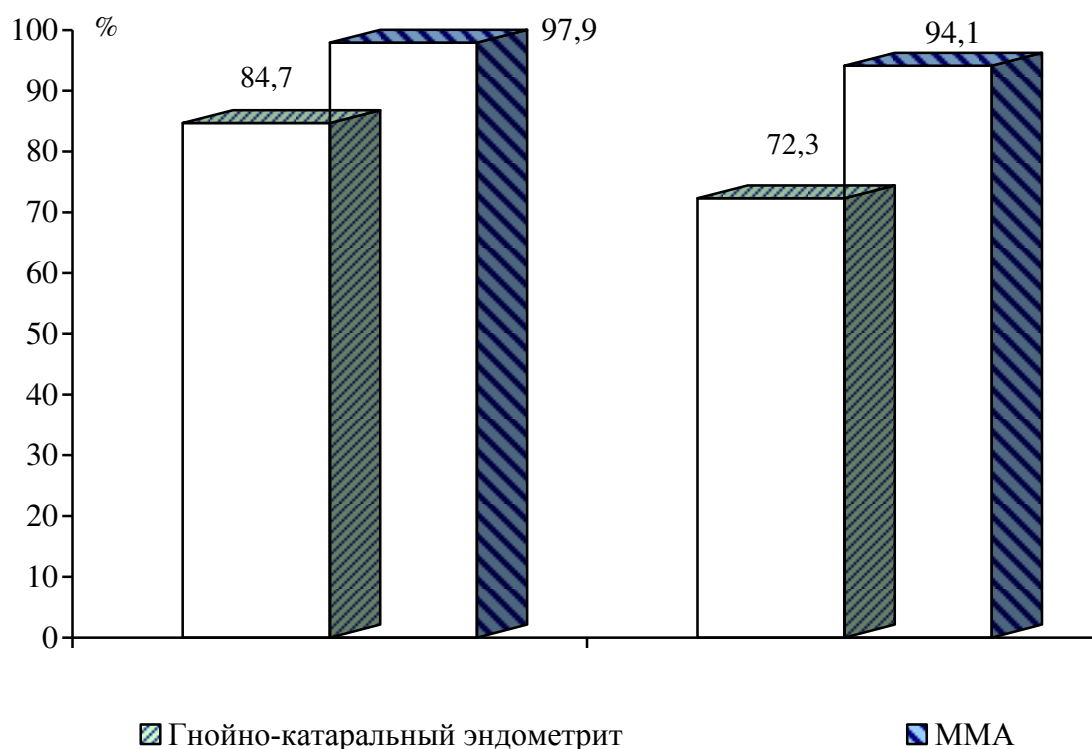


Рисунок 31 – Терапевтическая эффективность флоропена при гнойно-катаральном эндометрите и ММА у свиноматок

В результате исследования терапевтической эффективности было установлено, что применение флоропена при послеродовом эндометрите (n=131) и ММА (n=205), что в сравнении с энроцидом (n=137 и n=141) обеспечило выздоровление на 12,6% и на 21,8% больше животных. При этом количество введений флоропена было меньше ($1,41 \pm 0,17$ и $1,34 \pm 0,11$ соответственно), чем препарата контроля ($1,73 \pm 0,24$ и $1,55 \pm 0,18$ соответственно).

При исследовании крови, полученной от свиноматок (по n=15) до и после лечения, выявлены изменения показателей крови, свидетельствующие о нормализации метаболических процессов у животных и их выздоровлении (таблица 63).

Таблица 63 - Показатели крови больных свиноматок до и после лечения (M±m)

Показатели	До лечения		После лечения	
	Энроцид	Флоропен	Энроцид	Флоропен
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
HGB, g/L	113,4±5,10	112,4±6,83	106,2±2,4	120,2±7,41
RBC, 10 ¹² /L	5,51±0,12	5,43±0,14	5,61±0,29	5,84±0,15
WBC, 10 ⁹ /L	10,32±0,39	10,7±0,58	11,2±0,42	12,2±0,37
EOS, %	6,0±1,1	6,75±1,32	5,5±0,89	5,4±0,84
BAND, %	3,4±0,25	3,2±0,37	2,25±0,45*	2,0±0,27*
SEGS, %	43,6±3,12	46,3±2,2	44,8±4,7	42,8±3,3
MON, %	1,6±0,29	1,75±0,25	1,75±0,16	1,75±0,31
LYM, %	45,5±1,23	42,0±1,75	45,4±1,14	47,0±1,15*
TP, g/L	70,8±0,73	70,9±0,85	72,9±0,80	75,9±0,71**
Alb, g/L	40,9±1,92	42,2±1,12	43,2±1,3	43,9±1,16
α-Glob, g/L	17,5±0,73	16,0±0,57	15,7±1,45	13,5±0,91
β-Glob, g/L	25,8±0,74	23,7±0,93	21,8±0,88**	21,1±0,49*
γ-Glob, g/L	18,64±1,39	18,76±1,04	18,6±1,14	16,2±1,28
ALT, U/L	40,48±4,37	36,2±2,71	43,3±2,95	37,7±3,84

1	2	3	4	5
AST, U/L	62,4±4,37	59,8±6,12	49,3±3,68*	33,4±3,09**
ALP, U/L	87,6±6,68	86,2±4,47	89,0±6,41	84,0±5,26
GGT, U/L	34,4±2,9	32,5±2,43	27,8±1,64*	24,6±3,86
Urea, mM/L	5,1±0,51	5,4±0,52	6,2±0,34	5,4±0,12
Crea, μM/L	161,0±14,5	156,6±9,1	153,4±6,7	150,6±4,7
Glu, mM/л	4,7±0,37	4,8±0,26	4,9±0,47	5,0±0,49
Chol, mM/L	2,66±0,11	2,41±0,07	2,58±0,17	2,54±0,14
Ca, mM/L	2,49±0,10	2,51±0,02	2,74±0,04*	2,85±0,09**
P, mM/L	2,91±0,21	2,82±0,05	2,75±0,26	2,73±0,27

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,005$ - по отношению к показателям до лечения

У свиноматок после лечения, с использованием в качестве антимикробного средства флоропена, отмечалась тенденция к увеличению в крови эритроцитов на 7,6%, гемоглобина - 6,9% и лейкоцитов - на 14,0%. В лейкограмме также произошли изменения: наблюдалось снижение количества эозинофилов на 20,0% и палочкоядерных нейтрофилов на 37,5% ($P < 0,05$), а также снижение лимфоцитов на 11,9% ($P < 0,05$).

В сыворотке крови отмечалось увеличение концентрации 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 аспаратаминотрансферазы и γ -глутамилтрансферазы снижалась на 44,1% ($P < 0,005$) и 24,3% соответственно; повышение концентрации в крови общего кальция на 13,5% ($P < 0,005$) при снижении неорганического фосфора свидетельствовало о нормализации фосфорно-кальциевого обмена.

Представленные изменения морфологических и биохимических показателей крови указывают на восстановление гомеостаза подопытных животных в процессе лечения.

Для оценки терапевтической эффективности флоропена при ММА у свиноматок до и после лечения было проведено исследование секрета молочной железы. Результаты опыта представлены на рисунке 32.

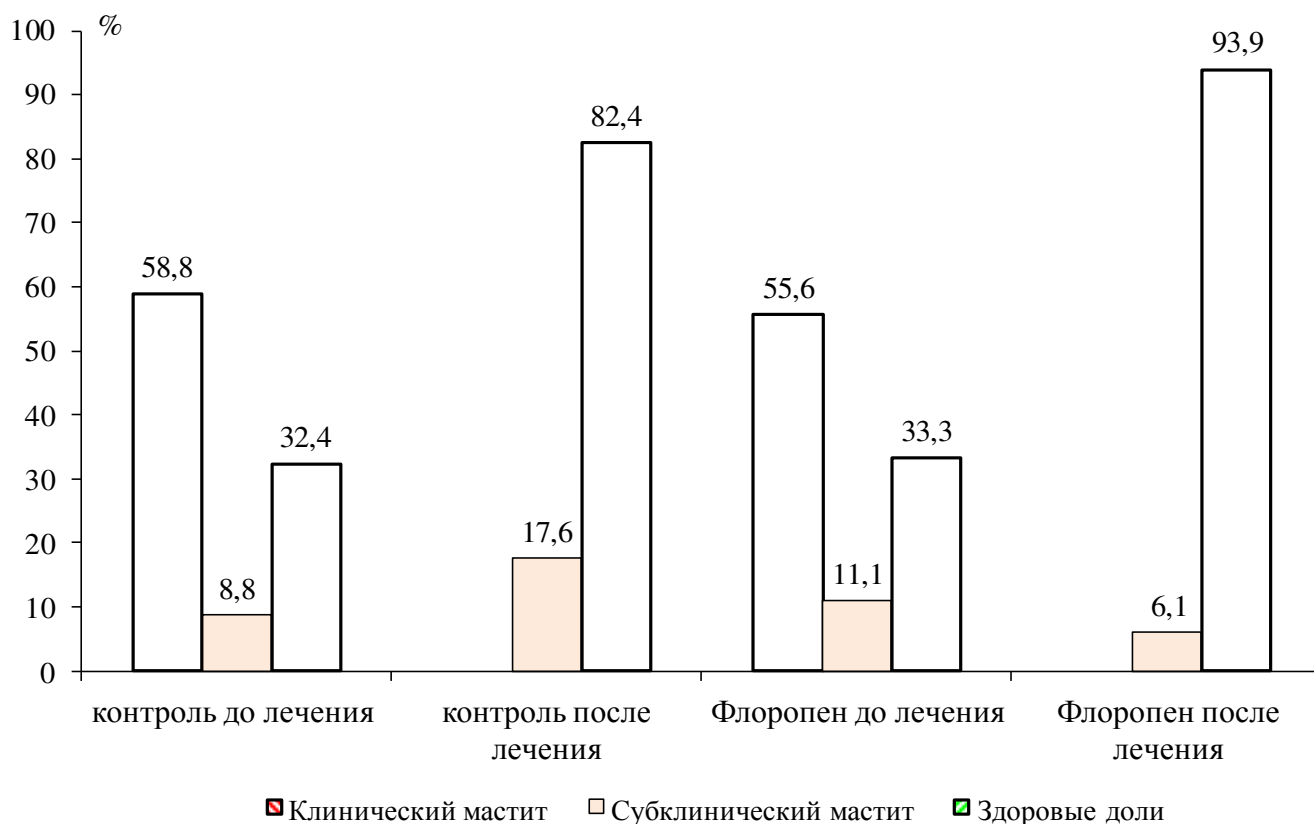


Рисунок 32 – Динамика изменения количества соматических клеток при внутриматочном введении антимикробных средств при ММА у свиноматок

При исследовании 79 проб молозива было установлено, что до лечения количество соматических клеток в здоровых, условно-здоровых и поражённых долях составляло $491,1 \pm 42,1$ тыс./мл, $1356,7 \pm 257,7$ тыс./мл и $2418,4 \pm 905,7$ тыс./мл соответственно.

После лечения свиноматок энроцидом мастит регистрировали в 3,8 раза реже, а в поражённых долях молочной железы было отмечено снижение концентрации соматических клеток до $1404,2 \pm 454,2$ тыс./мл.

Введение флоропена снизило поражённость долей молочной железы маститом в 10,9 раза, при значительном уменьшении количества соматических клеток в секрете до $1104,72 \pm 117,2$ тыс./мл.

Следовательно, внутриматочное введение антимикробных препаратов для терапии воспалительных заболеваний матки одновременно способствует снижению заболеваемости молочной железы. Необходимо отметить, что количество поражённых долей у свиноматок после внутриматочного введения флоропена оказалось меньше контроля в 2,9 раза.

Таким образом, флоропен в дозе 60,0 г на животное при введении с 24-часовым интервалом обладает высокой терапевтической эффективностью при метрит-мастит-агалактии и послеродовом гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок.

4.5.5 Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Результаты профилактической эффективности флоропена в сравнении с энроцидом (раствор), представлены на рисунке 33.

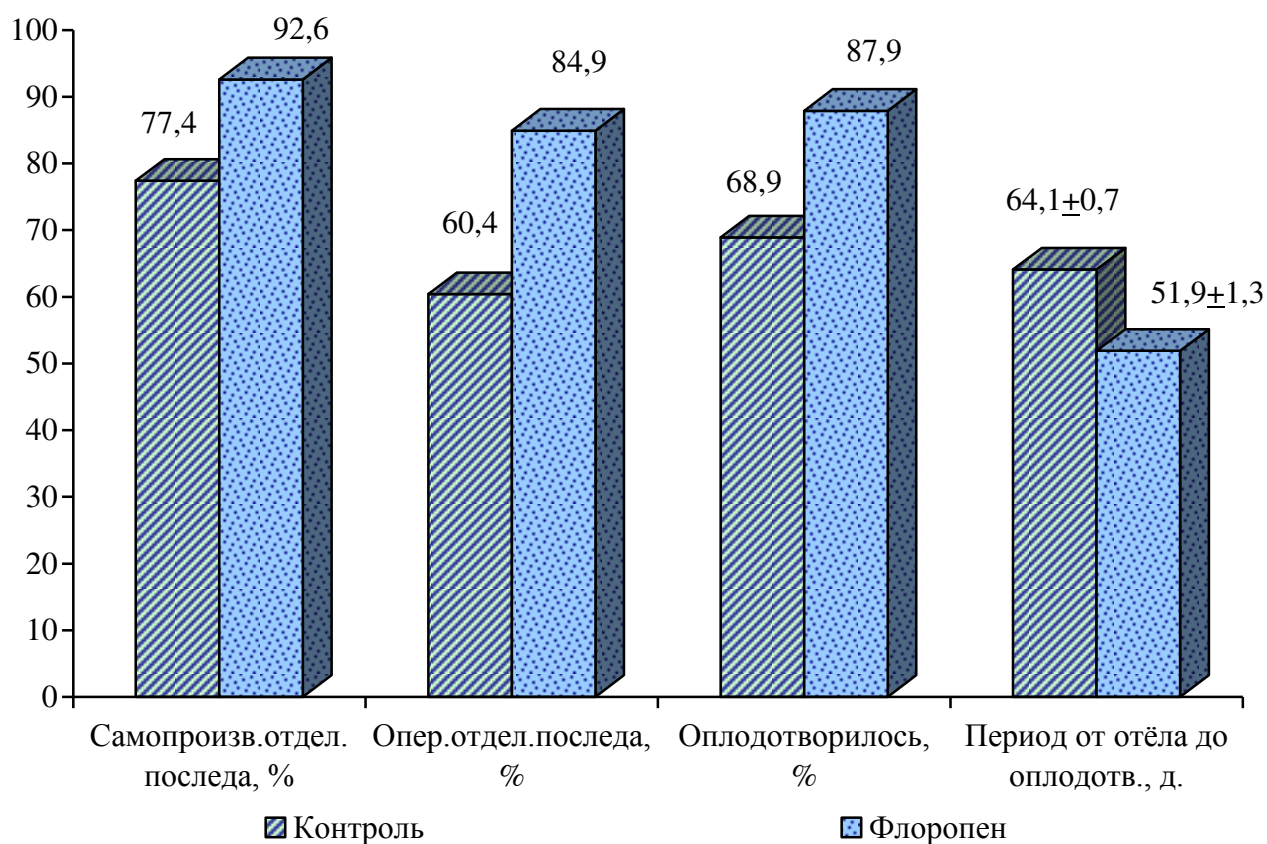


Рисунок 33 - Профилактическая эффективность флоропена при остром послеродовом эндометрите у коров

Эффективность применения флоропена (рисунок 33) для профилактики острого послеродового эндометрита у коров при самопроизвольном ($n=54$) и оперативном отделении последа ($n=53$) была выше на 15,2% и 24,5% соответственно, 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% ($P<0,005$), а коэффициент оплодотворения снизился в 1,2 раза (с $1,96\pm 0,08$ до $1,63\pm 0,04$ ($P<0,005$)).

Результаты профилактической эффективности флоропена в сравнении с препаратом в форме пенообразующего суппозитория во втором опыте, представлены на рисунке 34.

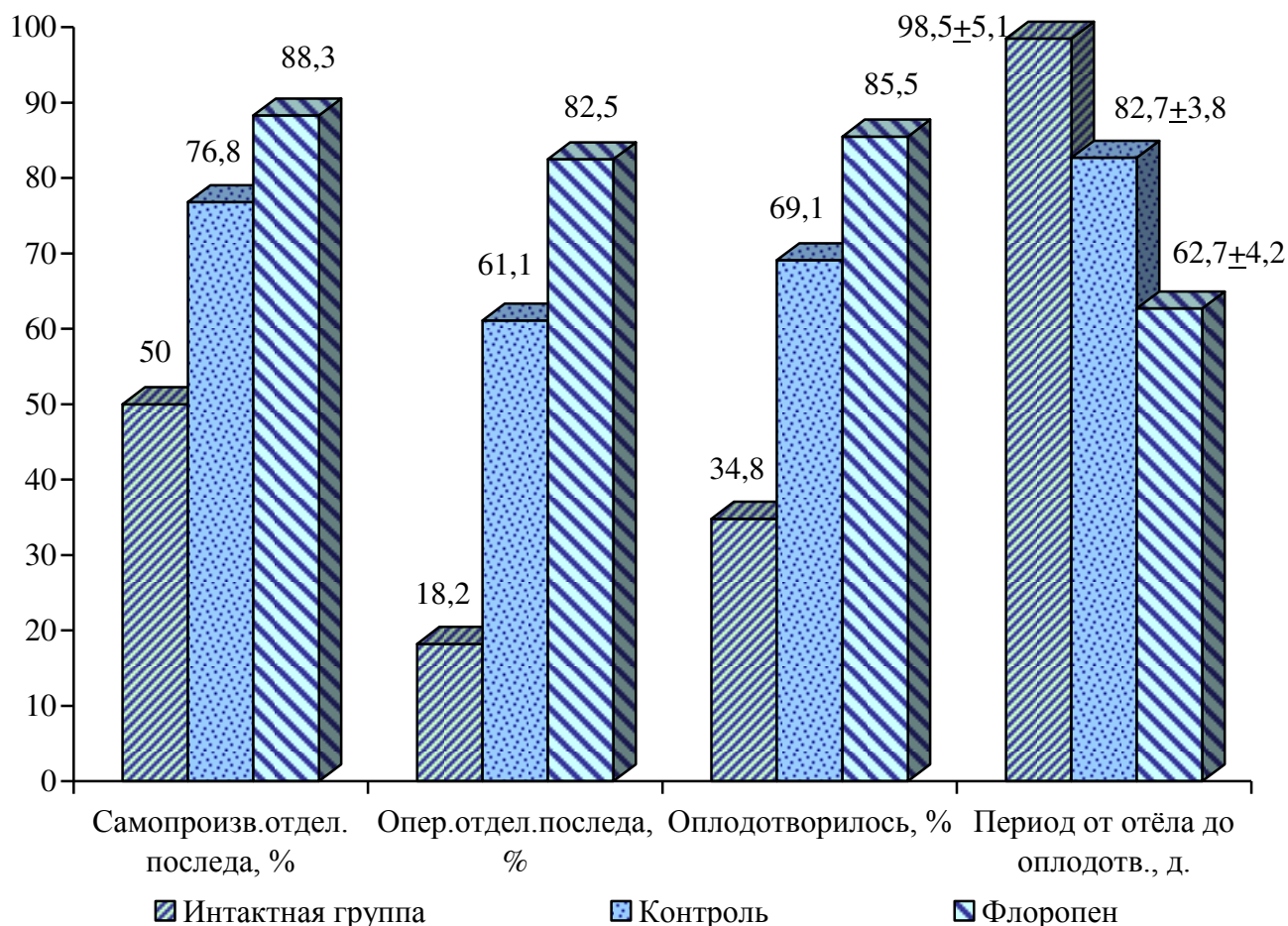


Рисунок 34 - Профилактическая эффективность флоропена при остром послеродовом эндометрите у коров

Эффективность применения флоропена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров при самопроизвольном ($n=60$) и оперативном отделении последа ($n=57$) была выше на 11,5% и на 21,4% соответственно, чем после применения йодопена ($n=56$ и $n=54$, соответственно), и в 1,8 и 4,5 раза соответственно выше, чем в отрицательном контроле ($n=12$ и $n=11$, соответственно). 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% ($P<0,005$) и 36,3% ($P<0,005$) соответственно, а коэффициент оплодотворения – в 1,3 раза (с $2,40\pm 0,31$ и $2,43\pm 0,14$ ($P<0,005$) соответственно, до $1,85\pm 0,04$).

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

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

Результаты оценки профилактической эффективности флоропена при остром послеродовом эндометрите и ММА у свиноматок представлены на рисунке 35.

Наибольшая профилактическая эффективность послеродовых заболеваний установлена в группе животных, которым применяли флоропен ($n=226$). Так, 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 ($n=193$) – в 1,5 раза, в том числе, при метрит-мастит-агалактии – в 3,3 раза, а при эндометрите – в 1,3 раза.

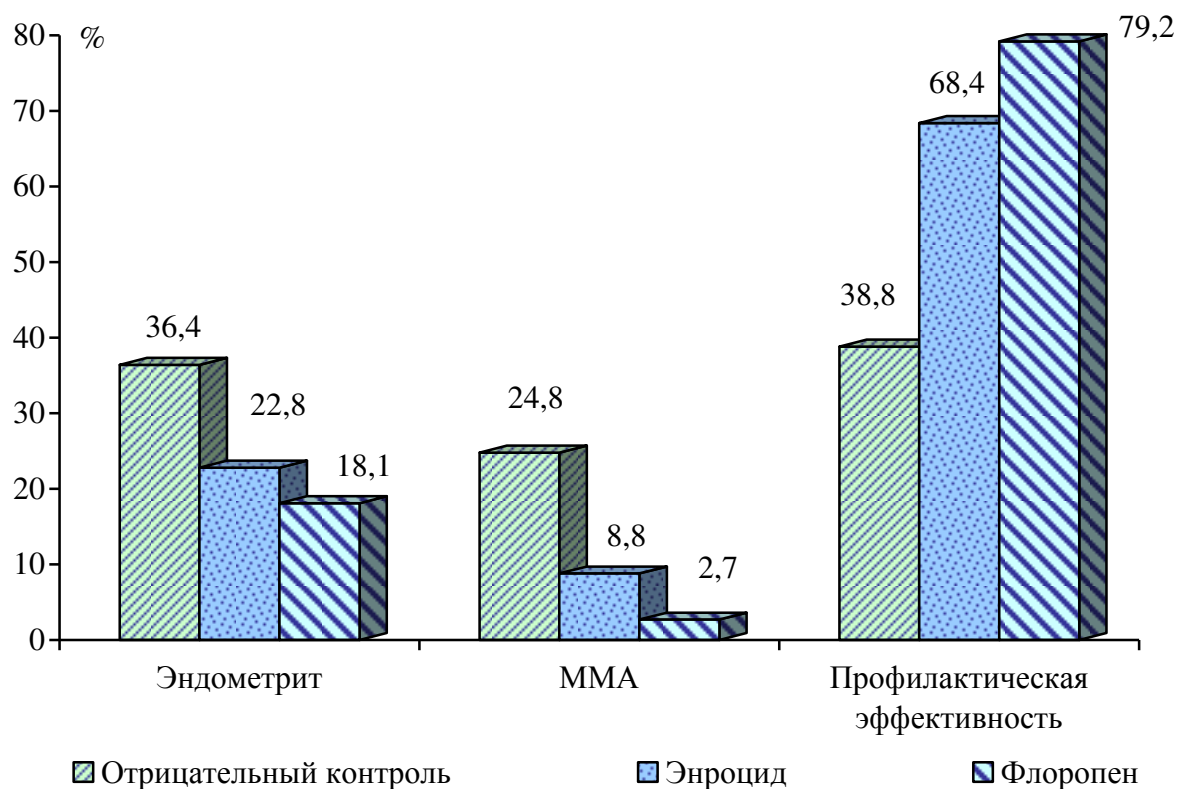


Рисунок 35 – Эффективность применения флоропена для профилактики послеродового эндометрита и ММА у свиноматок

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

4.6 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА

4.6.1 Антимикробная активность примапена

Результаты изучения антимикробной активности препарата примапен представлены на рисунке 36.

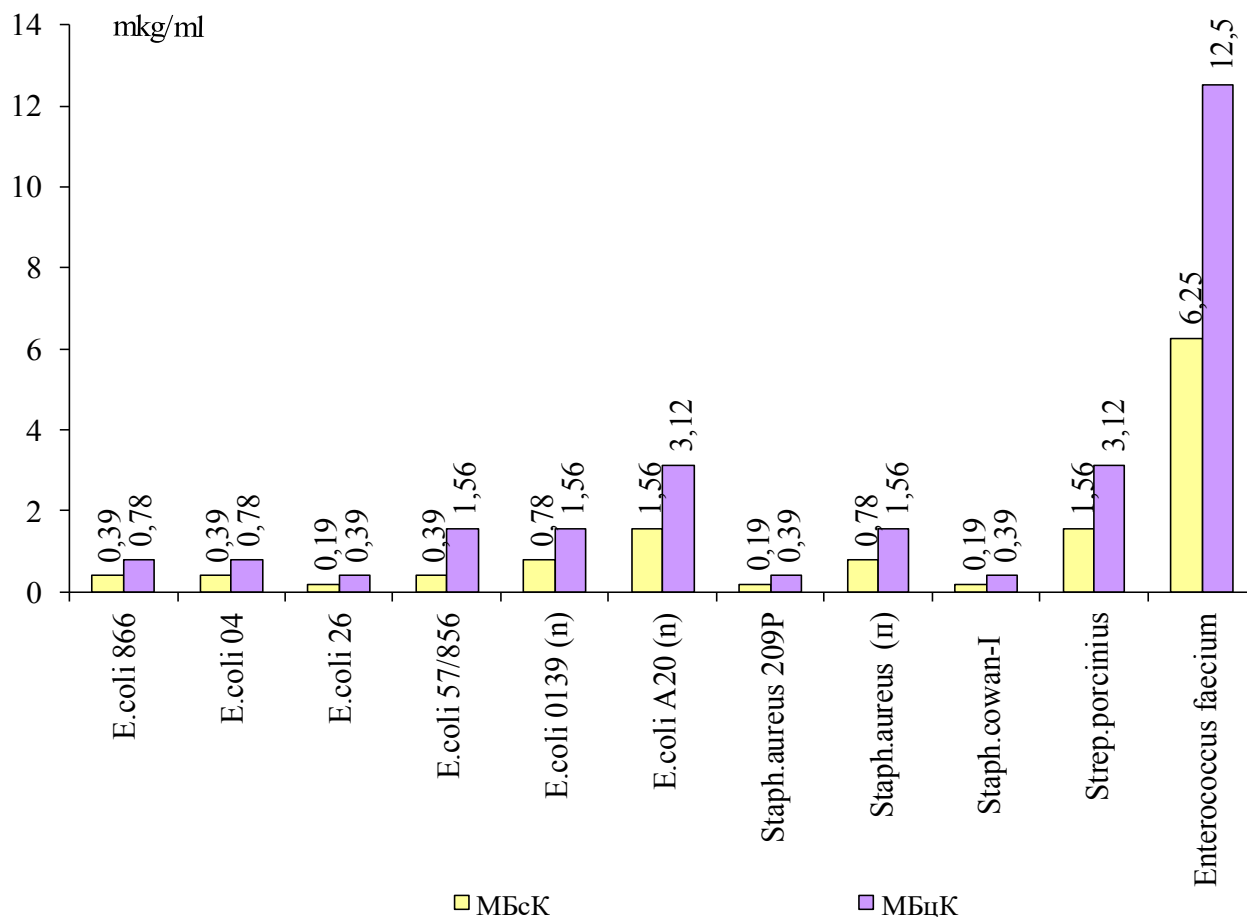


Рисунок 36 – Антимикробная активность примапена

Согласно полученным данным, примапен обладает высокой антимикробной активностью в отношении эшерихий и стафилококков: МБсК составила 0,19-0,39 мкг/мл, а МБцК – 0,39-1,56 мкг/мл. В отношении полевых штаммов и стрептококков антимикробная активность ниже: МБсК составила 0,78-6,25 мкг/мл, а МБцК - 1,56-12,5 мкг/мл.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что препарат примапен обладает высокой антимикробной активностью и широким

спектром действия, что свидетельствует о целесообразности его применения для лечения и профилактики послеродовых заболеваний у коров и свиноматок.

4.6.2 Острая токсичность примапена

Оценка острой токсичности примапена проведена при пероральном, подкожном и внутрибрюшинном способе введения. При пероральном способе введения белым мышам и белым крысам препарат вводили внутривенно в дозах от 5000,0 до 50000,0 мг/кг массы тела.

Результаты, полученные при пероральном введении препарата лабораторным животным (таблица 64), используются для расчёта величины ЛД₅₀ примапена.

Таблица 64 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ примапена при пероральном введении белым мышам и белым крысам

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
20000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
25000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
30000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
35000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
40000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
45000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
50000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
Белые крысы				
5000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
10000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
15000,0	8	3,13	3,1369	1,2737

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
20000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
25000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
30000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
35000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
40000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
45000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
50000,0	8	25,0	4,3258	4,1516

Среднелетальную дозу (ЛД₅₀) определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутрижелудочном введении препарата в максимальном объёме в дозе 50000,0 мг/кг массы тела.

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].

При подкожном способе примепен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 11000,0 до 21000,0 мг/кг. Результаты исследований представлены в таблице 65.

Таблица 65 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ примепена при подкожном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Белые мыши				
11000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
13000,0	8	12,5	3,8496	3,0487
15000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
17000,0	8	50,0	5,0	5,0

1	2	3	4	5
19000,0	8	75,0	5,6742	4,1516
21000,0	8	96,9	6,8631	1,2737
Белые крысы				
11000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
13000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
15000,0	8	37,5	4,6818	4,6818
17000,0	8	50,0	5,0	5,0
19000,0	8	75,0	5,6742	4,1516
21000,0	8	96,9	6,8631	1,2737

На основании данных, представленных в таблице 65, были рассчитаны параметры острой токсичности примапена при подкожном введении лабораторным животным (таблица 66).

Таблица 66 - Параметры острой токсичности примапена для лабораторных животных при подкожном введении (мг/кг)

Параметры	Белые мыши	Белые крысы
МПД	11000	11000
ЛД ₁₀	12977,43	11278,73
ЛД ₁₆	13810,81	12354,31
ЛД ₅₀	16768,93 (14082-19456)	16172,09 (12704-19640)
ЛД ₈₄	19727,05	19989,88
ЛД ₉₀	20560,43	21065,46
ЛД ₁₀₀	21206,10	21898,77
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	739,5	880,7
Уровень надёжности	0,953	0,953

Следовательно, примепен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при подкожном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

При внутрибрюшинном способе введения примепен вводили однократно белым мышам и белым крысам в дозах от 6000,0 до 15000,0 мг/кг массы тела (таблица 67).

Таблица 67 - Токсикометрические параметры для расчета ЛД₅₀ примепена при внутрибрюшинном введении лабораторным животным

Доза, мг/кг	Всего голов	Летальность, %	Пробит	Весовой коэффициент
Белые мыши				
6000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
7500,0	8	12,5	3,8496	3,0487
9000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
10500,0	8	50,0	5,00	5,00
12000,0	8	75,0	5,6742	4,1516
13500,0	8	96,9	6,8631	1,2737
Белые крысы				
6000,0	8	3,13	3,1369	1,2737
7500,0	8	12,5	3,8496	3,0487
9000,0	8	25,0	4,3258	4,1516
10500,0	8	37,5	4,6818	4,6818
12000,0	8	62,5	5,3182	3,0487
13500,0	8	87,5	6,1504	3,0487
15000,0	8	96,9	6,8631	1,2737

На основании данных, представленных в таблице 67, были рассчитаны параметры острой токсичности примепена при внутрибрюшинном введении лабораторным животным (таблица 68).

Следовательно, примепен по классификации токсических веществ Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] при внутрибрюшинном введении относится к 6 классу токсичности (относительно безвредные).

Таблица 68 - Параметры острой токсичности примепена для лабораторных животных при внутрибрюшинном введении (мг/кг)

Параметры токсичности	Белые мыши	Белые крысы
МПД	6000,00	6000,0
ЛД ₁₀	7483,07	7553,61
ЛД ₁₆	8108,11	828078
ЛД ₅₀	10326,70 (8311-12342)	10861,90 (8808-12915)
ЛД ₈₄	12545,28	13443,02
ЛД ₉₀	13170,32	14170,20
ЛД ₁₀₀	13654,58	14733,59
Стандартная ошибка ЛД ₅₀	554,65	577,16
Уровень надёжности	0,953	0,953

Острое отравление препаратом у белых мышей и белых крыс при внутрижелудочном, подкожном и внутрибрюшинном введении сопровождались симптомами возбуждения, которые сменялись угнетением, переходящим в кому.

При вскрытии павших лабораторных животных были зарегистрированы признаки гемодинамического расстройства. Застой венозной крови был особенно выражен в тканях лёгких, сердца, печени, почках и брыжеечных сосудах. Через 14 дней после начала опыта выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для проведения патологоанатомического исследования, которое показало отсутствие патологических изменений в их организме.

4.6.3 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 и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса у животных опытных и контрольных групп.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови здоровых коров и свиноматок через 7 дней после однократного введения примапена в терапевтической и 3-кратно превышающей дозы представлены в таблицах 69 и 70.

Таблица 69 - Показатели крови здоровых коров через 7 дней после введения примапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе ($M \pm m$)

Показатели	Примапен 60 г (n=5)	Примапен 180 г (n=5)	Контроль (n=5)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	127,1±2,5	121,6±3,7	124,8±4,1
RBC, 10 ¹² /L	6,3±0,6	6,2±0,8	6,3±0,3
WBC, 10 ⁹ /L	8,2±0,6	8,9±0,7	9,1±0,8
BAS, %	-	-	-
EOS, %	5,3±0,9	5,7±0,7	5,4±1,8
BAND, %	2,7±0,5	3,3±0,6	3,0±0,7
SEGS, %	32,9±4,5	36,0±2,2	39,8±2,8
MON, %	3,4±0,6	3,2±0,4	3,6±0,4
LYM, %	55,7±2,0	51,8±2,5	50,2±2,8
TP, g/L	82,6±1,7	82,4±2,2	83,2±2,5
Alb, g/L	29,3±3,2	31,9±2,7	31,5±1,9
ALT, U/L	48,7±4,7	41,0±9,6	45,4±4,0
AST, U/L	19,6±1,8	15,8±2,6	10,7±2,0

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Urea, mM/L	3,4±0,4	3,2±0,3	3,2±0,2
Creat, μM/L	105,6±4,4	103,4±2,2	106,6±4,6
Glu, mM/L	2,5±0,1	2,4±0,2	2,4±0,1
Chol, mM/L	4,6±0,2	4,2±0,2	4,4±0,3
Ca, mM/L	2,6±0,1	2,5±0,1	2,5±0,1
P, mM/L	2,0±0,1	2,0±0,1	2,1±0,1

Таблица 70 - Показатели крови здоровых свиноматок через 7 дней после введения примапена в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе (M±m)

Показатели	Примапен 60 г (n=7)	Примапен 180 г (n=7)	Контроль (n=7)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	109,2±2,9	110,5±3,4	113,6±3,2
RBC, 10 ¹² /L	5,4±0,4	5,6±0,4	5,6±0,6
WBC, 10 ⁹ /L	12,9±0,6	10,9±1,1	11,4±0,6
BAS, %	0,6±0,4	0,8±0,4	0,4±0,3
EOS, %	3,2±0,2	3,0±0,2	3,0±0,3
BAND, %	3,0±0,2	3,0±0,4	3,0±0,4
SEGS, %	30,6±0,6	32,0±0,6	32,0±0,8
MON, %	5,0±0,2	5,2±0,2	5,4±0,4
LYM, %	57,6±0,8	56,0±1,2	56,2±0,8
TP, g/L	109,2±2,9	110,5±3,4	113,6±3,2
Alb, g/L	38,7±0,9	39,0±1,1	37,8±0,8
ALT, U/L	45,5±2,0	48,9±1,2	49,1±2,2
AST, U/L	62,3±2,2	65,2±2,0	62,0±2,0
Urea, mM/L	5,5±0,3	5,8±0,3	5,6±0,2

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Creat, $\mu\text{M/L}$	117,9 \pm 2,5	124,6 \pm 3,2	120,1 \pm 5,7
Glu, mM/L	3,4 \pm 0,2	3,9 \pm 0,1	3,5 \pm 0,3
Chol, mM/L	2,1 \pm 0,1	1,9 \pm 0,2	2,1 \pm 0,2
Ca, mM/L	2,5 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1
P, mM/L	1,8 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1

Как следует из данных, представленных в таблицах 69 и 70, при применении примапена в терапевтической и 3-кратно её превышающей дозе, гематологические и основные показатели обмена веществ коров и свиноматок опытных групп оставались в пределах референсных значений и достоверно не отличались от животных контрольной группы.

Таким образом, на основании результатов опытов по изучению безвредности (переносимости) примапена в дозах 60 г и 180 г на животное установлено, что препарат не оказывает негативного влияния на организм коров и свиноматок.

4.6.4 Подострая токсичность примапена

В результате проведённых исследований по изучению параметров токсичности в подостром опыте установлено, что многократное 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 показатели клинического гомеостаза организма крыс. На протяжении опыта при применении препарата в течение 14 дней и после 10-дневного восстановительного периода во всех группах подопытных животных гибели не было отмечено.

Результаты измерения привеса белых крыс в течение опыта представлены на рисунке 37.

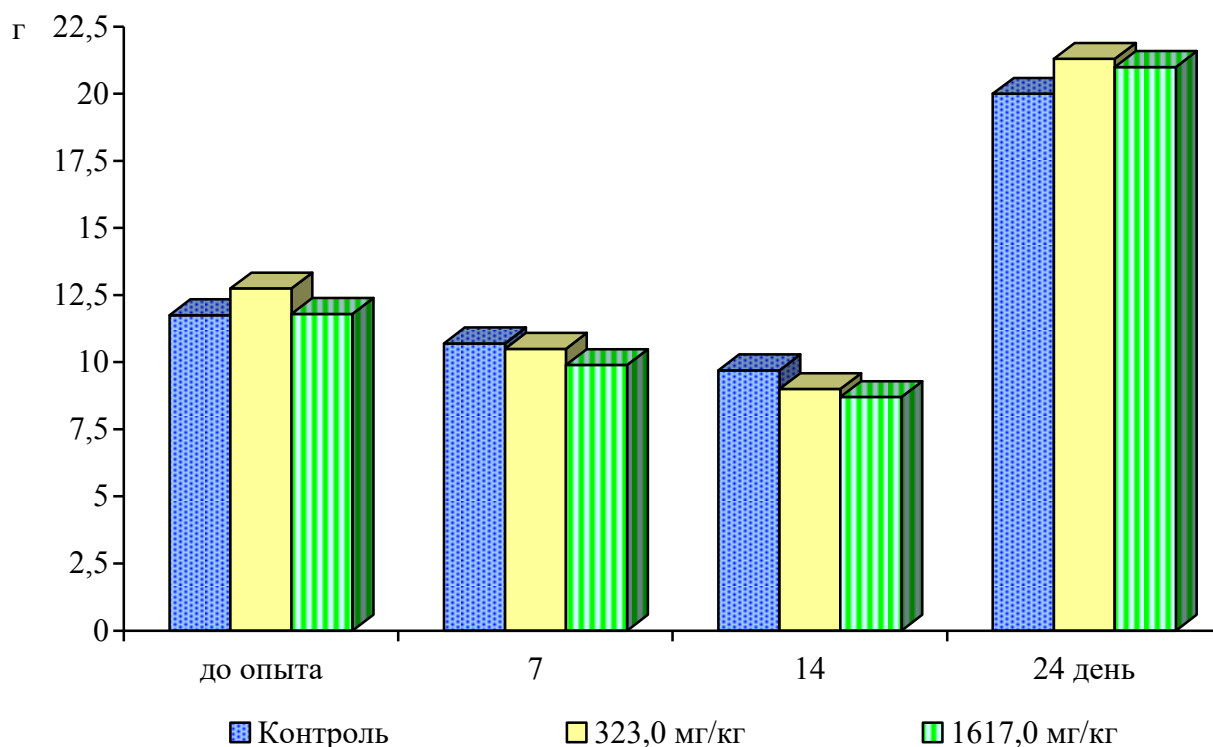


Рисунок 37 - Динамика привесов белых крыс при введении примапена

Как следует из диаграммы, статистического достоверного различия в привесах крыс 1 и 2 опытных групп по сравнению с контролем не наблюдалось. В начале опыта было зарегистрировано снижение массы у животных всех групп, однако через 2 недели и через 10 дней восстановительного периода отмечалось её увеличение.

Результаты изменений коэффициента массы внутренних органов крыс представлены в таблице 71.

Как следует из данных, представленных в таблице 71, длительное подкожное введение примапена белым крысам в изученных дозах не оказывает статистически достоверного влияния на показатели относительной массы внутренних органов на протяжении всего опыта.

Таблица 71 - Коэффициент массы внутренних органов крыс при введении примапена ($M \pm m$)

Наименование внутреннего органа	Примапен 323,0 мг/кг	Примапен 1617,0 мг/кг	Контроль
После длительного введения			
Hepar	36,40±1,56	38,56±1,55	35,95±1,21
Renes	6,44±0,20	6,71±0,12	6,38±0,17
Pulmo	5,74±0,09	6,01±0,27	6,02±0,16
Lien	4,53±0,16	4,14±0,23	4,43±0,17
Cardis	3,55±0,07	3,64±0,07	3,5±0,11
Thymus	1,47±0,12	1,51±0,09	1,34±0,07
Suprarenalis	0,20±0,01	0,20±0,01	0,22±0,01
После восстановительного периода			
Hepar	29,6±2,38	31,1±1,84	29,4±2,74
Renes	5,35±0,14	5,39±0,26	5,46±0,31
Pulmo	5,33±0,06	5,29±0,23	5,54±0,31
Lien	3,91±0,27	3,83±0,23	3,92±0,26
Cardis	3,30±0,25	3,32±0,17	3,13±0,12
Thymus	1,14±0,11	1,13±0,10	1,17±0,12
Suprarenalis	0,22±0,01	0,20±0,011	0,21±0,014

При внешнем осмотре трупов животных опытных и контрольной групп установлено, что внешний вид и состояние органов имели одинаковую картину. Шерстный покров был гладкий и блестящий. Слизистая оболочка рта, носа и глаз блестящая, бледно-розового цвета. Кожа ушных раковин бледно-розового цвета. Кожные покровы эластичные, бледно-розовые. Подкожная клетчатка хорошо развита, бледно-розового цвета. Скелетные мышцы кровенаполнены, розового цвета, умеренной влажности, хорошо развиты. При вскрытии грудной и брюшной полостей отмечалось анатомически правильное расположение внутренних

органов. Серозные оболочки полостей имели ярко-розовый цвет, гладкую и блестящую поверхность.

Слизистая гортани бледно-розовая, складчатая, блестящая. Слизистая пищевода гладкая, блестящая, бледно-розовая. Подчелюстные лимфоузлы бледно-розового цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. Кольца трахеи белого цвета.

Сердце округлой формы, упругой консистенции. Миокард на разрезе ярко-красного цвета, умеренной плотности. Перикард и эпикард гладкие, блестящие. Клапаны сердца тонкие, гладкие, блестящие.

Лёгкие обычной формы с поверхностью розовато-красного цвета, гладкие, блестящие, упругой консистенции. На разрезе выражена дольчатость, лёгочная ткань бледно-розового цвета.

Тимус имел конусообразную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Печень обычной формы и размеров; капсула гладкая, блестящая, упругая, темно-красного цвета. Печень на разрезе - красно-коричневая, полнокровная, нормальной плотности.

Селезёнка удлинённой формы, плоская, пурпурно-бурого цвета, упругой консистенции. Капсула тонкая; с поверхности разреза соскоб скудный.

Почки бобовидной формы, симметрично расположены, темно-коричневого цвета, упругой консистенции, граница коркового и мозгового вещества чётко выражена. Фиброзная капсула блестящая, легко снималась.

Надпочечники желтовато-белого цвета, характерного размера и консистенции.

Тонкий и толстый кишечник заполнен содержимым с небольшим количеством слизи, без признаков вздутия; слизистые без изъязвлений, розового цвета.

Серозная и слизистая оболочка мочевого пузыря бледно-розовая. В полости мочевого пузыря присутствует небольшое количество мочи бледно-желтого цвета.

Матка и яичники у самок обычной формы; слизистая бледно-розового цвета.

Патологоанатомическое исследование, проведённое после восстановительного периода, также не выявило изменений во внутренних органах животных опытных групп по сравнению с контролем.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови подопытных животных при длительном подкожном применении примапена представлены в таблицах 72 и 73.

Таблица 72 - Гематологические показатели белых крыс через 14 дней ежедневного введения примапена ($M \pm m$)

Показатели	Примапен 323,0 мг/кг	Примапен 1617,0 мг/кг	Контроль
HGB, g/L	127,10±6,24	126,43±6,52	126,10±5,05
RBC, 10 ¹² /L	7,17±0,44	7,95±0,51	7,04±0,42
WBC, 10 ⁹ /L	8,43±0,83	8,72±0,73	8,49±1,18
BAS, %	0,63±0,18	0,38±0,18	0,5±0,19
EOS, %	1,1±0,33	0,88±0,26	0,8±0,2
BAND, %	2,9±0,23	2,1±0,23	2,5±0,12
SEGS, %	27,3±2,57	29,4±3,29	26,6±2,88
MON, %	1,5±0,33	1,38±0,26	1,4±0,18
LYM, %	66,57±3,45	65,86±3,87	68,2±3,47

После 14-дневного введения примапена в дозах 323,0 мг/кг и 1617,0 мг/кг массы тела, не было зарегистрировано существенных изменений в гематологических и морфологических показателях крови по сравнению с контрольной группой.

Результаты биохимических исследований свидетельствуют о том, что примапен не оказывает отрицательного влияния на показатели белкового (уровень общего белка, белковых фракций), липидного (общих липидов, холестерина,

триглицеридов), углеводного (глюкозы) и минерального (кальция, фосфора) обменов. При анализе биохимических показателей крови животных, позволяющих судить о негативном влиянии препарата на печень и почки (АсАТ, АлАТ, ЩФ, билирубин, мочевины, креатинин), не было выявлено достоверных изменений, что свидетельствует о нормальном функционировании мочевыделительной и гепатобилиарной систем организма белых крыс.

Таблица 73 - Биохимические показатели крови белых крыс через 14 дней ежедневного введения примапена ($M \pm m$)

Показатели	Примарпен 323,0 мг/кг	Примарпен 1617,0 мг/кг	Контроль
TP, g/L	71,73 \pm 3,78	72,09 \pm 5,86	69,71 \pm 5,23
Alb, g/L	38,98 \pm 3,04	41,52 \pm 3,07	38,99 \pm 4,01
α -Glob, g/L	7,90 \pm 1,25	7,10 \pm 1,04	8,90 \pm 1,67
β -Glob, g/L	12,14 \pm 1,12	12,28 \pm 0,78	12,85 \pm 0,88
γ -Glob, g/L	22,92 \pm 2,17	21,15 \pm 2,15	21,72 \pm 2,27
ALT, U/L	59,81 \pm 3,13	61,18 \pm 4,22	58,81 \pm 2,51
AST, U/L	120,41 \pm 12,03	119,42 \pm 10,07	110,42 \pm 10,06
ALP, U/L	264,55 \pm 28,2	271,54 \pm 18,8	261,73 \pm 18,1
T.bil., μ M/L	2,65 \pm 0,13	2,69 \pm 0,29	2,29 \pm 0,15
Urea, mM/L	4,81 \pm 0,36	5,01 \pm 0,38	4,52 \pm 0,34
Crea, μ M/L	33,14 \pm 5,58	38,69 \pm 5,13	39,51 \pm 5,28
Glu, mM/L	7,03 \pm 0,28	6,88 \pm 0,27	6,31 \pm 0,44
TL, g/L	2,49 \pm 0,42	2,09 \pm 0,26	2,27 \pm 0,35
Chol, mM/L	1,84 \pm 0,38	1,16 \pm 0,27	1,70 \pm 0,26
TG, mM/L	0,68 \pm 0,09	0,81 \pm 0,08	0,71 \pm 0,06
Ca, mM/L	2,36 \pm 0,11	2,26 \pm 0,08	2,24 \pm 0,11
P, mM/L	1,76 \pm 0,08	1,76 \pm 0,08	1,73 \pm 0,07

Результаты исследований морфологического состава и биохимических показателей крови подопытных животных через 10 дней восстановительного периода после длительного введения примапена представлены в таблице 74.

Таблица 74 - Морфологические и биохимические показатели крови белых крыс после восстановительного периода

Показатели	Примапен 323,0 мг/кг	Примапен 1617,0 мг/кг	Контроль
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
HGB, g/L	123,9±3,40	122,8±5,73	123,0±8,50
RBC, 10 ¹² /L	7,43±0,16	7,29±0,10	7,11±0,26
HCT, %	43,0±1,47	42,5±3,02	43,2±2,36
WBC, 10 ⁹ /L	8,45±0,31	8,30±0,56	8,39±0,15
BAS, %	0,25±0,16	-	-
EOS, %	1,00±0,01	0,75±0,16	1,25±0,16
BAND, %	3,10±0,22	3,30±0,15	3,00±0,12
SEGS, %	23,50±0,96	24,0±4,10	23,40±0,31
MON, %	1,69±0,24	1,58±0,2	1,64±0,10
LYM, %	70,46±3,45	70,37±3,87	70,71±3,26
TP, g/L	72,0±1,81	69,0±3,85	71,3±2,71
Alb, g/L	39,4±2,97	36,6±2,21	39,4±1,16
α-Glob, g/L	5,42±0,63	5,56±0,37	5,03±0,37
β-Glob, g/L	12,46±0,44	12,25±0,72	12,9±0,45
γ-Glob, g/L	14,69±1,17	14,59±1,07	13,94±1,19
ALT, U/L	55,4±1,57	54,5±1,28	52,8±3,27
AST, U/L	106,5±3,52	112,6±7,92	115,3±10,2
ALP, U/L	271,1±26,3	260,9±18,4	263,4±19,7
T.bil, μM/L	2,95±0,11	2,92±0,30	2,87±0,16

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Urea, mM/L	4,02±0,40	4,49±0,31	4,25±0,34
Crea, μM/L	37,2±3,00	43,0±1,71	39,80±1,10
Glu, mM/л	6,92±0,65	6,87±0,42	7,09±0,26
TL, г/л	1,96±0,15	1,75±0,10	1,90±0,15
Chol, mM/L	1,36±0,14	1,32±0,20	1,30±0,08
TG, mM/L	0,72±0,01	0,73±0,02	0,76±0,08
Ca, mM/L	2,17±0,07	2,25±0,06	2,22±0,09
P, mM/L	1,70±0,11	1,69±0,15	1,71±0,19

Из представленных в таблице 74 данных следует, что через 10 дней восстановительного периода (после применения примапена в течение 14 дней в изученных дозах) по сравнению с показателями животных контрольной группы не отмечается существенных изменений морфологических и биохимических показателей крови белых крыс.

Таким образом, на основании данных клинических, патологоанатомических исследований, гематологических и биохимических показателей крови белых крыс установлено, что препарат в дозах 1/50 (323,0 мг/кг) и 1/10 ЛД₅₀ (1617,0 мг/кг массы тела) при длительном подкожном введении в течение 14 дней, не оказывает негативного воздействия на организм животных.

4.6.5 Субхроническая токсичность примапена

В результате проведённых исследований было установлено, что трёхкратное введение примапена в терапевтической дозе (60 г/животное) не оказывало негативного влияния на организм коров и свиноматок. На протяжении всего опыта не было выявлено изменений клинического статуса у животных опытных групп по сравнению с контрольными.

Результаты исследований морфологических и биохимических показателей крови коров и свиноматок после трёхкратного введения примапена в

терапевтической дозе представлены в таблицах 75 и 76.

Таблица 75 - Показатели крови клинически здоровых коров при трёхкратном внутриматочном введении примапена ($M \pm m$)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=9)	Примапен (n=10)	Контроль (n=9)	Примапен (n=10)
HGB, g/L	115,6±1,2	117,0±3,0	110,0±5,0	118,5±2,5
RBC, 10 ¹² /L	5,4±0,2	5,3±0,2	5,9±0,4	5,5±0,1
WBC, 10 ⁹ /L	8,6±0,2	8,4±0,2	9,0±0,4	8,8±0,3
BAS, %	-	-	-	-
EOS, %	4,5±0,6	4,5±0,6	5,5±1,6	5,5±0,8
BAND, %	2,0±0,4	2,4±0,5	3,0±0,4	3,2±0,5
SEGS, %	31,0±5,0	32,5±4,5	33,4±3,5	34,5±3,8
MON, %	4,7±1,2	4,6±0,6	5,4±0,5	5,6±0,6
LYM, %	57,8±3,0	56,0±4,2	52,7±3,4	51,2±3,2
TP, g/L	84,5±2,2	86,3±2,7	88,4±3,8	89,4±3,2
Alb, g/L	39,6±0,3	37,5±0,6	38,7±0,4	37,7±0,7
α-Glob, g/L	8,7±0,5	9,1±0,4	9,2±0,5	9,4±0,4
β-Glob, g/L	17,1±0,6	17,5±0,8	18,7±0,6	18,5±0,5
γ-Glob, g/L	28,7±1,4	28,4±2,5	26,4±0,7	26,8±1,4
ALT, U/L	53,7±3,5	55,8±3,2	58,3±2,5	56,7±3,0
AST, U/L	21,1±2,8	22,7±2,6	24,6±3,2	23,4±2,0
Urea, mM/L	4,9±0,3	4,4±0,2	5,0±0,6	5,1±0,2
Creat, μM/L	70,7±5,2	75,5±4,3	76,4±2,5	77,5±3,6
Glu, mM/L	4,3±0,4	4,6±0,3	4,0±0,3	4,2±0,2
Chol, mM/L	3,1±0,2	3,3±0,3	3,4±0,2	3,2±0,2
Ca, mM/L	2,6±0,1	2,5±0,3	2,5±0,2	2,6±0,1
P, mM/L	1,8±0,1	1,8±,1	1,7±0,1	1,7±0,1

Таблица 76 - Показатели крови клинически здоровых свиноматок при трёхкратном внутриматочном введении примапена ($M \pm m$)

Показатели	До опыта		После опыта	
	Контроль (n=10)	Примапен (n=10)	Контроль (n=10)	Примапен (n=10)
HGB, g/L	101,5±1,7	104,3±2,1	105,2±5,7	105,7±4,4
RBC, 10 ¹² /L	5,8±0,3	5,9±0,2	6,1±0,4	6,3±0,5
WBC, 10 ⁹ /L	10,2±2,1	10,8±0,8	12,3±0,9	12,1±0,6
BAS, %	0,8±0,2	1,0±0,3	-	-
EOS, %	3,2±0,3	2,8±0,2	3,0±0,6	3,4±0,6
BAND, %	6,3±1,4	6,7±1,6	7,5±1,5	7,5±1,8
SEGS, %	39,3±3,9	41,5±2,6	42,6±2,0	44,2±2,3
MON, %	4,2±0,1	4,1±0,2	3,3±0,8	3,3±0,4
LYM, %	46,1±4,7	43,7±1,1	43,6±2,6	41,6±2,8
TP, g/L	83,4±1,5	82,7±4,5	84,0±1,0	86,9±2,4
Alb, g/L	31,8±3,0	33,7±2,5	36,2±1,6	37,8±1,0
α-Glob, g/L	14,5±1,1	15,1±0,5	15,9±0,8	16,9±0,5
β-Glob, g/L	18,8±0,4	19,3±0,2	19,2±0,2	18,8±0,4
γ-Glob, g/L	25,2±0,4	24,6±0,2	22,6±0,1	22,2±0,2
ALT, U/L	65,4±7,4	68,1±6,5	53,4±4,7	55,6±8,3
AST, U/L	40,2±1,5	44,2±2,3	43,0±2,1	40,8±1,2
Urea, mM/L	3,9±0,5	3,5±0,6	4,1±0,4	3,8±0,3
Creat, μM/L	125,8±3,6	125,4±4,0	139,2±2,5	128,4±2,0
Glu, mM/L	3,9±0,4	3,9±0,7	4,4±0,4	4,6±0,3
Chol, mM/L	2,6±0,5	2,3±0,3	2,3±0,5	2,6±0,2
Ca, mM/L	2,2±0,1	2,1±0,1	2,1±0,1	2,2±0,1
P, mM/L	1,8±0,1	1,9±0,1	1,8±0,1	1,8±0,1

При трёхкратном введении примапена в терапевтической дозе, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ в опытных группах коров и свиноматок существенно не отличались от показателей до введения препарата и контрольной группы.

Таким образом, при изучении влияния примапена установлено, что препарат не оказывает негативного действия на организм коров и свиноматок, так как исследованные показатели в опытных и контрольных группах соответствовали референсным значениям.

4.6.6 Раздражающие свойства препарата примапен

4.6.6.1 Раздражающее действие примапена на слизистые оболочки

(конъюнктивальная проба)

Клиническое исследование состояния организма подопытных кроликов после инстилляций примапена не выявило изменений основных показателей клинического статуса животных от референсных значений (таблица 77).

Таблица 77 - Данные о клиническом состоянии организма кроликов

Показатели	До опыта	Через 0,5 ч.	Через 1 ч.	Через 2 ч.	Через 3 ч.	Через 4 ч.	Через 5 ч.	Через 6 ч.
Кролик №1								
Температура, °С	39,0	39,1	39,0	39,1	38,9	38,8	38,9	39,0
Пульс, уд./мин.	135	137	139	138	139	140	145	140
Дыхание, кол./мин.	57	57	54	63	64	62	63	64
Кролик №2								
Температура, °С	38,7	38,6	38,7	38,9	38,8	38,8	38,8	38,8
Пульс, уд./мин.	130	131	132	139	130	129	132	132
Дыхание, кол./мин.	65	71	71	73	70	73	75	75
Кролик №3								
Температура, °С	38,8	38,9	38,9	39,0	39,0	39,0	38,9	38,9
Пульс, уд./мин.	127	128	130	135	140	135	131	129
Дыхание, кол./мин.	60	63	64	65	62	66	68	70

Результаты визуальной оценки действия препарата на слизистую глаз подопытных кроликов, представленные в таблице 78, свидетельствуют о том, что в течение опыта примапен не вызывает реакции со стороны конъюнктивы, роговицы и век.

Таблица 78 - Оценка раздражающего эффекта примапена при нанесении на конъюнктиву кроликов (балл)

Время исследования	Кролик № 1	Кролик № 2	Кролик № 3
До опыта	0	0	0
Через 0,5 ч	0	0	0
Через 1,0 ч	0	0	0
Через 2,0 ч	0	0	0
Через 3,0 ч	0	0	0
Через 4,0 ч	0	0	0
Через 5,0 ч	0	0	0
Через 6,0 ч	0	0	0

Таким образом, на основании результатов исследований можно сделать вывод, что примапен не оказывает раздражающего действия на слизистую оболочку.

4.6.6.2 Раздражающее действие примапена на кожные покровы

Результаты опыта по оценке раздражающего действия примапена, представленные в таблице 79, 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 на животное.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что примапен не обладает раздражающим действием на кожные покровы.

Таблица 79 - Оценка местно-раздражающего действия примапена (балл)

Доза примапена, г/животное	Средний балл выраженности				Наблюдаемый эффект	
	эритемы		отёка			
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
1 час						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
24 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
48 часов						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0
72 часа						
0,5	0	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0	0
5,0	0	0	0	0	0	0

4.6.7 Изучение аллергизирующих свойств препарата примапен

4.6.7.1 Метод накожных аппликаций

В результате опыта по оценке аллергизирующих свойств примапена методом накожных аппликаций на морских свинках было установлено, что при двадцатикратном нанесении на кожные покровы, препарат не вызывает явлений сенсibilизации (таблица 80).

Таблица 80 - Оценка аллергизирующего действия примапена (балл)

Симптомы	Примапен			Контроль		
	Время наблюдений					
	10 дней	14 дней	20 дней	10 дней	14 дней	20 дней
Гиперемия	0	0	0	0	0	0
Отёк кожи	0	0	0	0	0	0
Десквамация эпителия	0	0	0	0	0	0

4.6.7.2 Конъюнктивальная проба

Результаты опыта по оценке аллергизирующих свойств примапена при аппликации на конъюнктиву морских свинок, представленные в таблице 81, свидетельствуют о том, что препарат не вызывает реакции гиперчувствительности, как у сенсibilизированных, так и интактных морских свинок.

Таблица 81 - Выявление гиперчувствительности у морских свинок при применении примапена (балл)

Группа	Конъюнктивальный тест	
	Через 15 мин.	Через 24 ч.
Контрольная (n=6)	0	0
Опытная (n=6)	0	0

4.6.7.3 Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (НТДК)

Изучение аллергизирующих свойств примапена методом непрямо́й дегрануляции тучных клеток на белых крысах показало, что ПДТК во всех опытных группах по отношению к контрольной группе в течение опыта был ниже 10% (таблица 82). Следовательно, изучаемый препарат не вызывает реакцию гиперчувствительности.

Таблица 82 - Показатель дегрануляции тучных клеток (%)

Показатели	Примапен 323,0 мг/кг	Примапен 1617,0 мг/кг	Контроль
2 день			
ПДТК	0,14±0,003	0,15±0,003	0,15±0,003
% к контролю	93,3	100,0	100,0
8 день			
ПДТК	0,14±0,002	0,15±0,002	0,14±0,002
% к контролю	100,0	107,1	100,0
15 день			
ПДТК	0,14±0,002	0,15±0,003	0,14±0,002
% к контролю	100,0	107,1	100,0

Таким образом, на основании результатов трёх серий опытов по изучению аллергизирующих свойств примапена (конъюнктивальная проба, метод накожных аппликаций, реакция непрямой дегрануляции тучных клеток), можно сделать заключение, что препарат не обладает аллергизирующим действием.

4.6.8 Противовоспалительное и ранозаживляющее действие примапена

Доклиническое изучение лекарственных средств вводимых внутриматочно, представляет собой серьезную проблему из-за отсутствия адекватной модели на лабораторных животных. В связи с тем, что при послеродовом эндометрите в эпителиоцитах слизистой оболочки матки развиваются дистрофические и некробиотические изменения, сопровождающиеся массовой десквамацией эпителиальных клеток в полость матки и «оголению» больших участков слизистой органа [Сергеев Ю.В., 2004], то процесс восстановления эндометрия в послеродовом периоде представляет собой заживление раны, что патогенетически обосновывает применение препаратов, способных стимулировать репаративную регенерацию [Кузин М.И. и др., 1990]. К репарантам относится *Oleum Hipporphaes* (облепиховое масло), которое используется в гинекологии нативно и виде препаратов в аэрозольных баллонах: Олазол и Гипозоль [Машковский М.Д.,

2012]. В связи с этим, мы провели опыты по изучению противовоспалительного и ранозаживляющего действия разрабатываемого препарата при введении в его рецептуру облепихового масла.

Результаты первой серии опыта по изучению влияния препарата (первая опытная группа) и препарата с облепиховым маслом (вторая опытная группа) на заживление полнослойных кожных ран у белых крыс представлены на рисунке 38.

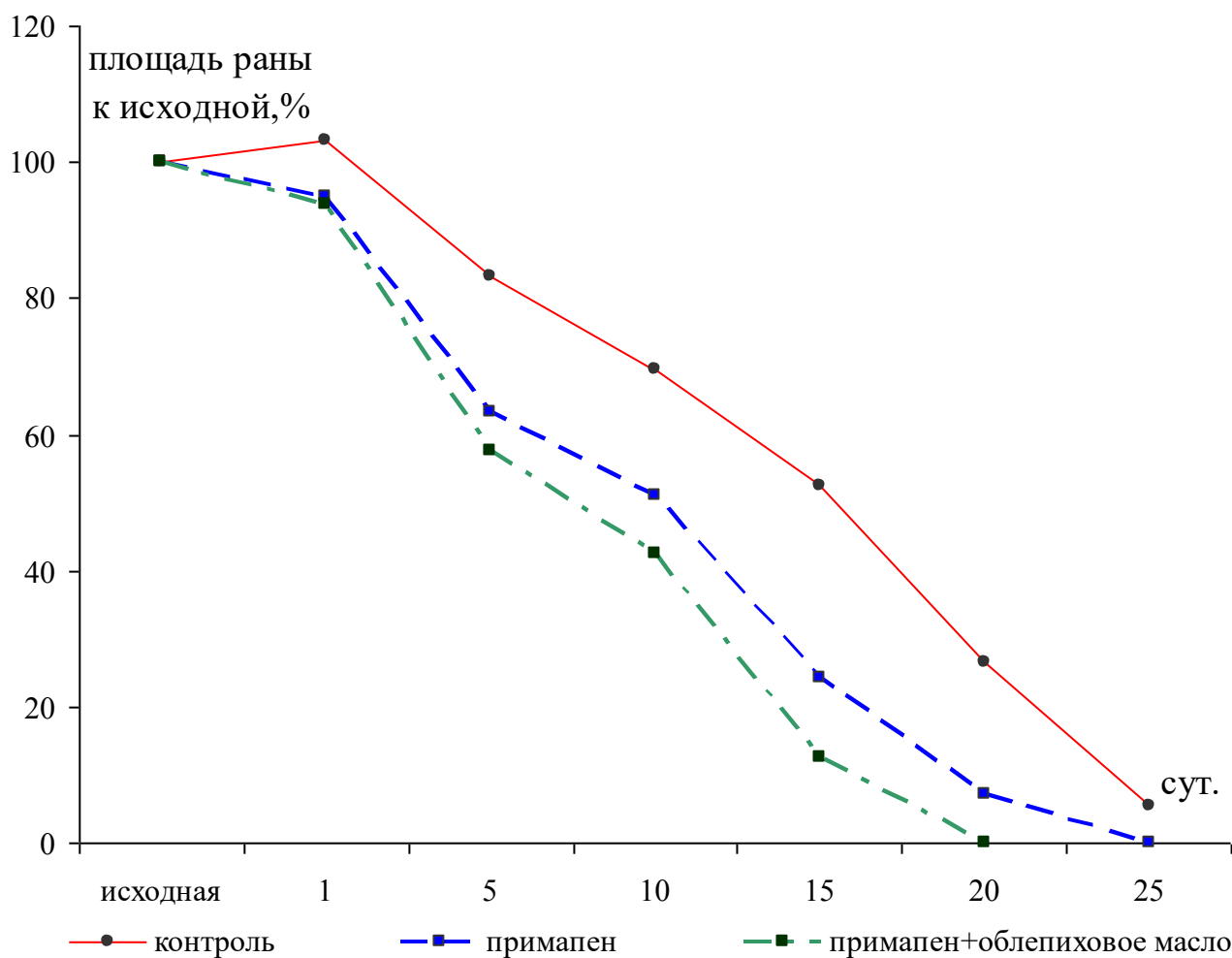


Рисунок 38 - Влияние примапена и примапена с облепиховым маслом на заживление ран у крыс

Установлено, что исходная площадь ран у животных контрольной группы составила 387,9 мм², у крыс первой опытной группы - 392,2 мм², второй опытной группы - 385,6 мм². Через сутки после начала лечения площадь ран у контрольных животных увеличилась на 3,2%, в то время как у животных опытных групп

сократилась на 5,1-6,2%. Через 5 суток площадь ран у животных первой опытной группы уменьшилась на 36,7%, второй опытной группы - на 57,7%, а в контрольной группе на - 16,9%, через 10 дней - в 2, 4,7 и 1,4 раза соответственно, а через 15 дней – в 4,1, 8,0 и 1,9 раза соответственно.

Полное заживление раны в группе животных, которым применяли примапен, наступило на 23-25 сутки, а в группе крыс, которым применяли примапен с облепиховым маслом - на 18-20 сутки. У контрольных животных полное заживление ран наступало на 26-27 сутки после операции.

У животных первой опытной группы (примапен) скорость заживления ран была выше в среднем в 1,5 раза по сравнению с животными контрольной группы, а у животных второй опытной группы (примапен+облепиховое масло) по сравнению с животными контрольной группы этот показатель был выше в среднем в 4,1 раза.

Следовательно, введение в состав препарата примапен облепихового масла способствует значительному ускорению заживления ран.

Результаты второй серии опыта по изучению влияния примапена (опытная группа) на заживление инфицированных полнослойных кожных ран у белых крыс по сравнению положительным контролем (мазь «Левомеколь») и отрицательным контролем (интактная группа) представлены на рисунке 39.

Через 24 часа после начала лечения площадь ран у животных всех групп уменьшилась. Однако наибольшие изменения отмечались в опытной группе – на 37,4% от исходной раны. Через неделю после начала лечения площадь раневой поверхности у крыс интактной группы снизилась на 13,1%, контрольной – на 20,8%, а опытной – на 55,6%. К концу второй недели отмечалась активизация процесса ранозаживления у крыс интактной группы (площадь раны от исходной сократилась в 3,3 раза). В тоже время у крыс контрольной группы площадь ран уменьшилась в 4,3 раза, а у животных опытной группы – в 7,2 раза по сравнению с исходными значениями.

Динамика заживления ран у животных контрольной и опытной группы практически выравнивалась к концу третьей недели. Полное заживление ран у

животных опытной группы произошло на неделю раньше, чем у животных контрольной и интактной групп.

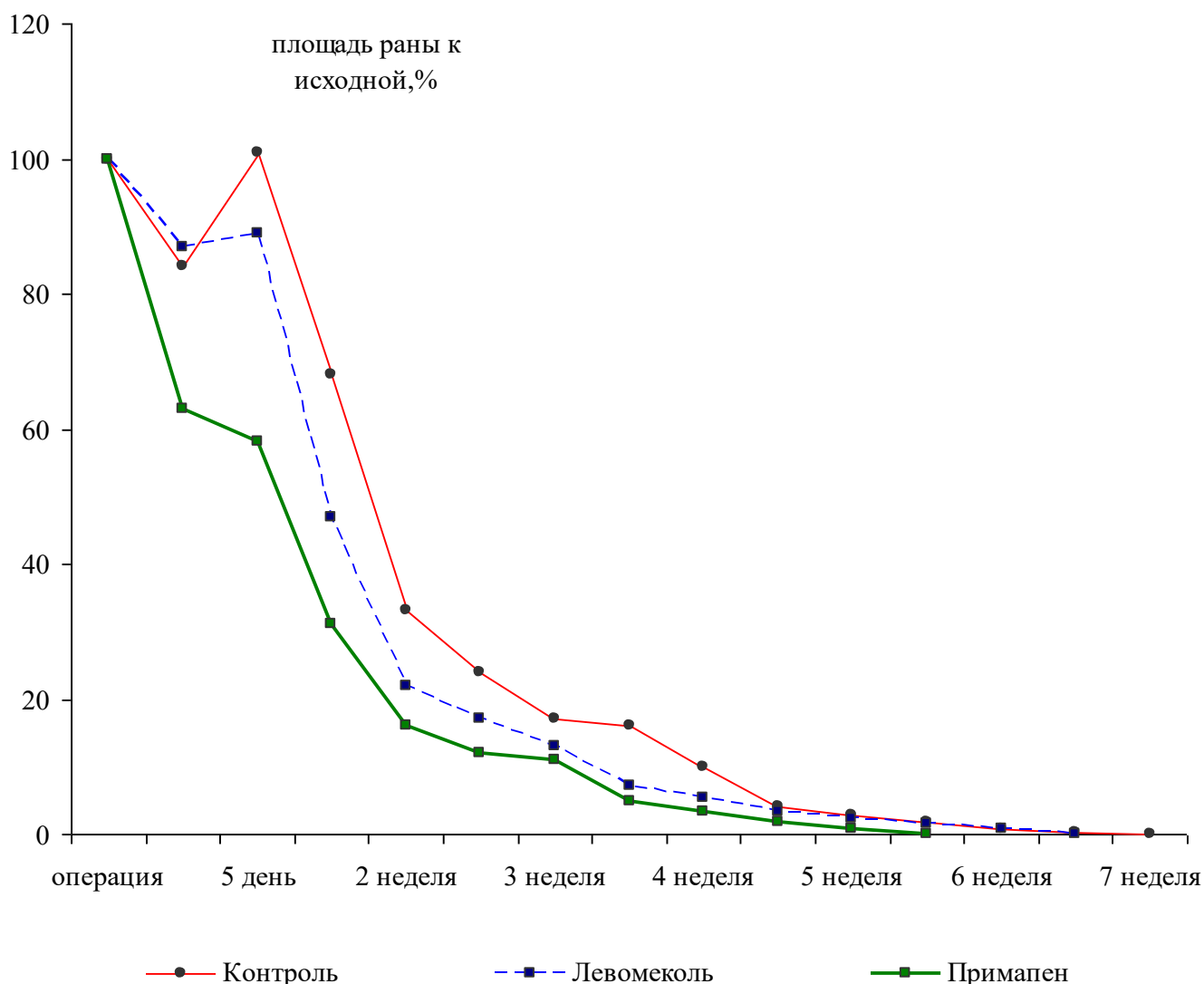


Рисунок 39 - Влияние примапена на заживление инфицированных ран у крыс

На 7 сутки после начала лечения с ран подопытных животных были сделаны смывы. У крыс опытной группы *Staph. aureus* 209P не был обнаружен, у животных контрольной группы рост микроорганизма регистрировался в 62,5% случаев, а у интактных животных все пробы давали положительный результат.

У животных опытной группы через сутки после начала лечения скорость заживления ран по сравнению с группой контроля и интакта была выше в 1,3 и 1,5 раза соответственно, через 10 суток – в 1,5 и 2,0 раза, через две недели после

начала лечения – в 1,6 и 2,7 раза, а через неделю после завершения лечения – в 1,1 и 2,6 раза. То есть, на четвертой неделе эксперимента динамика процесса ранозаживления снизилась. Затем скорость заживления в опытной группе вновь увеличилась в 1,6 и 5,8 раза по сравнению с контролем и интактом. На шестой неделе эксперимента у 75,0% крыс опытной группы отмечалось полное выздоровление, а у контрольных и интактных животных – только через 7 недель.

Следовательно, применение препарата примепен способствует значительному ускорению процесса заживления инфицированных ран.

Таким образом, на основании результатов, полученных в двух сериях опытов, можно сделать вывод, что примепен 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.

4.6.9 Эмбриотоксическое и тератогенное действие примепена

В ходе опыта было установлено, что беременность у всех животных проходила нормально. Общее состояние беременных самок опытных групп не отличалось от животных контрольной группы. Также не было зарегистрировано отличий по внешнему виду волосяного покрова и видимых слизистых, поведению, потреблению корма и воды. Динамика массы тела белых крыс, которым вводили примепен подкожно в дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг, и животных контрольной группы была положительной и не имела достоверно значимых отличий.

Как следует из представленных в таблице 83 данных, в терапевтической и трёхкратной терапевтической дозе примепен не оказывает существенного влияния на плодовитость крыс опытных и контрольной групп. Количество жёлтых тел и мест имплантаций на одну самку в среднем по группам статистически не отличается. Однако количество живых плодов в опытных группах было выше на 12,2%, а мёртвых – ниже на 11,8%. При этом по сравнению

с контролем количество резорбированных плодов в первой группе было ниже на 21,1%, а во второй – на 6,9%.

Таблица 83 - Эмбриотоксическое и тератогенное действие примапена (M±m)

Показатели	Контроль	Примапен	
		300 мг/кг	900 мг/кг
Количество жёлтых тел	14,25±0,59	14,50±0,57	15,25±0,31
Количество мест имплантации	11,00±0,54	11,75±0,49	12,00±0,27
Количество живых плодов	9,25±0,45	10,38±0,5	10,38±0,26*
Количество мёртвых плодов	0,34±0,03	0,30±0,03	0,30±0,03
Количество резорбированных плодов	1,75±0,16	1,38±0,18	1,63±0,18
Общая эмбриональная смертность, %	33,79±1,65	29,56±1,45*	31,96±1,25
Доимплантационная гибель, %	22,85±2,04	19,13±1,48	21,30±0,88
Постимплантационная гибель, %	15,85±1,24	12,78±1,53	13,44±1,52
Средний вес крысенка, г	2,58±0,14	2,51±0,11	2,40±0,03
Краниокаудальный размер, мм	37,28±0,36	36,17±0,58	36,05±0,58
Средняя масса плаценты, мг	0,53±0,01	0,54±0,01	0,54±0,01
Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета	-	-	-

* P<0,05 – по отношению к контролю

Не установлено достоверных различий по показателям пред- и постимплантационной гибели. Однако имелась тенденция к снижению данных показателей по сравнению с контролем у животных первой группы – на 16,3% и 19,4% соответственно, а у второй – на 6,8% и 15,2% соответственно. При этом общая эмбриональная смертность у крыс первой подопытной группы была

достоверно ниже (на 12,5%; $P < 0,05$), а во второй – на 5,6%, 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.

При исследовании внутренних органов по методике Вильсона и состояния скелета по методике Доусона (в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР) эмбриотоксические и тератогенные эффекты не были зарегистрированы. Не было отмечено аномалий окостенения, а также изменений в состоянии нижней челюсти, твёрдого неба, носовой полости, глаз, головного и спинного мозга, гортани, трахеи, лёгких, бронхов, крупных сосудов, сердца, диафрагмы, пищевода, желудка, кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочеточников, мочевого пузыря и половых органов у крыс, как опытных, так и контрольной групп.

Следует также отметить, что показатели физического развития и скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов крысят, рождённых от самок, получавших примапен в период беременности, не отличаются от животных контрольной группы. Так, у всех подопытных особей отлипание ушной раковины в среднем наблюдалось на 2-е сутки, появление первичного волосяного покрова - на 5-й день, прорезывание резцов - на 8-й день, а открытие глаз - на 15-16 день. В течение опыта не было отмечено гибели крысят контрольной и опытных групп, изменений двигательной активности.

Таким образом, на основании проведённых исследований можно сделать заключение, что введение примапена во время беременности самкам белых крыс не оказывает отрицательного влияния на физиологическое состояние животных, течение беременности и развитие плодов, что подтверждается отсутствием проявления врождённых пороков и выраженных отклонений в физическом развитии у потомства.

4.6.10 Определение остаточных количеств примапена в организме коров и свиноматок

Результаты изучения остаточных количеств гентамицина сульфата после введения примапена представлены на рисунках 40 и 41.

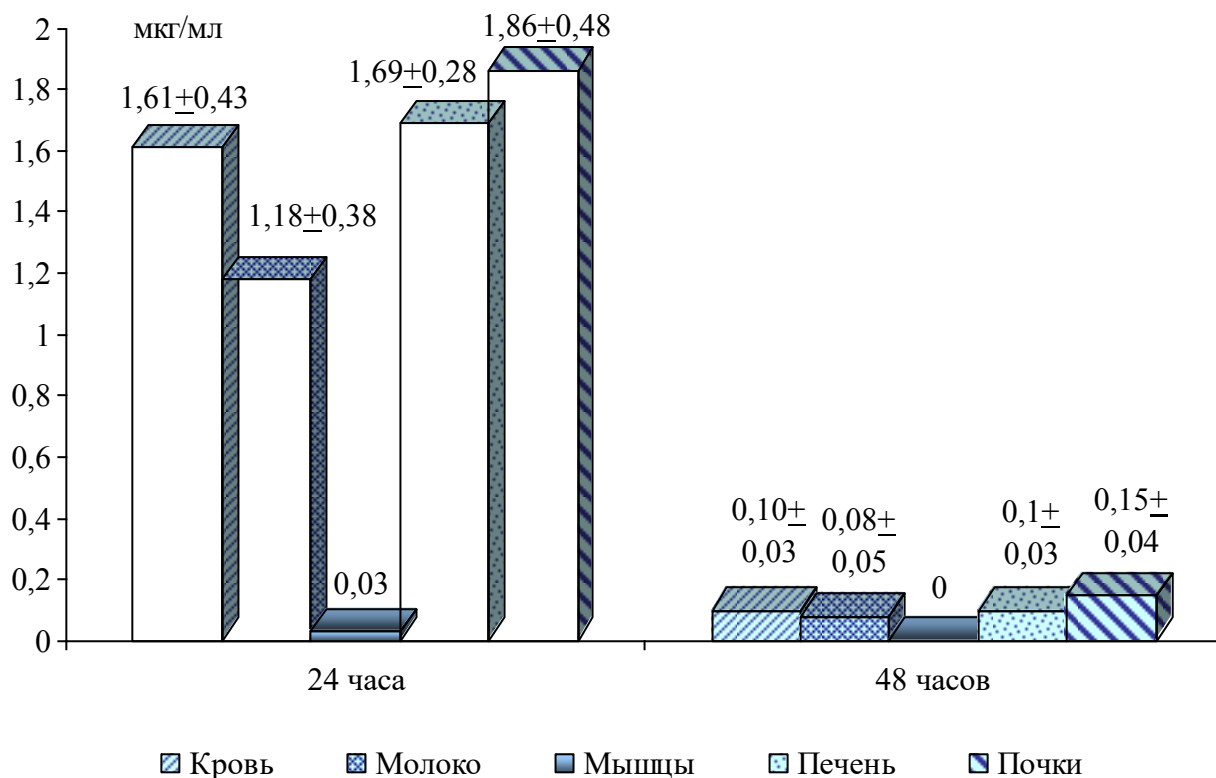


Рисунок 40 – Остаточные количества гентамицина сульфата в организме коров после применения примапена

Как следует из представленных данных, при внутриматочном введении примапена его компоненты всасываются в кровь и выделяются с молоком в более низких концентрациях. Наибольшие концентрации гентамицина сульфата и диоксидина содержатся в пробах крови и молока в течение 24 часов, через 48 часов регистрируются в следовых количествах, а через 72 часа не обнаруживаются.

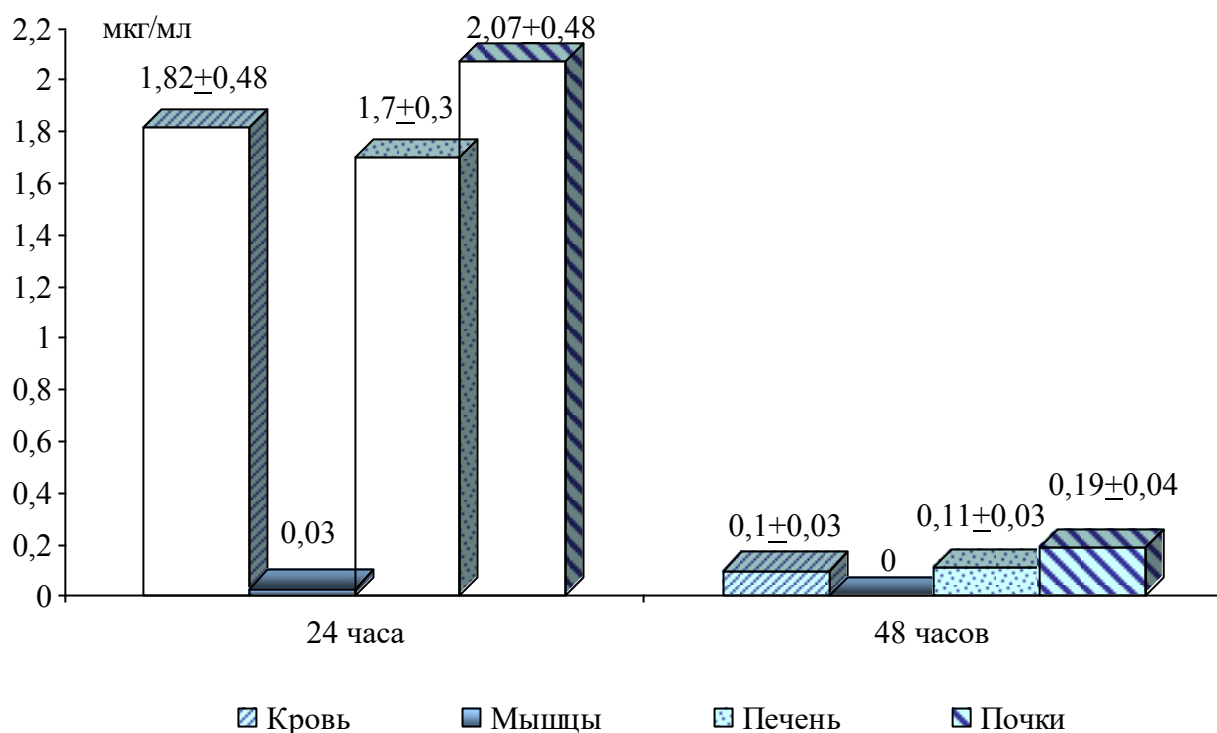


Рисунок 41 – Остаточные количества гентамицина в организме свиноматок после применения примапена

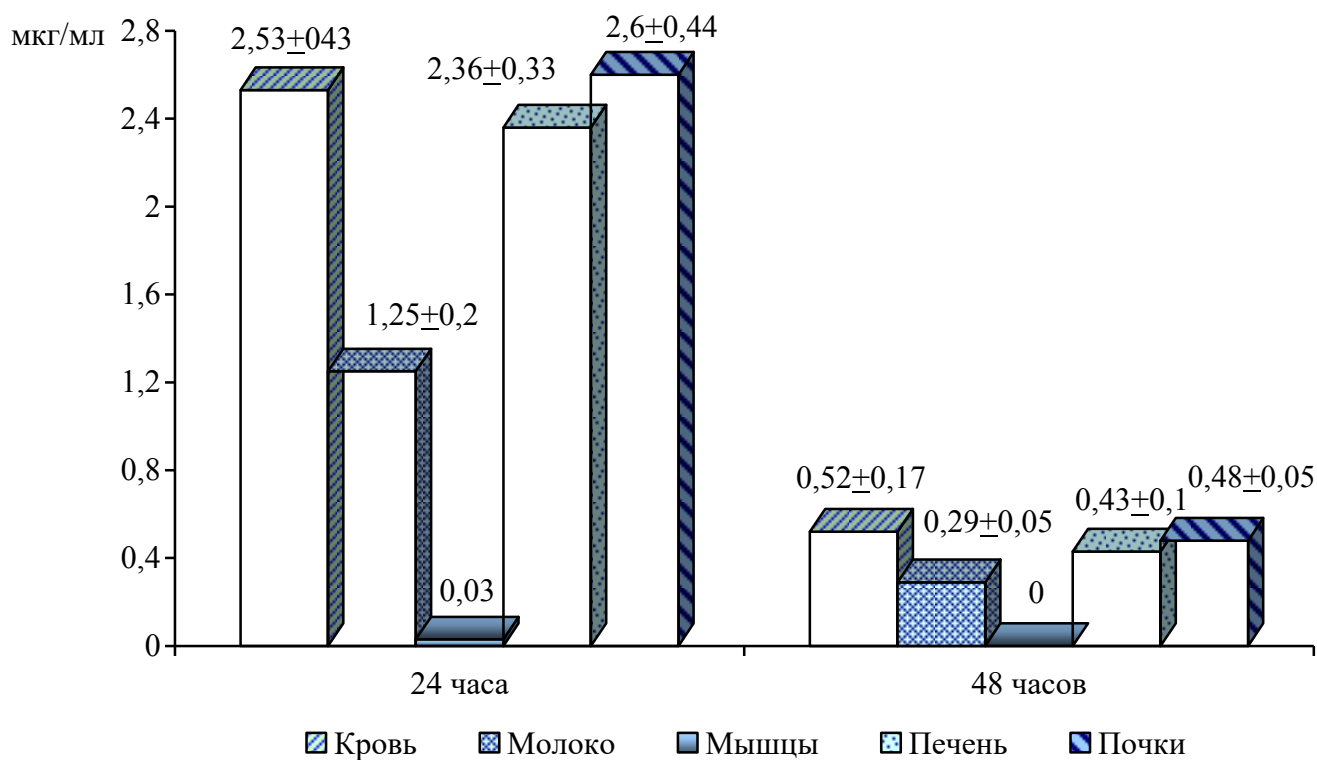


Рисунок 42 – Остаточные количества диоксилина в организме коров после применения примапена

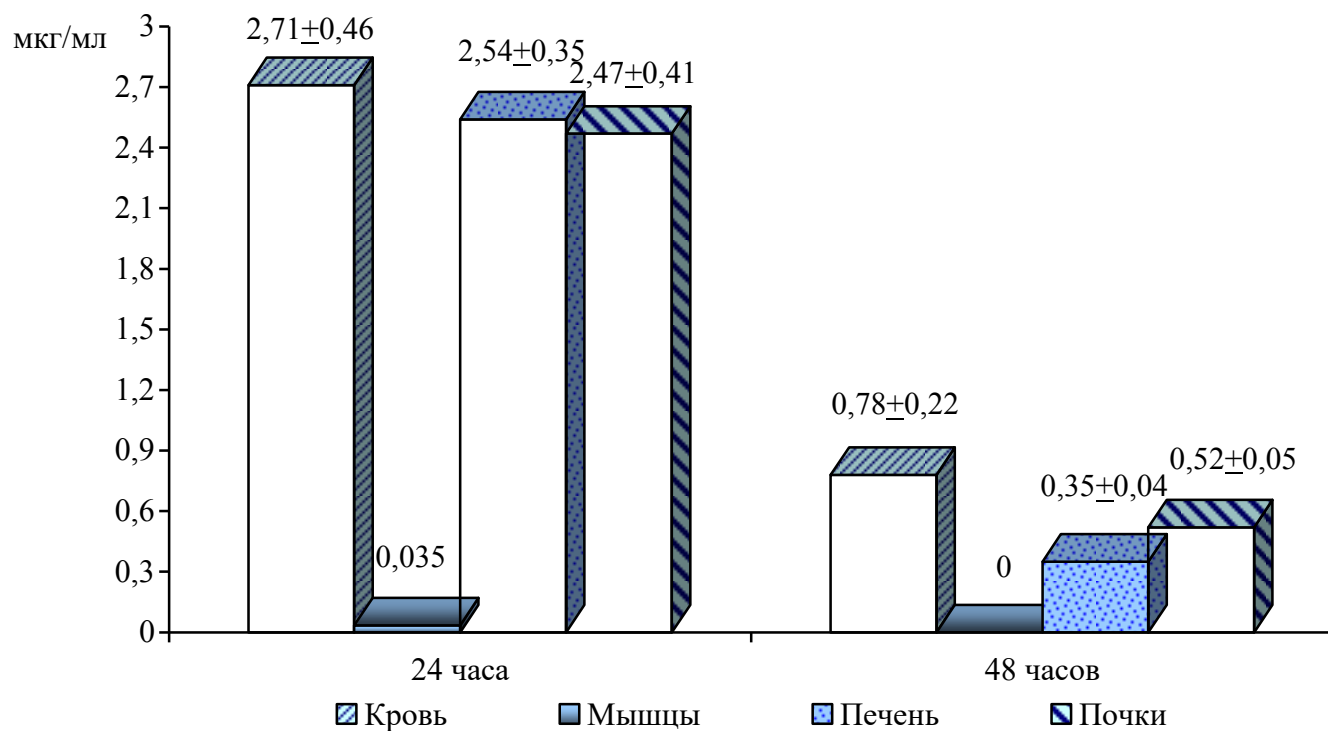


Рисунок 43 – Остаточные количества диоксилина в организме свиноматок после применения примапена

После трёхкратного внутриматочного введения примапена коровам концентрации активнoдействующих веществ в мышечной ткани, близкие к пределам детектирования (менее 0,03-0,035 мкг/г), фиксируются в течение первых суток. В печени и почках коров и свиноматок гентамицина сульфат и диоксидин регистрируются в течение 48 часов, а через 72 часа обнаруживаются ниже предела количественного анализа.

При этом гентамицин регистрируется ниже рекомендуемых нормативов через 24 часа в мышцах коров и свиноматок, через 48 часов - в печени (в 2 раза) и почках (в 4-5 раз), а через 72 часа - в молоке [приложение №21 к СанПиН 2.3.2.1078-01]. Но 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.

4.7 КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИМАПЕНА

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

Результаты опытов по определению оптимальной схемы применения примапена для лечения острого послеродового эндометрита коров представлены на рисунке 44.

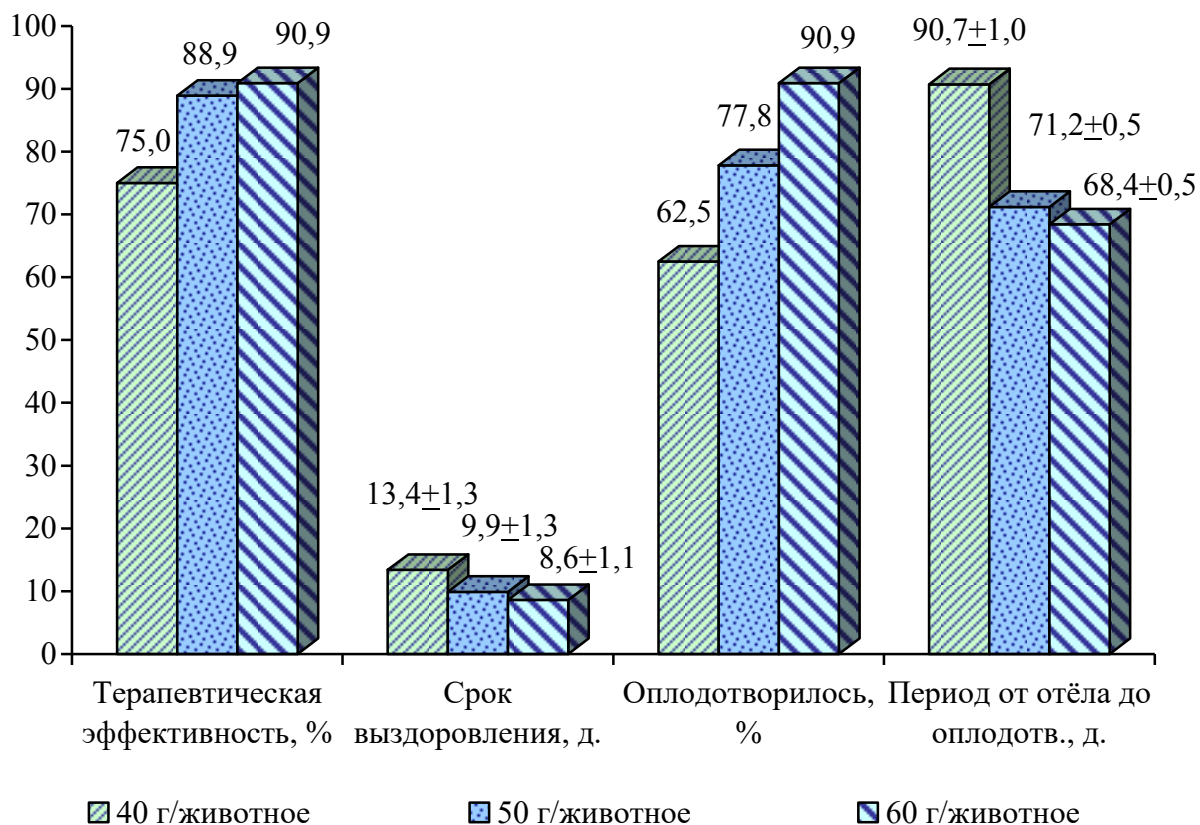


Рисунок 44 – Эффективность разных доз примапена при терапии острого послеродового эндометрита у коров

Как следует из представленных на рисунке 44 данных, при применении примапена в дозе 60 г/животное (n=11) выздоровело в среднем на 15,9% и 2,0% больше коров, чем при введении препарата дозе 40 г/животное (n=8) и 50 г/животное (n=9). При этом срок выздоровления сократился на 35,8% и 13,1% соответственно, а количество внутриматочных введений препарата уменьшилось в 1,4 (с 4,0±0,3 до 2,8±0,2; P<0,05) и 1,3 раза (с 3,7±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, чем при применении препарата в дозах 40 г/животное и 50 г/животное. Период от отёла до оплодотворения сократился на 24,6% и 3,9% соответственно, а коэффициент оплодотворения составил $1,97 \pm 0,11$, что ниже в 1,5 раза ($2,89 \pm 0,19$; $P < 0,005$) и 1,2 раза ($2,45 \pm 0,12$; $P < 0,02$) 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 примапен в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом.

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

Результаты первой серии опытов по определению оптимальной дозы препарата примапен для лечения свиноматок на примере метрит-мастит-агалактии представлены на рисунке 45.

Из представленных на рисунке 45 данных следует, что наибольший терапевтический эффект при метрит-мастит-агалактии свиноматок получен после внутриматочного введения примапена в дозе 60,0 г/животное ($n=14$), что выше, чем при применении препарата в дозах 40 г/животное ($n=11$) и 50 г/животное ($n=11$) в среднем на 14,0% и 4,9% соответственно.

Во второй серии опытов изучили терапевтическую эффективность примапена при метрит-мастит-агалактии свиноматок ($n=21$) в зависимости от кратности введения в дозе 60 г/животное.

Терапевтический эффект после однократного внутриматочного введения примапена свиноматкам в дозе 60 г/животное при метрит-мастит-агалактии составил 76,2%, после двукратного – 85,7% и трехкратного – 95,2%.

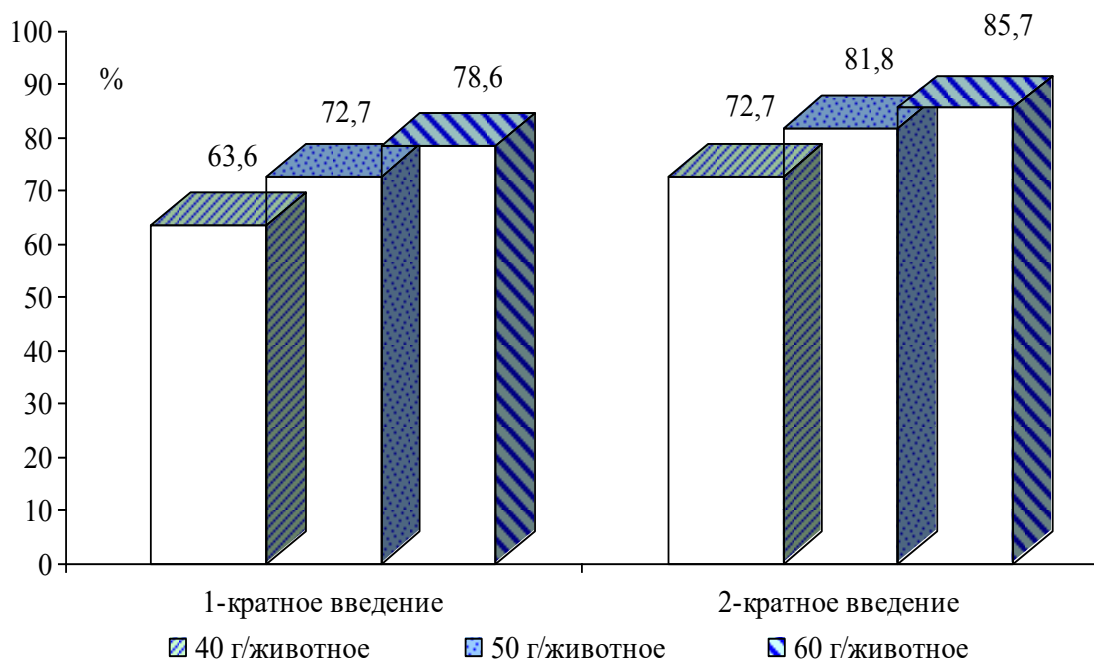


Рисунок 45 – Эффективность разных доз примапена для лечения свиноматок

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

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

Результаты изучения терапевтической эффективности примапена при комплексном лечении послеродового эндометрита у коров представлены на рисунке 46.

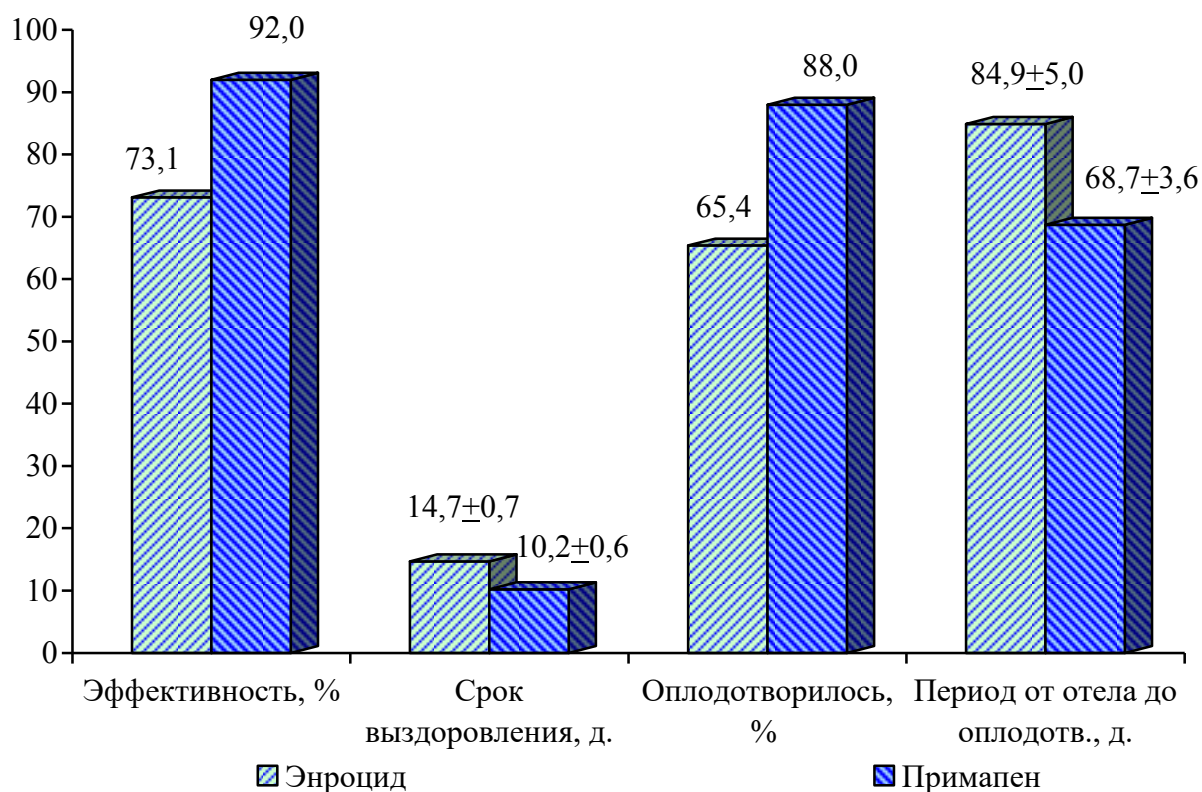


Рисунок 46 – Терапевтическая эффективность примапена при остром послеродовом эндометрите у коров

Оценка эффективности препарата свидетельствует о том, что при применении в качестве антимикробного средства примапена ($n=50$) в сравнении с энроцидом ($n=52$) эффективность лечения увеличивалась на 16,0%, сроки выздоровления сократились на 30,6% при уменьшении количества внутриматочных введений лекарственных средств с $4,25 \pm 0,34$ до $3,81 \pm 0,29$. При этом в опытной группе оплодотворилось на 20,0% больше животных, период от отёла до оплодотворения сократился на 19,1%, а коэффициент оплодотворения – в 1,4 раза (с $2,7 \pm 0,1$ до $1,9 \pm 0,1$; $P < 0,002$).

Результаты проведённых морфологических и биохимических исследований проб крови больных острым послеродовым эндометритом коров ($n=23$) до и после внутриматочного введения примапена представлены в таблице 84.

Таблица 84 - Показатели крови больных острым послеродовым эндометритом коров до и после комплексного лечения с применением примапена (M±m)

Показатели	До лечения	После лечения
HGB, g/L	113,8±2,30	123,9±1,21**
RBC, 10 ¹² /L	5,84±0,25	6,24±0,28
WBC, 10 ⁹ /L	10,5±0,83	8,9±0,56
BAS, %	1,2±0,1	1,0±0,1
EOS, %	3,0±0,02	2,9±0,05
BAND, %	4,8±0,2	5,1±0,2
SEGS, %	44,5±1,8	40,6±1,6
MON, %	3,3±0,6	4,4±0,4
LYM, %	43,2±1,8	46,0±2,5
TP, g/L	79,64±2,12	83,25±1,72
ALT, U/L	97,67±2,97	67,63±5,14**
AST, U/L	29,6±1,29	24,12±3,07
ALP, U/L	120,0±12,9	113,3±10,9
Urea, mM/L	5,26±0,49	4,76±0,66
Crea, μM/L	87,17±8,96	83,67±4,02
TL, g/L	4,14±0,31	5,65±0,70*
Glu, mM/L	3,45±0,44	3,91±0,35
API, nM/L	5,13±0,54	6,50±0,62
Vit. A, μM/L	1,18±0,31	1,51±0,16
Vit. E, mM/L	14,80±1,08	20,9±2,34*
Carotin, μM/L	9,23±1,52	9,75±1,12

* - P < 0,05-0,01; ** - P < 0,005-0,001 - по отношению к периоду до лечения

Из данных, представленных в таблице 84, следует, что в процессе выздоровления происходит нормализация гематологических и биохимических

показателей гомеостаза животных. Результаты проведённых исследований свидетельствуют, что в процессе комплексного лечения послеродового эндометрита с применением препарата примапен у коров отмечается динамика снижения содержания лейкоцитов на 15,2%, увеличение гемоглобина на 8,9% ($P < 0,005$), что свидетельствует о снижении воспалительной реакции в их организме.

Повышение концентрации общего белка на 4,5%, глюкозы - на 13,3%, общих липидов - в 1,36 раза ($P < 0,05$), связанного с белком йода - в 1,26 раза, витамина А - в 1,28 раза, витамина Е - в 1,41 раза ($P < 0,05$), связано с активизацией обменных процессов в организме выздоравливающих животных. Динамика снижения концентрации мочевины (на 9,5%) и креатинина, активности щелочной фосфатазы, аспаратаминотрансферазы - на 30,8% ($P < 0,001$) и аланинаминотрансферазы - на 18,5%, свидетельствует об уменьшении токсической нагрузки на печень и почки.

Высокая эффективность примапена при лечении коров с острым послеродовым эндометритом подтверждена также результатами микробиологических исследований. Проведённая терапия обеспечила санацию половых органов от патогенных микроорганизмов.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что примапен обладает высокой терапевтической эффективностью при остром послеродовом эндометрите у коров, и за счёт устранения этиологического фактора способствует восстановлению гомеостаза организма подопытных животных.

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

Результаты изучения терапевтической эффективности примапена при гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок представлены на рисунке 47.

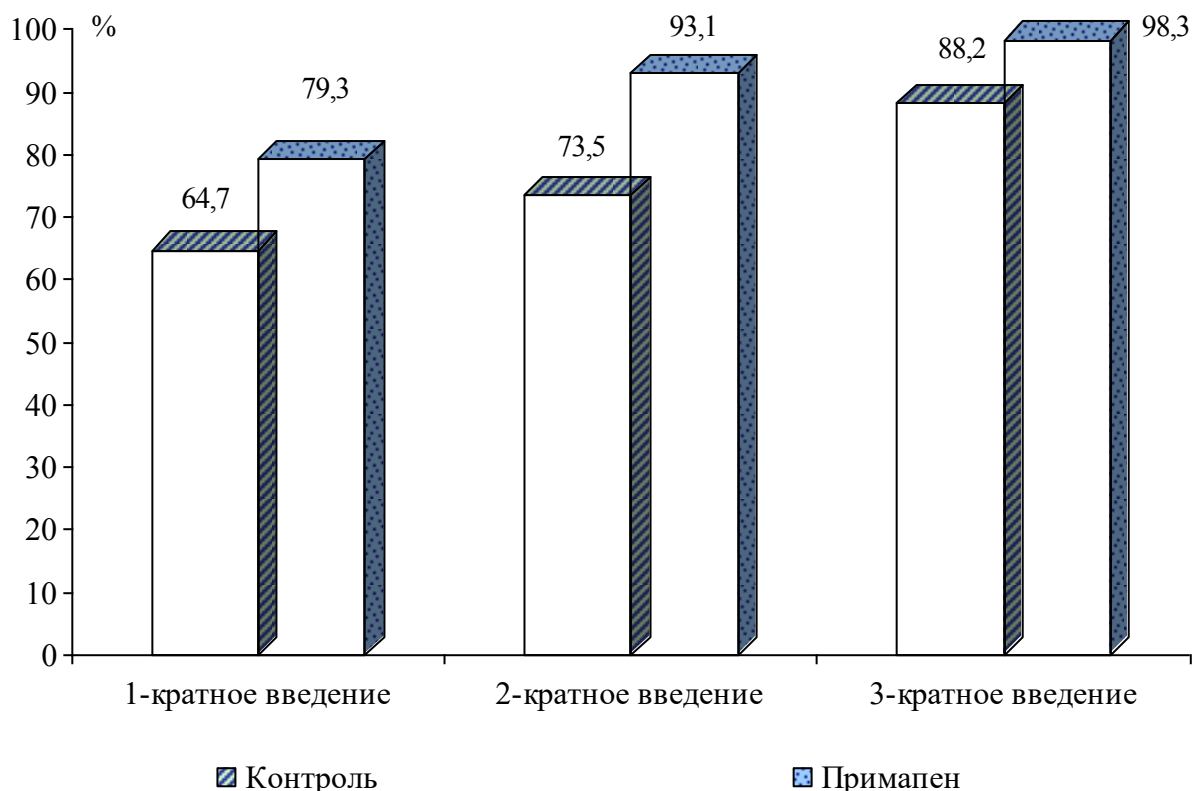


Рисунок 47 - Эффективность примапена при послеродовом гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок

В результате исследования терапевтической эффективности было установлено, что после внутриматочного введения примапена ($n=58$) больным гнойно-катаральным эндометритом свиноматкам, выздоровело в среднем на 14,8% больше животных по сравнению с энроцидом ($n=34$).

Результаты изучения терапевтической эффективности примапена при ММА у свиноматок представлены на рисунке 48.

В результате исследования было установлено, что после внутриматочного введения примапена ($n=46$) больным ММА свиноматкам, в среднем выздоровело на 14,3% больше животных по сравнению с энроцидом ($n=38$).

Следовательно, примапен обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении гнойно-катарального эндометрита и ММА у свиноматок.

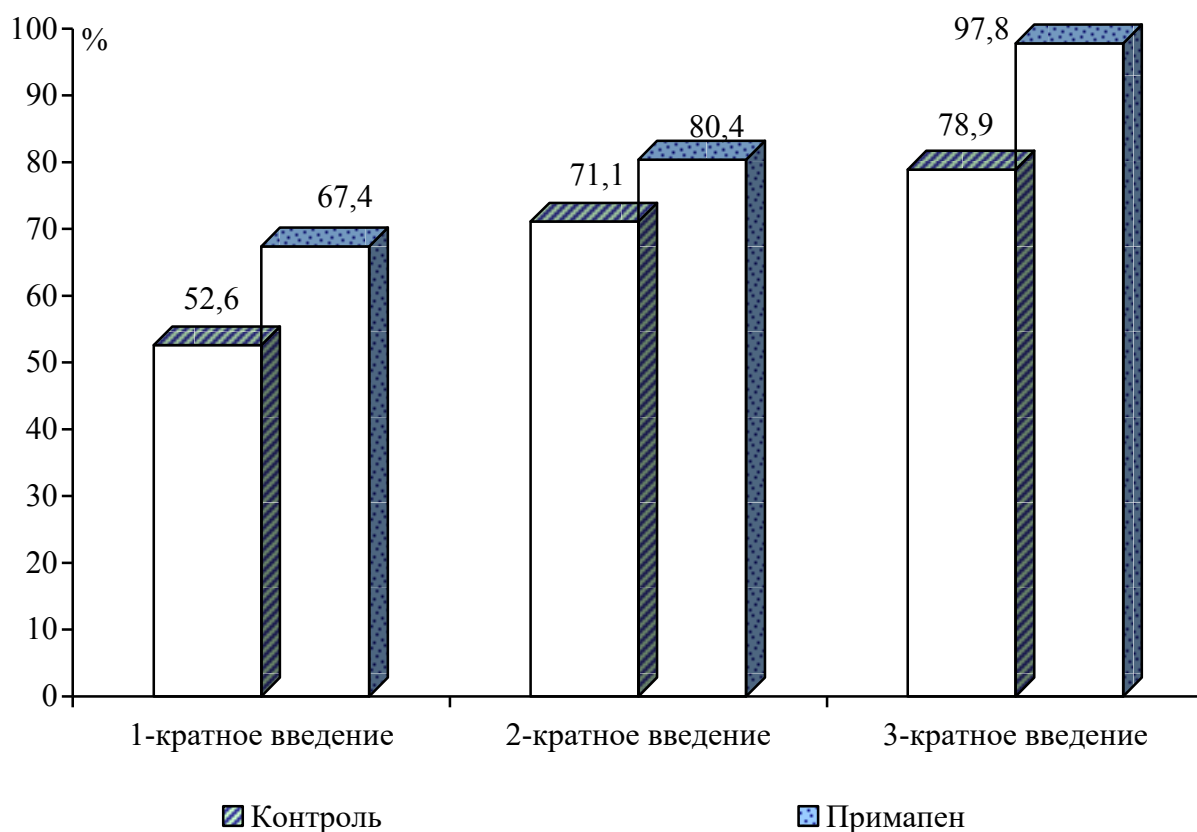


Рисунок 48 - Эффективность примапена при ММА у свиноматок

При исследовании крови, полученной от свиноматок ($n=24$) до и после лечения, выявлены изменения показателей, свидетельствующие о нормализации метаболических процессов у животных и их выздоровлении (таблица 85).

Таблица 85 - Показатели крови больных свиноматок до и после лечения ($M \pm m$)

Показатели	До лечения	После лечения
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
HGB, g/L	113,3±2,12	116,0±3,22
RBC, $10^{12}/L$	5,65±0,27	5,96±0,10
HCT, %	35,6±1,25	36,1±0,71
PLT, $10^9/L$	243,0±52,4	263,4±27,7
WBC, $10^9/L$	12,6±1,32	13,3±1,25

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
EOS, %	6,2±1,56	5,4±0,98
BAND, %	2,8±0,58	3,0±0,39
SEGS, %	36,2±2,54	34,2±3,32
MON, %	2,8±0,70	3,2±0,71
LYM, %	52,0±1,37	54,2±2,73
TP, g/L	77,3±1,70	80,2±1,13
Alb, g/L	46,6±0,62	47,2±0,41
α-Glob, g/L	17,1±0,37	15,3±1,05
β-Glob, g/L	16,4±0,94	15,4±0,60
γ-Glob, g/L	19,9±1,38	22,2±2,07
ALT, U/L	42,9±3,82	35,4±1,97
AST, U/L	53,6±3,01	41,8±3,98*
ALP, U/L	86,6±14,3	81,6±16,2
GGT, U/L	75,4±1,70	64,9±3,16*
Urea, mM/L	3,53±0,75	4,09±0,49
Crea, μM/L	144,0±12,0	136,6±12,7
Glu, mM/L	3,20±0,45	2,63±0,36
TL, g/L	2,75±0,15	2,60±0,19
Chol, mM/L	2,49±0,16	2,25±0,12
Ca, mM/L	2,51±0,07	2,54±0,04
P, mM/L	2,13±0,08	2,12±0,01

* - $P < 0,05$ - по отношению к показателям до лечения

У свиноматок в конце лечения при использовании в качестве антимикробного средства примапена, увеличивалось содержание в крови эритроцитов на 5,5%, гемоглобина и гематокрита, что свидетельствовало об активизации окислительно-восстановительных процессов в организме животных.

Повышение в крови выздоравливающих животных количества моноцитов - на 14,3%, а также тенденция к увеличению лимфоцитов, лейкоцитов и γ -глобулинов на 11,6%, свидетельствовало об интенсификации защитных механизмов в их организме.

Снижение активности ферментативного звена: аланинаминотрансферазы – на 17,5%, гамма-глутамилтрансферазы – на 16,2% ($P < 0,05$), аспаратаминотрансферазы – на 12,0% ($P < 0,05$), щелочной фосфатазы – на 5,8%, свидетельствовало о нормализации процессов метаболизма в печени. При этом концентрация мочевины увеличилась на 15,9%, что, вероятно, связано с физиологическим распадом тканей в результате послеродовой инволюции половых органов у свиноматок.

Следовательно, представленные изменения морфологических и биохимических показателей крови указывают на восстановление гомеостаза подопытных животных в процессе лечения.

Для оценки терапевтической эффективности примапена при ММА у свиноматок ($n=12$) до и после лечения было проведено исследование маточного содержимого. После применения примапена происходила полная санация матки от патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

Таким образом, примапен обладает высокой терапевтической эффективностью при метрит-мастит-агалактии и послеродовом гнойно-катаральном эндометрите у свиноматок в дозе 60,0 г на животное при введении с интервалом 24 часа.

4.7.5 Эффективность применения примапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров

Результаты оценки примапена при профилактике острого послеродового эндометрита у коров, представленные на рисунке 49, свидетельствуют, что эффективность применения изучаемого препарата при самопроизвольном ($n=28$) и оперативном отделении последа ($n=24$) выше на 15,1% и на 16,6% соответственно, чем после применения энроцида (по $n=9$), и на 20,2% и 19,7%

соответственно, чем после применения йодопена (по n=11), и в 1,9 и 3,3 раза соответственно, чем в отрицательном контроле (по n=8).

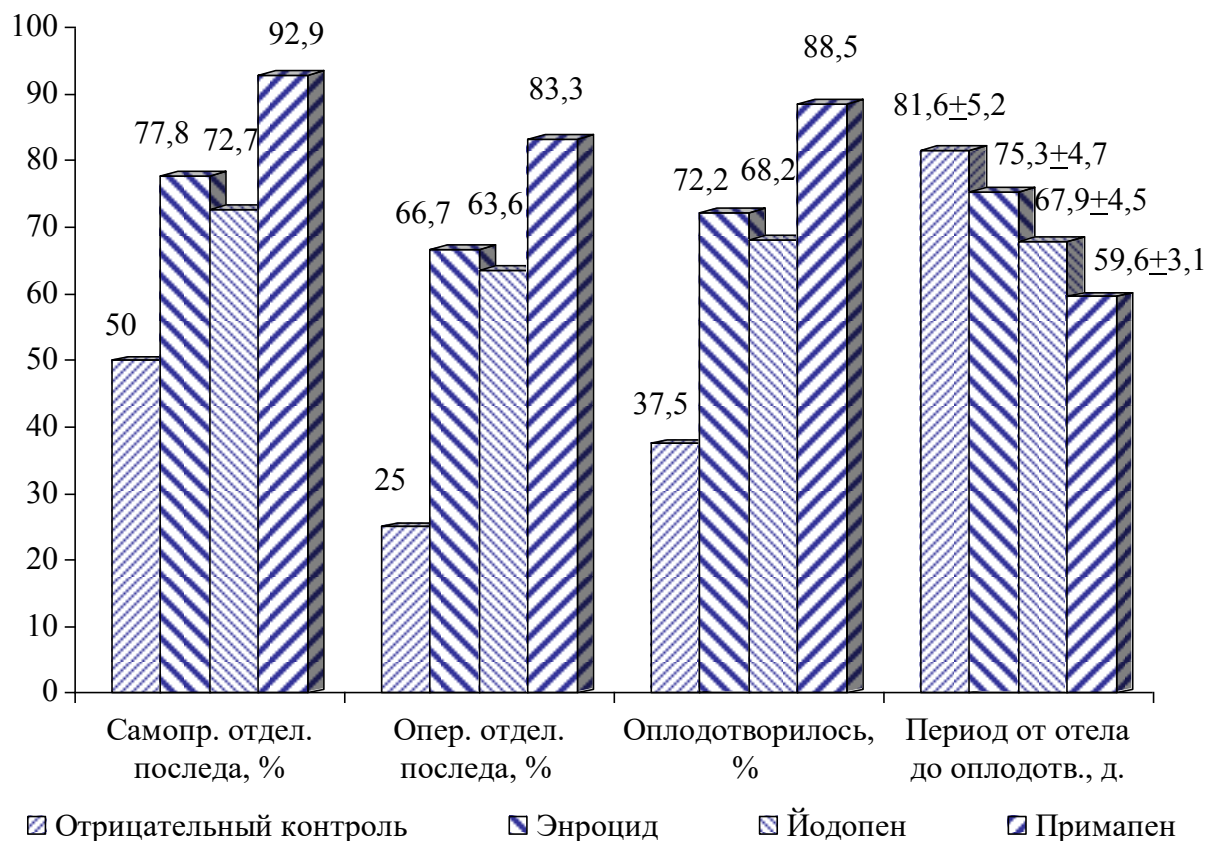


Рисунок 49 - Профилактическая эффективность примапена при остром послеродовом эндометрите у коров

В группе коров, которым применяли примапен, оплодотворилось в среднем на 18,3% животных больше, чем в группах с базовыми препаратами, и в 2,4 раза – по сравнению с группой отрицательного контроля. Продолжительность периода от отёла до оплодотворения сократилась на 16,8% и 27,0% соответственно, а коэффициент оплодотворения – в 1,4 ($P<0,001$), 1,3 ($P<0,002$) и 1,2 раза ($P<0,02$) соответственно (с $2,69\pm 0,04$ – отрицательный контроль, $2,45\pm 0,05$ – йодопен, $2,25\pm 0,10$ – энроцид, $1,96\pm 0,06$ - примапен).

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

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

Наибольшая профилактическая эффективность послеродовых заболеваний установлена в группе животных, которым применяли примапен (n=39). 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 энроцид (n=36) - в 1,5 раза, в том числе, при метрит-мастит-агалактии – в 1,6 раза, а при эндометрите – в 1,5 раза (рисунок 50).

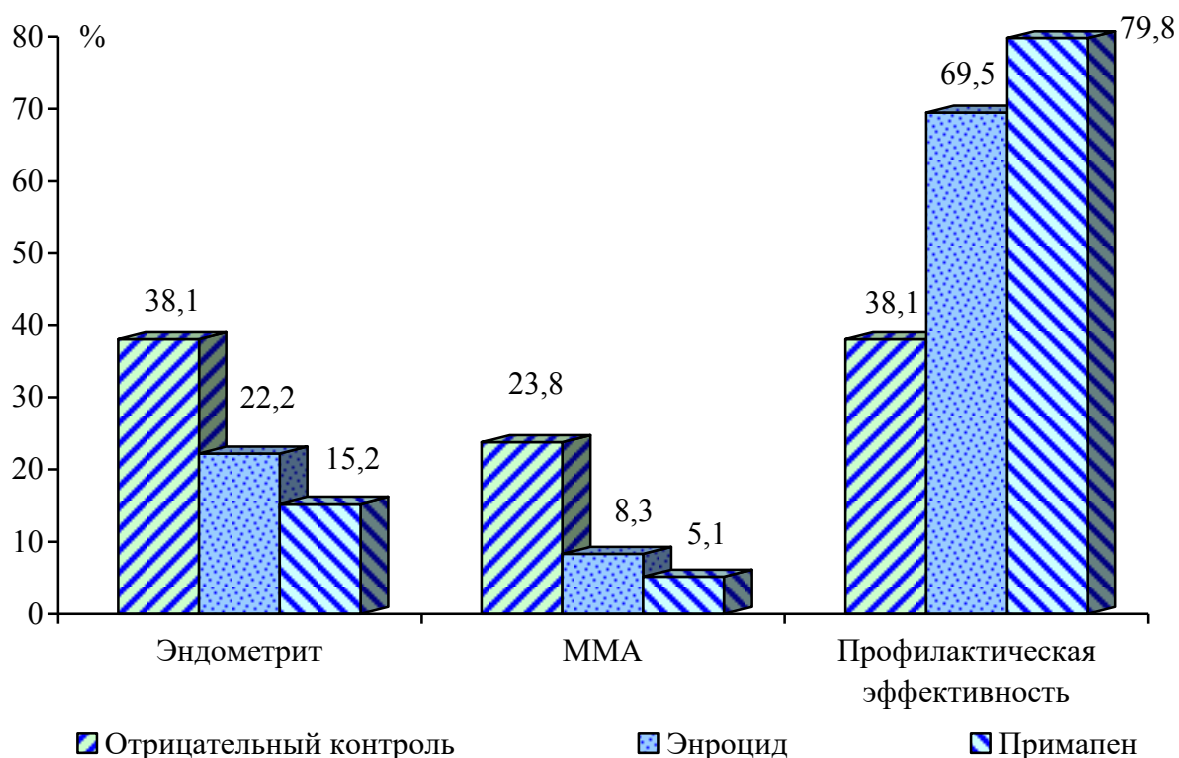


Рисунок 50 - Профилактическая эффективность примапена при остром послеродовом эндометрите и ММА у свиноматок

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

5 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

К числу наиболее часто встречающихся акушерских патологий сельскохозяйственных животных относятся гнойно-воспалительные заболевания половых органов у коров и свиноматок, которые являются результатом нарушения гомеостаза, дисбалансом между состоянием защитных систем организма и воздействием эндогенных и экзогенных патогенов. В основном причиной, вызывающей воспалительные процессы в органах размножения и в молочной железе, являются патогенные и условно-патогенные микроорганизмы [Е.Л. Гридяев, 1987; А.Г. Нежданов и др., 2005; С.В. Шабунин и др., 2009; В.П. Хлопицкий и др., 2011; И.С. Коба и др., 2015; S.J. LeBlanc, 2014; V.S. Machado et al., 2014; I. Prunner et al., 2014; K. Wagener et al., 2015].

При микробиологическом исследовании экссудата матки больных острым послеродовым эндометритом коров и свиноматок было установлено, что микрофлора в основном представлена ассоциациями грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (до 76,5-86,7%). Наиболее часто в возникновении и развитии воспалительных процессов в половых органах сельскохозяйственных животных принимают участие: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* и др.

При терапии гнойно-воспалительных заболеваний репродуктивных органов применяют комплексные схемы лечения, обеспечивающие нормализацию обмена веществ в организме и трофики в поражённом органе, повышение нервно-мышечного тонуса миометрия, нормализация и усиление сократительной функции матки, освобождение её полости от экссудата, повышение защитных сил организма и подавление жизнедеятельности микрофлоры, восстановление структуры и функции матки. Выявление патологии в половых органах и молочной железе на ранней стадии и проведение интенсивной терапии, не допуская перехода заболеваний в хроническое течение, способствует снижению риска развития длительного или постоянного бесплодия с потерей продуктивности и выбраковке животных.

В качестве средств этиотропной терапии, направленной на подавление жизнедеятельности микрофлоры используют химиотерапевтические препараты [А.Г. Нежданов и др., 2009; С.В. Шабунин и др., 2011; В.И. Михалёв и др., 2014; E.J. Reppert, 2015; J.A. Bartolome et al., 2014; A.C. Hirsch et al., 2003; N. Korudzhiiński et al., 1987]. С целью проведения специфической профилактики послеродовых патологий практикуют однократное введение антибактериальных средств в матку после родов [В.Д. Мисайлов и др., 2005; В.Н. Коцарев и др., 2013]. Основная проблема антимикробной терапии заключается в снижении её эффективности, связанная с развитием резистентности у бактерий.

Микроорганизмы, выделенные от больных коров и свиноматок, 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%. Менее 10% от числа выделенных культур были чувствительными к пенициллинам и макролидам, а 20,1-33,2% - обладали множественной лекарственной устойчивостью. Полученные данные послужили основой выбора действующих веществ для разрабатываемых препаратов.

Для проявления высокой активности химиотерапевтического средства необходимо, чтобы оно было доставлено в патологический очаг [В.И. Кулаков и др., 2009; Ю.Б. Белоусов и др., 2010]. При воспалительных процессах в половых органах у сельскохозяйственных животных введение этиотропных препаратов осуществляется внутриматочно, что позволяет избежать инактивации действующего вещества, связанной с метаболизмом при других путях введения (в частности, инъекционном).

Ветеринарные препараты для внутриматочного введения отечественного и импортного производства представлены в основном в жидкой лекарственной форме (раствор, суспензия, эмульсия), а также в форме геля, палочек (суппозиториев) и таблеток [<https://galen.vetrif.ru>].

Однако растворы не обладают пролонгированным эффектом, хуже дозируются, не стабильны (особенно с антибиотиками). Мягкие лекарственные

формы не способны проникать в складки слизистых и более глубокие слои эндометрия, а твёрдые - обладают местно-раздражающим действием и определёнными трудностями при внутриматочном введении.

В последние годы возрос интерес к проблеме разработки новых препаратов, в частности, к пенным аэрозолям. В состав пен можно вводить антибиотики, гормоны, витамины и др. средства. Они нашли широкое применение в гуманной медицине, а в ветеринарии применяются в основном как антисептики и противопаразитарные средства для наружного применения [Н.И. Попов, 2005; Д.И. Удавлиев, 2011].

Лекарственная форма в виде пены обеспечивает экономичное дозирование, лучший контакт со слизистой оболочкой матки и обеспечивает лекарству пролонгированное действие или быстрое всасывание. Под влиянием температуры тела пена увеличивается в объёме, заполняет все складки на слизистых. Кожа и слизистые не испытывают давления со стороны пены, поэтому данная лекарственная форма предпочтительна при эндометритах, так как оказывает щадящее действие и снижает болевой синдром при контакте с раневой поверхностью. Пена разносит действующие начала по всей полости матки, способствует проникновению их в глубокие слои эндометрия, механически очищает её поверхность от остатков плаценты и воспалительного экссудата.

В ходе проведённого анализа номенклатуры антимикробных лекарственных средств на рынке ветеринарных препаратов, а также состояния исследований в области создания лекарственных форм для применения в акушерско-гинекологической практике установлено, что ассортимент пенных аэрозолей ограничен и представлен преимущественно импортными препаратами йода, которые предназначены для внутриматочного введения коровам. Возможно, это связано с тем, что пены, как газо-жидкостные дисперсные системы содержат в себе не полностью известные характеристики и к ним нельзя предъявлять требования качества, предъявляемые к другим лекарственным формам, например, к аэрозолям или спреям [О.И. Терешкина, 2006; З.Д. Хаждиева, 2007; И.В. Сакаева, 2014].

На основании фундаментальных и прикладных исследований по фармацевтике и антибиотикотерапии, а также результатов микробиологических, теоретических и экспериментальных исследований по совместимости различных лекарственных субстанций в одной лекарственной форме [Международная фармакопея, 1981; Н.А. Ляпунов, 1989; М.И., Рабинович 2006; З.Д. Хаджиева, 2007; Государственная Фармакопея Российской Федерации, British Pharmacopoeia, 2009; European Pharmacopoeia, 2010; и др.], нами был разработан ряд комплексных антибактериальных препаратов в форме пенных аэрозолей, предназначенных для лечения и профилактики послеродовых заболеваний воспалительного характера у коров и свиноматок. Виапен в качестве антимикробных субстанций содержит норфлоксацина гидрохлорид и диоксидин в соотношении 3:1,5; флоропен - флорфеникол и линкомицина гидрохлорид в соотношении 2,5:1,5 и примапен – гентамицина сульфат и диоксидин - 2,5:1. Основной целью сочетанного применения двух химиотерапевтических компонентов является расширение спектра антибактериального действия, восполнение пробелов в спектре каждого и предупреждение формирования устойчивости микроорганизмов.

Норфлоксацин обладает широким спектром антимикробной активности, включающим грамотрицательные и грамположительные микробы, но проявляет низкую активность в отношении анаэробных бактерий [Е.Н. Падейская, 1998; В.П. Яковлев, 1994, 1999; Н.Н. Gadebusch, 1991; J.S. Wolfson, 1988].

Мишенью действия норфлоксацина являются бактериальные ферменты - топоизомераза IV и ДНК-гираза, осуществляющие изменение пространственной конфигурации молекулы ДНК на различных этапах её репликации [Е.Н. Падейская, 1995; Н.И. Фадеева, 1993]. Топоизомераза IV осуществляет разрезание на отдельные хромосомы, формирующуюся в ходе репликации линейную молекулу ДНК [V.J. Heaton, 2000]. Одна из основных функций ДНК-гиразы заключается в снятии напряжения, возникающего впереди репликационной вилки в результате расплетения двойной спирали ДНК в ходе репликации.

Диоксидин характеризуется широким антибактериальным спектром, бактерицидным типом действия, с наиболее высокой активностью в отношении облигатных анаэробов - спорообразующих и неспорообразующих. Кроме того, препарат активен в отношении грамотрицательных и грамположительных аэробных условно-патогенных бактерий, а также в отношении некоторых облигатных патогенов [Л.В. Большаков, 1990; Е.Н. Падейская, 1983, 1989, 2001; В.Д. Соколов и др., 2010].

В основе механизма действия диоксидина лежит повреждение биосинтеза ДНК микробной клетки с глубокими нарушениями структуры нуклеоида [Е.Н. Падейская, 1974]. Активность диоксидина существенно повышается в условиях анаэробноза, причём величины минимальной подавляющей концентрации в этом случае могут быть снижены в 8-128 раз. В условиях анаэробноза, в том числе и в инфицированном организме, диоксидин активизирует свободнорадикальные процессы, индуцируя образование активных форм кислорода [W. Suter, 1978].

Аминогликозиды являются бактерицидными антибиотиками. Антибактериальная активность гентамицина направлена в основном против аэробных грамотрицательных бактерий и грамположительных кокков.

Механизм действия гентамицина основан на связывании с 30S субъединицей рибосом и нарушением синтеза белка, препятствуя образованию комплекса транспортной и матричной РНК, при этом происходит ошибочное считывание генетического кода и образование нефункциональных белков. В больших концентрациях гентамицин нарушает барьерную функцию цитоплазматической мембраны и вызывает гибель микроорганизмов. Аминогликозиды проникают в клетки бактерий путём пассивной диффузии через поры наружной мембраны и путём активного транспорта, который замедляется или полностью блокируется в присутствии ионов Ca^{2+} или Mg^{2+} , в гиперосмолярной среде, при низких значениях рН и в анаэробных условиях, что снижает их активность [Л.С. Страчунский и др., 2001; Р.У. Хабриев и др., 2004].

Флорфеникол обладает широким спектром антибактериального действия, активен в отношении *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*,

Salmonella spp., *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella* spp., *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus* spp., *Fusobacterium necrophorum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma* spp., а также *Moraxella bovis*, *Proteus* spp. и др. [M. Cannon, 1990; J. Martel, 1994; J.M. Palacios-Arriaga, 2000; H. Yoshimura, 2002; J. Shen, 2002; L.M. Herradora, 2003; L. Jianzhong, 2003; C. Michel, 2003; C. Kehrenberg, 2005]. Чувствительность многих микроорганизмов к флорфениколу в несколько раз превосходит чувствительность к хлорамфениколу. Он слабоактивен в отношении кислотоустойчивых бактерий, синегнойной палочки, клостридий и простейших.

Линкомицин активен в отношении грамположительных кокков, уступает по активности в отношении спорообразующих анаэробов, *Neisseria* spp., *Corynebacterium* spp., не действует на *Enterococcus* spp., грамотрицательные микроорганизмы, грибы, вирусы, простейшие. Линкомицин оказывает бактериостатическое действие, при более высоких концентрациях – бактерицидное [Д. Ланчини, 1985; В.Г. Кукес, 2006].

Флорфеникол обратимо связывается с 50S-субъединицей рибосом. Местом действия флорфеникола является А-участок (акцепторный участок) 50S-субчастицы рибосом, где антибиотик конкурирует с аминокцильным концом молекулы аминокцил-тРНК, препятствуя её вхождению в А-участок, что сопровождается подавлением биосинтеза белка.

Местом действия линкомицина является Р-участок (донорный участок) 50S-субчастицы рибосом, так называемый пептидил-тРНК-связывающий участок. Линкомицин делает ассоциацию пептидил-тРНК с Р-участком рибосом более прочной, что способствует ингибированию сборки белковой молекулы [С.М. Навашин и др., 1982; В.П. Яковлев и др., 2003]. Такой двунаправленный механизм на разные участки РНК микробной клетки усиливает противомикробный эффект препарата.

Таким образом, синергидный эффект антимикробных компонентов разработанных препаратов обеспечивается за счёт того, что они обладают разным

механизмом действия или блокируют различные стадии белкового синтеза в бактериальной клетке.

Согласно микробиологическим исследованиям МБСК виапена в отношении грамположительной и грамотрицательной микрофлоры составила 0,19-6,25 мкг/мл, флоропена – 0,78-6,25 мкг/мл, примапена - 0,19-6,25 мкг/мл, а МБЦК в зависимости от возбудителя была в 2-4 раза выше. Следовательно, совместное применение норфлоксацина с диоксидином, гентамицина с диоксидином, флорфеникола с линкомицином позволило создать препараты с высокой антимикробной активностью и широким спектром действия, что свидетельствует о целесообразности их применения для лечения и профилактики послеродовых заболеваний у коров и свиноматок.

В настоящее время к разрабатываемым препаратам предъявляются следующие требования: они должны быть безвредными для животных и человека, с достаточно длительным сроком хранения, удобными для применения [Н.А. Ляпунов и др., 2001; Т.А. Гуськова, 2003; О.И. Терешкина и др., 2007; С.Н. Быковский и др., 2014]. Основа препарата должна обеспечивать равномерную адсорбцию и постепенное высвобождение активнордействующих веществ.

Качество разрабатываемого пенного аэрозоля определяется правильным выбором пропеллента, действующих и вспомогательных веществ (ПАВ), материала баллона и деталей клапанно-распылительной системы, отсутствием взаимодействия содержимого и упаковки. Структура и стабильность пены зависит от физико-химического состава компонентов и их соотношения с пропеллентом [И.Е. Кузьменко и др., 1970; А.И. Теньцова и др., 1985; Н.А. Ляпунов, 1989; М.Ю. Плетнев и др., 2002; З.Д. Хаджиева, 2003].

Создание лекарственного препарата предполагает определение сроков годности и обоснование оптимальных сроков и режимов хранения. При этом должны быть определены и стандартизированы свойства лекарственного препарата в соответствии с фармакопейными требованиями.

Нормы качества для стандартизации и контроля стабильности при хранении виапена, флоропена и примапена были основаны на использовании стандартных

методов оценки лекарственного средства, предъявляемые к аэрозолям (общие требования), а также на разработанных нами методах анализа содержания действующих веществ препаратов. Результаты работы вошли в нормативные документы – инструкции и СТО на виапен и флоропен и проекты инструкции и СТО на примапен.

Согласно полученным результатам, анализируемые показатели качества подопытных серий препаратов при температуре +5°C и +20°C, соответствуют установленным нормам в течение 18 месяцев. При этом препараты выдерживают испытание на внешний вид, подлинность активнодействующих веществ, микробиологическую чистоту и герметичность упаковки. Массовая доля норфлоксацина гидрохлорида составляет 30,0 мг/г, диоксида в виапене и примапене - 15,0 мг/г и 10,0 мг/г соответственно, флофеникола - 25,0 мг/г, линкомицина гидрохлорида - 15,0 мг/г, гентамицина сульфата – 25,0 мг/г. Средняя масса одной дозы составляет 60 г, выход содержимого из баллона – не менее 90%, объем пены не менее 300 см³, стабильность пены – не менее 30 минут.

Таким образом, правильно подобранные вспомогательные компоненты и их соотношение с пропеллентом, материал баллона и клапанно-распылительная система, обеспечивают стабильность препаратов и высокие показатели высвобождения действующих веществ на протяжении всего срока годности.

Доклиническое исследование лекарственного средства для ветеринарного применения проводится в целях получения доказательств безопасности, качества и его эффективности [А.П. Шицкова и др., 1977; Т.А. Гуськова, 2003; Р.У. Хабриев и др., 2005; А.Н. Миронов и др., 2012].

Согласно литературным данным при внутрижелудочном введении норфлоксацина белым мышам LD₅₀ составляет 3344,0 мг/кг. Препарат по степени токсичности относится к III классу опасности – вещества умеренно опасные [ГОСТ 12.1.007-76]. Норфлоксацин не обладает канцерогенным, тератогенным и эмбриотоксическим действием. Выявленные нежелательные реакции, проявляющиеся в угнетении кроветворения, повышении активности ферментов печени, желудочно-кишечных расстройствах, нейротоксичности,

фототоксичности, являются обратимыми и исчезают после отмены [Е.Н. Падейская, 2000; Л.С. Страчунский и др., 2000; С.В. Сидоренко, 2003; В.П. Яковлев, 2008; В. Holmes et al, 1985].

По данным А.В. Мартыновой [1999] при внутрибрюшинном назначении диоксида белым мышам ЛД₅₀ составила 2,6 мг/кг, а при внутрижелудочном – 51,5 мг/кг. Препарат по степени токсичности относится к II классу опасности – вещества высокоопасные [ГОСТ 12.1.007-76]. Существенным недостатком диоксида, ограничивающим его широкое применение, являются малая терапевтическая широта, мутагенная активность, эмбриотоксичность и повреждение коркового слоя надпочечников. В то же время, при местном применении в рекомендуемых терапевтических дозах диоксидин не повышает частоты мутаций [А.Д. Дурнев и др., 1998].

По данным Европейского агентства оценки медикаментов комитета оценки ветеринарных лекарственных средств флорфеникол относится к умеренно опасным веществам. Для мышей и крыс ЛД₅₀ при оральном введении составляет более 2000 мг/кг массы тела. Препарат не обладает эмбриотоксическим, тератогенным, аллергенным, мутагенным действием, фетотоксичностью и генотоксичностью [The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol. Summary report (1)].

По данным Европейского Агентства оценки медикаментов комитета оценки ветеринарных лекарственных средств линкомицин по степени токсичности относится к веществам малоопасным: ЛД₅₀ для крыс и мышей составляет более 5000,0 мг/кг при пероральном введении. Также линкомицин не обладает эмбриотоксическим, тератогенным, мутагенным, канцерогенным действием, ототоксичностью, фетотоксичностью и генотоксичностью [The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit. Lincomycin. Summary report (1)].

При исследовании острой токсичности виапена, флоропена и примапена среднелетальную дозу препаратов определить не удалось, так как не было отмечено 100% летального исхода при внутрижелудочном введении, что

позволило отнести препараты к 4 классу опасности согласно действующему ГОСТу 12.1.007-76 или к 5 классу - по Р 1.2.3156-13 [2014]. При подкожном введении виапен, флоропен и примапен также показали низкую токсичность: ЛД₅₀ для белых мышей и белых крыс составила 189768 мг/кг, 196450 мг/кг и 16172-16769 мг/кг соответственно, а при внутрибрюшинном введении – 11000-11248 мг/кг, 12000-12246 мг/кг и 10327-10862 мг/кг соответственно, что по классификации Сидорова К.К. [Н.Ф. Измеров, 1977] соответствует 6 классу опасности.

Многократное подкожное введение виапена и флоропена в течение 21 дня в дозах 1/50, 1/20 и 1/10 ЛД₅₀ и примапена в течение 14 дней в дозах 1/50 и 1/10 ЛД₅₀ негативно не влияло на клиническое состояние подопытных крыс. Не отмечено достоверного различия в привесах крыс, получавших препараты в дозах 1/50, 1/20 ЛД₅₀ по сравнению с контролем. В группе животных, получавших препараты в дозе 1/10 ЛД₅₀, было зарегистрировано снижение привесов, но динамика роста восстанавливалась через 10 дней восстановительного периода. При этом применение препаратов в изученных дозах не оказало статистически достоверного влияния на показатели относительной массы внутренних органов. Патологоанатомическое исследование, проведённое после восстановительного периода, также не выявило изменений во внутренних органах животных подопытных групп.

После длительного введения виапена в дозах 378,0 мг/кг и 946,0 мг/кг, флоропена - 315,0 мг/кг и 788,0 мг/кг, а также примапена - 323,0 мг/кг и 1617,0 мг/кг массы тела, не было зарегистрировано существенных изменений в гематологических и морфологических показателях крови. Результаты биохимических исследований свидетельствуют о том, что препараты не оказывали отрицательного влияния на показатели белкового, липидного, углеводного и минерального обмена, на печень и почки подопытных животных.

В группе, где применяли виапен и флоропен в дозе 1/10 ЛД₅₀, отмечалось увеличение лейкоцитов на 18,9% и 16,8% соответственно, и снижение гемоглобина на 10,4% и 6,4% соответственно. При применении флоропена в

крови крыс возрастало 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, что свидетельствовало о нагрузке на мочевыделительную и гепатобилиарную системы животных. Однако через 10 дней восстановительного периода не было отмечено существенных изменений гематологического и биохимического статуса подопытных крыс. Изменения, вызванные введением виапена в дозе 1892,0 мг/кг и флоропена в дозе 1575,0 мг/кг, имели обратимый характер, так как в течение 10 дней после отмены препарата морфологические и биохимические показатели крови белых крыс восстанавливались до контрольных значений.

При изучении безвредности (переносимости) и субхронической токсичности виапена, флоропена и примапена на сельскохозяйственных животных установлено, что препарат не оказывает негативного влияния на организм коров и свиноматок. При однократном и трёхкратном внутриматочном введении в условно-терапевтической и трёхкратно превышающей дозе (60 г и 180 г на животное) не было выявлено изменений клинического статуса у подопытных животных, морфологический состав крови и основные показатели обмена веществ существенно не отличались от показателей до введения препарата и контрольной группы.

Проведённая серия опытов по изучению раздражающего действия препаратов на кожу и слизистые оболочки, показала, что однократное местное применение виапена, флоропена и примапена не вызывает реакции со стороны слизистой глаз и кожи кроликов.

Oleum ex fructibus et foliis Hippophae – масло из плодов и листьев облепихи содержит смесь каротина и каротиноидов, токоферолов, олеиновой, линолевой, пальмитиновой и стеариновой кислот, хлорофилловых веществ и глицеридов, которые обеспечивают противовоспалительное и ранозаживляющее действие при лечении кольпитов, эндоцервицитов и других поражений слизистых и кожи [В.И. Покрышкин, 1982; М.Д. Машковский, 2012].

Изучение ранозаживляющего действия примапена показало, что введение в его состав облепихового масла способствует полному заживлению ран на 18-20 сутки и протекает интенсивнее в 4,1 раза по сравнению с таковым у животных контрольной группы, а у крыс, которых лечили препаратом без облепихового масла – только в 1,5 раза.

В результате изучения влияния примапена на инфицированные стафилококком полнослойные кожные раны установлено, что скорость заживления у белых крыс опытной группы по сравнению с контрольными и интактными группами была выше в среднем в 2,4 раза. При этом у крыс опытной группы через 7 дней после начала лечения *Staph. aureus* 209P не был выявлен, у животных контрольной группы регистрировался в 62,5%, а у интактных – в 100%.

При изучении алергизирующих свойств виапена, флоропена и примапена в трёх сериях опытов установлено, что препараты не вызывают реакции гиперчувствительности у морских свинок и белых крыс.

В связи с тем, что в литературе встречаются данные об иммунотоксичности флорфеникола [M. Lis et al, 2011; G. Shuang et al, 2001; D. Hu et al, 2016], нами была проведена серия опытов для оценки иммунотоксического действия флоропена. В результате определения индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа и уровня IgG в сыворотке крови мышей в ответ на введение флоропена установлено, что как на фоне применения препарата, так и в контрольных группах, отмечается повышение индекса РГЗТ и стимуляция специфического Ig-ответа. При этом сила и продолжительность иммунного ответа не различается. На основании проведённых опытов можно сделать вывод, что флоропен не обладает иммунотоксическим действием, так как не установлено его негативное влияние на клеточное и гуморальное звено иммунитета.

Задачей изучения тератогенности и эмбриотоксичности лекарственных препаратов является выявление возможного отрицательного действия фармакологического вещества на плод, вызывая различные аномалии развития, уродства и гибель. Отечественные авторы отмечают способность диоксидина активизировать отклонения в развитии и патологии у эмбриона и плода [А.Д.

Дурнев и др., 1998; Г.Н. Никифорова и др., 2015]. Как отмечает ряд исследователей, норфлоксацин в определённых условиях также может проявлять эмбриотоксическое или тератогенное действие [М.А. Cukierski et al, 1989, 1992; M.V. Tselevych, 2008].

По данным ряда зарубежных авторов [N.M. Duignan et al, 1973; K. König et al, 2015; R. Chean et al, 2017; D. Martingano et al, 2017] гентамицин и линкомицин применяются для лечения хориоамнионита и сепсиса при беременности, а также новорождённых. Отечественные учёные считают, что флорфеникол не обладает тератогенным или эмбриотоксическим действием [С.В. Михайлова, 2014; А.В. Хмыров и др., 2014].

В наших исследованиях при подкожном введении виапена, флоропена и примапена белым крысам в дозах 300 мг/кг и 900 мг/кг на 3-6 день, 9-12 день, 16-19 день беременности, не отмечалось изменений в поведении животных или динамике увеличения массы тела. Препараты не оказывали существенного влияния на плодовитость крыс, количество жёлтых тел и мест имплантаций на одну самку практически не отличалось. Не установлено достоверных различий по показателям пред- и постимплантационной гибели. Общая эмбриональная смертность у крыс подопытных групп была несколько ниже, чем в группах контроля. Наружный осмотр плодов под микроскопом не выявил наличия каких-либо аномалий или задержки развития. Размер, вес и физиологическое развитие крысят подопытных и контрольных групп не имели достоверных различий. Следовательно, виапен, флоропен и примапен не обладают эмбриотоксическим и тератогенным действием.

Наличие остатков ветеринарных препаратов в продуктах животноводства может вызывать негативные последствия для здоровья людей. В связи с этим необходимо проведение опытов по определению их остаточных количеств в органах и тканях коров и свиноматок. В доступной литературе содержится мало данных по способности и механизму проникновения активнордействующих веществ в органы и ткани животных при внутриматочном введении препаратов.

Известно, что биодоступность норфлоксацина при пероральном введении составляет 30-40% [Z.N. Adhami et al, 1984]. При повторном применении кумуляции препарата не происходит [C. Edlund et al, 1987]. Благодаря низкой величине связывания с белками крови и высокой растворимости в липидах норфлоксацин имеет большой объем распределения, хорошо проникает в различные органы и ткани [Е.Н. Падейская, 1998; G.E. Stein, 1987].

Норфлоксацин подвергается в печени биотрансформации с образованием 6 метаболитов, часть из которых обладает микробиологической активностью [H.N. Gadebusch et al, 1991]. Метаболиты не определяются в сыворотке крови, в неконъюгированной форме выводятся с мочой, желчью и фекалиями [R.D. Cofsky et al, 1984; G.E. Stein, 1987].

Диоксидин хорошо всасывается из полостей и с раневых поверхностей, хорошо проникает в органы и ткани, в том числе, в ткань мозга. Практически не метаболизируется, не кумулирует, экскретируется в основном почками [Е.Н. Падейская, 1989, 2001].

Молекулы гентамицина являются высокополярными соединениями, в связи с чем, плохо растворяются в липидах и поэтому не проникают в большинство клеток. Связывание с белками плазмы около 10%. Распределяется в основном в плазме крови и во внеклеточной жидкости, кроме ликвора. Однако при воспалении всасывание увеличивается, что может привести к накоплению и возникновению токсической концентрации. Гентамицин хорошо проникает и внутриклеточно накапливается в печени, почках, тканях внутреннего уха, в полиморфно-ядерных лейкоцитах. Практически не подвергается биотрансформации и выводится в неизменённом виде почками, с фекалиями, в небольших концентрациях с желчью и молоком [Л.С. Страчунский и др., 2002; Ю.Б. Белоусов и др., 2005].

Биодоступность флорфеникола у животных после перорального и внутримышечного введения составляет 75-88% [L. Jianzhong et al, 2003]. Флорфеникол легко всасывается из желудочно-кишечного тракта и места инъекции, через 1-4,5 ч в крови создаётся терапевтически активная концентрация,

которая сохраняется от 4 до 48 часов [P.E. Adams et al, 1987; N.A. Afifi et al, 1997; A.M. Abd El-Aty et al, 2004; L.L. Hawkins et al, 2002; A. Cook et al, 2004; V.M. Lane et al, 2004]. Низкий уровень связывания с белками плазмы крови (до 18,6%) обеспечивает хорошее проникновение флорфеникола в жидкости и ткани организма животных, он проходит гематоэнцефалический барьер, плаценту, обнаруживается в молоке [R.D. Lobell et al, 1994; S. Jianzhong et al, 2004]. Флорфеникол подвергается в печени биотрансформации с образованием 4 метаболитов, которые имеют незначительную микробиологическую активность. Выводится из организма в неизменной форме (50%) и в виде метаболитов (50%) преимущественно с мочой и в меньшей степени с фекалиями [J. Shen et al, 2003].

При изучении остаточных количеств на КРС было показано, что наивысшие его концентрации обнаружены спустя 30 дней после лечения в печени и в области инъекции [The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol. Summary report (1)].

При изучении остатков флорфеникола на свиньях, которым его вводили внутримышечно двукратно с интервалом 48 часов в дозе 15,0 мг/кг, установлено, что спустя 9 дней в мышцах концентрация флорфениколамина была ниже пределов обнаружения, а в печени – только через 15 суток. При этом он ещё определялся в почках (145 мкг/кг) и в жире (233 мкг/кг). При оральном введении препарата установлена аналогичная динамика изменения концентрации флорфеникола и флорфениколамина [EMA/MRL/822/02-FINAL. Florfenicol].

Линкомицин широко распределяется в тканях (включая костную) и жидкостях организма, за исключением спинномозговой жидкости, проходит через плаценту и проникает в молоко. Связывание с белками плазмы составляет 70-76%. Выводится в неизменённом виде и в виде метаболитов с желчью, калом, мочой, 85-95% интрацистернальной дозы элиминируется с молоком [Л.С. Страчунский и др., 2001; В.П. Яковлев и др., 2003].

По данным комитета оценки ветеринарных лекарственных средств Европейского Агентства оценки медикаментов линкомицин после внутримышечного или орального введения свиньям регистрируется в печени и

почках, а в мышцах и жире - в следовых количествах в течение 144 часов. После шестикратного внутримышечного введения линкомицина крупному рогатому скоту его концентрация в печени, почках, мышцах, жире и в месте инъекции через 7 суток была менее 100 мкг/кг. После интрацестерального введения в одну четверть вымени лактирующим коровам остатки линкомицина в молоке через 48 часов были ниже 200 мкг/л.

Для определения сроков ожидания по продуктам убоя сельскохозяйственных животных были разработаны методы и определены концентрации антимикробных веществ в пенных аэрозолях после их применения. Как следует из полученных данных, норфлоксацин всасывается в кровь и после последнего внутриматочного введения виапена выделяется с молоком ниже рекомендуемых нормативов через 72 часа. В мышцах у коров и свиноматок фиксируется ниже МДУ через 48 часов, в печени и почках - через 72 часа.

Аналогичная динамика характерна и для диоксидина. Так как для диоксидина в нормативной документации не прописаны максимально допустимые концентрации в продуктах животноводства, установлены сроки ожидания для молока - 5 суток, убой - через 3 суток после последнего введения препарата.

После курса флоропена его компоненты всасываются в кровь свиноматок, где в течение 48-72 часов регистрируются в следовых количествах. При этом суммарная концентрация флорфеникола и флорфениколамин в мышечной ткани, печени и почках через 48 часов после введения флоропена была ниже МДУ в 6, 12 и 2 раза соответственно. Концентрация линкомицина гидрохлорида в мышечной ткани, печени и почках через 48 часов была ниже рекомендуемых нормативов в 2, 10 и 3 раза соответственно. Таким образом, период ожидания после последнего применения флоропена составляет 2 суток.

После курсового введения примапена гентамицин всасывается в кровь и регистрируется ниже рекомендуемых нормативов в молоке - через 72 часа, в мышцах через 24 ч., а через 48 ч. в печени коров и свиноматок отмечается ниже МДУ в 2 раза, в почках - в 4-5 раз. Аналогичная динамика изменения

концентрации в организме животных установлена для диоксидина. Он всасывается в кровь и определяется в молоке, мышцах, печени и почках через 72 часа в следовых количествах. Таким образом, установлены сроки ожидания для молока - 5 суток, убой - через 3 суток после последнего введения примапена.

При изучении оптимальной схемы применения виапена, флоропена и примапена на коровах и свиноматках было установлено, что препараты наиболее эффективны в дозе 60 г/животное с 24-часовым интервалом между введениями. Результаты были подтверждены микробиологическим исследованием маточного содержимого (после лечения патогенной и условно-патогенной микрофлоры не было выявлено).

В производственных опытах при комплексном лечении острого послеродового эндометрита у коров применение в качестве этиотропного средства виапена, флоропена и примапена обеспечило выздоровление от 90% до 92% животных, что превышало эффективность препаратов сравнения (энроцид и йодопен) в среднем на 21,6%. При этом оплодотворяемость переболевших коров увеличилась, а период от отёла до оплодотворения и коэффициент оплодотворения сократился.

Виапен, флоропен и примапен показали высокую терапевтическую эффективность при лечении гнойно-катарального эндометрита и ММА у свиноматок: трёхкратное внутриматочное введение свиноматкам обеспечило выздоровление 94,1-98,3% соответственно, что превышало эффективность препарата сравнения (энроцида).

Высокая эффективность виапена, флоропена и примапена при лечении коров с острым послеродовым эндометритом и свиноматок с гнойно-катаральным эндометритом и ММА подтверждена также результатами микробиологических исследований маточного содержимого.

В связи с тем, что разработанные препараты обладают высокой антимикробной активностью, устранение этиологического фактора способствовало нормализации гематологических и биохимических показателей. В целом отмечалось увеличение уровня эритроцитов и гемоглобина, концентрации

общего белка, витаминов, макро- и микроэлементов, снижение содержания лейкоцитов, мочевины, креатинина, активности щелочной фосфатазы, аланин- и аспаргатаминотрансфераз, что также свидетельствует о снижении явлений интоксикации и восстановлении гомеостаза организма животных.

Проведённые исследования показали высокую эффективность применения виапена, флоропена и примапена для профилактики острого послеродового эндометрита у коров и послеродового эндометрита и ММА у свиноматок.

Препараты в форме пенного аэрозоля перед применением подогревают при температуре $45\pm 5^{\circ}\text{C}$ и интенсивно встряхивают. Нажимая на распылительную головку, вводят лекарственный препарат в полость матки с помощью катетера для искусственного осеменения, закрепленного на носике головки, по 60 г (1 доза) на животное один раз в сутки, с лечебной целью - в течение 1-4 дней, а с профилактической целью - после родов однократно.

Синергический характер антибактериального действия, механическое очищение слизистой матки, а также регенеративные свойства разработанных препаратов в форме пенного аэрозоля, обеспечивают высокий профилактический и терапевтический эффект, быстрое выздоровление, снижение расхода активнордействующих веществ и их побочного действия на организм животных.

Таким образом, впервые на основе комплекса проведённых исследований теоретически и экспериментально обоснована разработка 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 комплексных антимикробных препаратов в форме пенного аэрозоля при лечении и профилактике воспалительных процессов в матке у коров и свиноматок.

6 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 норфлоксацина 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 диоксидина 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 Российской Федерации 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 профилактирует 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, диоксидина, 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.

7 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.

8 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.

9 СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Alb	Альбумины
ALP	Щелочная фосфатаза (ЩФ)
ALT	Аланинаминотрансфераза (АлАТ)
API	Связанный с белком йод
AST	Аспартатаминотрансфераза (АсАТ)
BAND	Сегментоядерные нейтрофилы
BAS	Базофилы
Ca	Кальций
Cardis	Сердце
Chol	Холестерол
Creat	Креатинин
Cu	Медь
EOS	Эозинофилы
ESR	СОЭ (скорость оседания эритроцитов)
Fe	Железо
g/L	Грамм/литр
GGT	Глутамиламинотрансфераза (ГГТ, γ -ГТ)
Glu	Глюкоза
HCT	Гематокрит
Hepar	Печень
HGB	Гемоглобин
IgG	Иммуноглобулин G
LD _{10, 16, 50, 84, 90, 100}	Летальная доза
Lien	Селезёнка
LYM	Лимфоциты
Mg	Магний
mM/L	Милимоль/литр
Mn	Марганец

MON	Моноциты
nM/L	Наномоль/литр
P	Фосфор
Pulmo	Легкие
RBC	Эритроциты
Renes	Почки
SEGS	Палочкоядерные нейтрофилы
Suprarenalis	Надпочечники
T.bil.	Общий билирубин
TG	Триглицериды
Thymus	Тимус
TL	Общие липиды
TP	Общий белок
U/L	Единицы/литр
Urea	Мочевина
Vit. A	Витамин А
Vit. E	Витамин Е
WBC	Лейкоциты
Zn	Цинк
α -Glob	Альфа-глобулины
β -Glob	Бета-глобулины
γ -Glob	Гамма-глобулины
μ M/L	Микромоль/литр
BCA	Бычий сывороточный альбумин
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ДМСО	Диметилсульфоксид
Ед.опт.пл.	Единицы оптической плотности
ЛД _{10, 16, 50, 84, 90, 100}	Летальная доза
МБсК	Минимальная бактериостатическая концентрация
МБцК	Минимальная бактерицидная концентрация

МДУ	Максимально допустимый уровень
ММА	Метрит-мастит-агалактия
МПА	Мясо-пептонный агар
МПБ	Мясо-пептонный бульон
МПГ	Монопропиленгликоль
МПД	Максимально переносимая доза
НТДК	Реакция непрямой дегрануляции тучных клеток
ПДТК	Показатель дегрануляции тучных клеток
РГЗТ	Реакция гиперчувствительности замедленного типа
ФФА	Флорфениколамин

10 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаев, Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю.К. Абаев. - Ростов н/Д: Феникс, 2006. - 427 с.
2. Абрамов, С.С. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров в разные физиологические периоды с биохимическими изменениями, характеризующими полиморбидную патологию / С.С. Абрамов, Е.В. Горидовец // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины». – 2011. – т. 47. - № 1. – С. 141-143.
3. Агринская, Е.П. Применение препарата Эндометрамаг-Био® для профилактики и лечения эндометрита коров / Е.П. Агринская // Проблемы биологии продуктивных животных. - 2011. - № 4. - С. 12-14.
4. Акулинич, О.Л. Профилактика акушерской патологии и нарушений обмена веществ у коров в условиях промышленного комплексов / О.Л. Акулинич, Д.С. Ятусевич // Учёные записки УО «Витебская ордена «Знак почёта» государственная академия ветеринарной медицины». - 2014. – т. 50. – № 2-1. – С. 118-120.
5. Алексеев, К.В. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения редкосшитых акриловых полимеров в технологии мягких лекарственных форм (мазей и гелей) и биопрепаратов : автореф. ... докт. фарм. наук : 15.00.01. / Константин Викторович Алексеев. – М., 1993. – 59 с.
6. Антибактериальные лекарственные средства. Методы стандартизации препаратов / под общ. ред. Хабриева Р.У. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2004. – 944 с.
7. Антипова, А.А. Влияние температуры сушки и состава поливинилспиртовых пленок, содержащих трипсин и триблок-сополимер полиэтиленоксида и полипропиленоксида, на их структуру и свойства / А.А. Антипова, Т.Н. Юданова, М.А. Питомцева, А.А. Серцова // Химическая технология. - 2010. - Т. 11. - № 10. - С. 615-620.

8. Баймишев, М.Х. Применение препарата Метролек-О для коррекции патологии репродуктивной функции молочных коров / М.Х. Баймишев, Х.Б. Баймишев, И.В. Мешков, О.Н. Пристяжнюк // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. - 2016. - Т. 1. - № 2. - С. 57-60.
9. Башура, Г.С. Фармацевтические аэрозоли / Г.С. Башура, П.П. Неугодов, Я.И. Хаджай, Л.С. Теллерман. – М.: Медицина, 1978. – 272 с.
10. Безуглая, Е.П. Методологический подход к фармацевтической разработке лекарственных препаратов и его стандартизация / Е.П. Безуглая, Н.А. Ляпунов, В.А. Бовтенко // Промышленное обозрение. – декабрь, 2008. - № 6 (11). – С. 36-42.
11. Беликов, В.Г. Фармацевтическая химия / В.Г. Беликов. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 624 с.
12. Белоусов, Ю.Б. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств: Спец. выпуск серии «Рациональная фармакотерапия» / Ю.Б. Белоусов, К.Г. Гуревич. - М.: Литтерра, 2005. - 288 с.
13. Белоусов, Ю.Б., Беленков Ю.Н., Баранов А.А. Рациональная фармакотерапия в гинекологии / Ю.Б. Белоусов, Ю.Н. Беленков, А.А. Баранов. - М.: Литтерра, 2010. - 760 с.
14. Бодык, К.И. Эффективность лечения больных эндометритами коров препаратом «Окситетрапен» / К.И. Бодык, А.А. Быков, Я.П. Яромчик // Молодёжь – науке и практике АПК: материалы 101-й Междунар. научн.-практ. конф. студентов и магистрантов. – Витебск, 26-27 мая 2016. – Витебск, ВГАВМ, 2016. – С. 10-11.
15. Большаков, В.Н. Вспомогательные вещества в технологии лекарственных форм / В.Н. Большаков. - Ленинград, 1991. - 48 с.
16. Большаков, Л.В. Динамика чувствительности клинических штаммов бактерий к диоксидину с 1984 по 1988 год / Л.В. Большаков // Антибиотики и химиотерапия. - 1990. - № 9. - С. 17-19.

17. Бородыня, В.И. Эффективность препаратов гинобиотик и утракур в профилактике послеродовой патологии коров / В.И. Бородыня, Л.В. Лозова // Достижения вузовской науки. – 2014. - № 10. – С. 8-12.
18. Бригадиров, Ю.Н. Эффективность пробиотического препарата гипролам для коррекции микробного пейзажа половых путей свиноматок / Бригадиров Ю.Н., Коцарев В.Н., Шапошников И.Т., Манжурина О.А., Лобанов А.Э., Лихачева И.Л. // Ветеринария. - 2017. - № 4. - С. 43-46.
19. Быков, В.А. Фармацевтическая технология: руководство к лабораторным занятиям: учеб пособие / В.А. Быков, Н.Б. Демина, С.А. Скатков, М.Н. Анурова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 304 с.
20. Бюлер, Ф. Поливинилпирролидон для фармацевтической промышленности / Ф. Бюлер. – М., 2001. - 46 с.
21. Вагина, А.А. Эффективность препарата «Эндометраг-К» для лечения острого эндометрита и для профилактики бесплодия у коров / А.А. Вагина // Вестник Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова. - 2016. - № 17. - С. 25-27.
22. Векслер, С. А. Лечение маститов трициллином / С. А. Векслер, С.Н. Александров, Н.К. Оксамитный // Профилактика незаразных болезней у коров Киев, 1988. - С. 148-149.
23. Войтенко, Л.Г. Ежедневный моцион как способ профилактики послеродового эндометрита у коров / Л.Г. Войтенко, В.Я. Никитин // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2011. - №-2-1. – С. 180-182.
24. Войтенко, Л.Г. Комплексное лечение коров при послеродовом эндометрите с применением лазера и цефаметрина / Л.Г. Войтенко // Международный вестник ветеринарии. – 2011. - № 3. – С. 25-27.
25. Воробьева, В.М. Методологические основы разработки лекарственных препаратов на основе полимеров / В.М. Воробьева, В.Ф. Турецкова // Фундаментальные исследования. - 2004. - № 2. - С. 45-46.

26. Воронина, И.А. Влияние вспомогательных веществ и растворителей на токсичность препаратов на основе флорфеникола / И.А. Воронина, А.В. Гараничева, А.Е. Оборин, А.В. Гариков, В.Л. Лиэпа, М.Н. Хайретидинова // Ветеринария. - 2012. - № 1. – С. 52-54.

27. Воскобойникова, И.В. Применение супердезинтегрантов в твердых дозированных формах / И.В. Воскобойникова, С.Б. Авакян, Т.А. Сокольская, И.И. Тюляев, В.Л. Багирова, В.К. Колхир, Г.С. Сапович // Фармация. - 2005. - №2. - С. 35-37.

28. Высокогорский, В.Е. Состояние системы глутатиона крови коров при эндометрите / В.Е. Высокогорский, Н.А. Погорелова, О.С. Епанчинцева, Н.В. Стрельчик / Фундаментальные исследования. - 2015. - № 2 (22). – С. 4905-4908.

29. Гавриков, А.В. Особенности антимикробного действия Эндометрамага-Био® при эндометрите коров / А.В. Гавриков, А.В. Гараничева, И.А. Воронина, А.Е. Оборин, М.М. Вустин, В.Л. Лиэпа // Ветеринария. - 2012. - № 2. - С. 14-17.

30. Гавриш, В.Г. Коррекция эндокринного статуса у коров при послеродовой патологии / В.Г. Гавриш, А.В. Егунова // Аграрный научный журнал. – 2009. - № 8.- С. 5-8.

31. Гарбузов, А.А. Биогенные стимуляторы при послеродовых эндометритах у коров / А.А. Гарбузов // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск. – 2005. – т. 41. - № 2-3. – С. 11-12.

32. Глущенко, Н.Н. Фармацевтическая химия: Учебник для студ. сред. проф. учеб. заведений / Н.Н. Глущенко, Т.В. Плетенева, В.А. Попков; под ред. Т.В. Плетеневой. - М.: Издательский центр «Академия», 2004. - 384 с.

33. Годовальников, Г. Современное лекарствоведение / Годовальников Г. – Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. – 520 с.

34. Головенко, Н.Я. Физико-химическая фармакология / Н.Я. Головенко. – Одесса, Астропринт, 2004. – 720 с.

35. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. - Введен 01.01.1977. - М.: Стандартиформ, 2007. – 4 с.
36. ГОСТ Р 52249-2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. - Введен 01.01.2010. - М.: Стандартиформ, 2010. – 132 с.
37. Государственная Фармакопея Российской Федерации. - XII изд. - Ч. 1. - М., 2007. - 696 с.
38. Государственная Фармакопея Российской Федерации. - XIII изд. - Т. 1. - М., 2015. - 1470 с.
39. Государственная Фармакопея Российской Федерации. - XIII изд. - Т. 2. - М., 2015. - 1004 с.
40. Государственная Фармакопея СССР. - 11 изд. - Вып. 1. - М., 1987. – 334 с.
41. Государственная Фармакопея СССР. - 11 изд. - Вып. 2. - М., 1987. – 398 с.
42. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание: в 2 т.- М.: Медицинский совет, 2009. - Т. 2, ч. 1. - 568 с.
43. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание: в 2 т.- М.: Медицинский совет, 2009. - Т. 2, ч. 2. - 560 с.
44. Гречухин, А.Н. Влияние синдрома метрит-мастит-агалактия у свиноматок на сохранность поросят-сосунов / А.Н. Гречухин // Ветеринария. - 2010. - № 7. - С. 11-13.
45. Гридяев, Е.Л. Роль микробного фактора и резистентности у свиней в этиологии послеродовых болезней и средства их профилактики: автореф. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Евгений Львович Гридяев - Воронеж, 1987. - 21 с.
46. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2003. – 154 с.
47. Давыдова, А.В. Изучение влияния вспомогательных веществ на высвобождение активного компонента в мягкой лекарственной формы / Давыдова

А.В., Джавахян М.А. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2014. - № 12. - С. 37-38.

48. Долгова, Г.В. Ранозаживляющее действие эндометромага-Т при эндометритах у коров / Г.В. Долгова, Т.П. Свиногеева, Т.Я. Померанцева, В.В. Воронкова, В.П. Шуклин, В.Е. Абрамов // Ветеринария. – 2008. - № 9. – С. 21-23.

49. Донник, И.М. Применение динамической электронной стимуляции по точкам акупунктуры при акушерско-гинекологических заболеваниях коров: научно-методические рекомендации / И.М. Донник, М.В. Ряпосова, О.В. Соколова, И.А. Шкуратова. - Екатеринбург, 2009. - 25 с.

50. Дурнев, А.Д. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий) / А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин. - М., 1998. - 328 с.

51. Дьяченко, С.В. Методологические аспекты сдерживания резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / С.В. Дьяченко, Е.А. Мятлик, К.П. Топалов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2007. - № 4. – С. 26-29.

52. Епанчинцева, О.С. Микробный пейзаж содержимого матки и секрета молочной железы коров при послеродовой патологии / О.С. Епанчинцева, С.О. Семеруненко // Вестник ветеринарии. - 2012. - № 4 (63). - С. 42-44.

53. Епанчинцева, О.С. Патоморфологические изменения в матке коров при послеродовом гнойном эндометрите / О.С. Епанчинцева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. - № 214. – С. 178-182.

54. Епанчинцева, О.С. Профилактика и терапия послеродового эндометрита у коров / О.С. Епанчинцева, К.И. Грибкова // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2013. - № 1 (30). – С. 11-15.

55. Епанчинцева, О.С. Состояние воспроизводства крупного рогатого скота в Омской области / О.С. Епанчинцева, В.Я. Никитин, В.И. Трухачев // Вестник АПК Ставрополя. – 2013. - № 4 (12). – С. 43-46.

56. Жерносенко, А.А. Усовершенствованный способ лечения послеродового эндометрита у коров / А.А. Жерносенко, О.С. Епанчинцева, К.И. Петров // Ветеринарный врач. - 2016. - № 6. - С. 48-53.
57. Зефирова, О.Н. Медицинская химия (Medicinal chemistry). II. Методологические основы создания лекарственных препаратов / О.Н. Зефирова, Н.С. Зефирова // Вестник Московского университета. - Сер. 2. Химия. - 2000. - Т. 41. - № 2. - С. 103-108.
58. Зигунов, В.В. Послеродовой эндометрит свиноматок, обусловленный *Arcanobacterium pyogenes* : дисс. ... канд. вет. наук : 16.00.03, 16.00.02 / Владимир Владимирович Зигунов. - Омск, 2003. – 164 с.
59. Зимон, А.Д. Коллоидная химия / А.Д. Зимон, Н.Ф. Лещенко. – М.: АГАР, 2001. – 320 с.
60. Зубарев, В.Н. Современный подход к лечению коров при эндометрите / В.Н. Зубарев, И.Ю. Панков, А.В. Егунова // Ветеринария. – 2013. - № 7. – С. 36-38.
61. Зубова, Т.В. Применение физиотерапевтических приборов в комплексном лечении эндометритов у коров / Т.В. Зубова // Вестник Кемеровского государственного сельскохозяйственного института. - 2016. - № 6. - С. 233-236.
62. Ибрагимова, Ш.А. Клиническая оценка препарата Эндометрамаг-Т при послеродовом эндометрите высокопродуктивных коров / Ш.А. Ибрагимова, М.Н. Насибов, С.В. Советкин, В.С. Авдеенко // Ветеринарная патология. - 2008. - № 3. - С. 101-103.
63. Иванова, Е.А. Микробный пейзаж матки у коров голштино-фризской породы при остром послеродовом гнойно-катаральном эндометрите / Е.А. Иванова, О.С. Епанчинцева, А.А. Жерносенко, Н.А. Лещёва, В.И. Плешакова, К.И. Петров // Омский научный вестник. – 2015. - № 144. – С. 211-214.
64. Измеров, Н.Ф. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: Справочник / Н.Ф. Измеров, И.В. Саноцкий, К.К. Сидоров. - М., 1977. - 240 с.

65. Иноземцев, В.П. Квантовая терапия коров при воспалительных заболеваниях матки и молочной железы / дисс. ... докт. вет. наук : 16.00.07 / Валерий Павлович Иноземцев. – Воронеж, 1999. – 375 с.

66. Камаева, С.С. Разработка состава лекарственных плёнок с хлоргексидина биглюконатом для применения в гинекологии / С.С. Камаева, Л.А. Поцелуева, Р.С. Сафиуллин, Е.В. Егорова // Фармация. - 2007. - № 2. – С. 20-22.

67. Климова, Е.И. Влияние пропиленгликоля на высвобождение полифенольных соединений из гелей сабельника болотного / Е.И. Климова, Н.Б. Демина, В.Ф. Охотникова, О.Л. Сайбель // Фармация. – 2008. - № 8. – С. 30-31.

68. Клиническая фармакология / под ред. Кукеса В.Г. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 944 с.

69. Ключников, А.Г. Йодсодержащие вещества при метрит-мастит-агалактии у свиноматок / А.Г. Ключников, А.В. Егунова // Ветеринария. – 2008. – № 1. – С. 31-32.

70. Коба, И.С. Распространение острых и хронических эндометритов у коров в сельскохозяйственных организациях Краснодарского края / И.С. Коба, М.Б. Решетка, М.С. Дубовикова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. - № 2 (136). – С. 103-106.

71. Коба, И.С. Совершенствование фармакотерапии острого послеродового эндометрита у коров : дисс. ... канд. вет. наук : 16.00.07, 16.00.04 / Игорь Сергеевич Коба. – Краснодар, 2003. – 147 с.

72. Коба, И.С. Усовершенствование комплексной фармакотерапии острого послеродового эндометрита бактериально-микозной этиологии у коров: дисс. ... докт. вет. наук: 16.00.07, 16.00.04 / Игорь Сергеевич Коба. – Краснодар, 2009. – 343 с.

73. Коба, И.С. Этиология и патогенез послеродового эндометрита у коров / И.С. Коба, М.Б. Решетка, М.С. Дубовикова // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. - № 4 (20). – С. 95-98.

74. Комментарий к Руководству Европейского Союза по надлежащей практике производства лекарственных средств для человека и применения в

ветеринарии / под ред. С.Н. Быковского, И.А. Василенко, С.В. Масимова. – М.: Изд-во «Перо», 2014. – 488 с.

75. Конопельцев, И.Г. Инновационные подходы при заболеваниях матки и молочной железы у высокопродуктивных коров / И.Г. Конопельцев, А.Ф. Сапожников, Л.В. Бледных, Е.В. Видякина // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». – т. 47. - № 2-2. – 2001. – С. 68-72.

76. Конопельцев, И.Г. Озонотерапия и озонпрофилактика воспалительных заболеваний и функциональных расстройств матки у коров : дисс. ... док. вет. наук : 06.02.06 / Игорь Геннадьевич Конопельцев. – Воронеж, 2004. – 361 с.

77. Конопельцев, И.Г. Перекисное окисление липидов в норме, при эндометрите и мастите у высокопродуктивных коров / И.Г. Конопельцев, В.В. Меркушева // Теоретические и практические вопросы ветеринарной медицины: сб. статей Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения док. вет. наук, проф. Лыжиной В.А. – Вятская ГСХА, 2007. – С. 70-72.

78. Конопельцев, И.Г. Результаты микробиологических исследований экссудата матки при ее воспалении у коров / И.Г. Конопельцев, Е.И. Маракулина // Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных: мат. Международной научно-практ. конф. – Киров: Вятская ГСХА, 2005. – С. 68-69.

79. Копчекчи, М.Е. Эффективность фитопунктуры при акушерско-гинекологической патологии у коров / М.Е. Копчекчи, В.Г. Гавриш // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2009. - № 4. – С. 64-65.

80. Косинцева, Е.А. Взаимосвязь бактериальной обсеменённости половых путей высокопродуктивных стельных коров с заболеваемостью неонатальными диареями новорожденных телят : дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.01 / Елена Александровна Косинцева. – Екатеринбург, 2015. – 132 с.

81. Коцарев, В.Н. Гепатотропные препараты для коррекции репродуктивной функции свиноматок / В.Н. Коцарев, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов // Ветеринария. – 2008. - № 5. – С. 31-36.

82. Коцарев, В.Н. Деполен для профилактики метрит-мастит-агалактия у свиноматок / В.Н. Коцарев, В.Д. Мисайлов, В.С. Бузлама // Ветеринария. – 2005. - № 1. – С. 39-42.

83. Коцарев, В.Н. К вопросу этиологии, диагностики, профилактики и терапии послеродовых гнойно-воспалительных заболеваний половых органов у свиноматок / В.Н. Коцарев, Н.И. Шумский, А.Г. Нежданов, В.Ю. Боев // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. - 2013. - № 4. - С. 225-229.

84. Краснюк, И.И. Фармацевтическая технология: Технология лекарственных форм / И.И. Краснюк, Г.В. Михайлова, Е.Т. Чижова; под ред. И.И. Красюка и Г.В. Михайловой. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 464 с.

85. Кротов, Л.Н. Комбинированное лечение катарально-гнойных эндометритов у коров / Л.Н. Кротов // Международный вестник ветеринарии. – 2011. - № 2. – С. 32-34.

86. Кротов, Л.Н. Комплексная терапия коров при гнойно-катаральных эндометритах / Л.Н. Кротов // Ветеринария. – 2012. - № 2. – С. 44-45. Кругляков, П.М. Пена и пенные плёнки / П.М. Кругляков, Д.Р. Ексерова. - М.: Химия, 1990. - 432 с.

87. Кузин, М.И. Хирургические болезни: Учебник / М.И. Кузин, О.С. Шкроб, Н.М. Кузин и др.; под ред. М.И. Кузина. - М.: Медицина, 2002. - 784 с.

88. Кузьменко И.Е. Пропелленты для аэрозольных упаковок / И.Е. Кузьменко, Д.А. Лейнасаре. - Л.: «Химия», 1970. – 208 с.

89. Кузьминова Е.В. Использование новых мазевых основ при лечении ран в эксперименте // Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, А.Н. Трошин, А.В. Тарасов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. - № 2. – С. 137-139.

90. Кузьмич, Р.Г. Основные этиологические факторы акушерской и гинекологической патологии у коров / Р.Г. Кузьмич // Ветеринарная наука - производству. - 2005. - № 38. - С. 309-311.
91. Кулаков, В.И. Гинекология. Национальное руководство / В.И. Кулаков, Г.М. Савельева, И.Б. Манухин. – М.: Гэотар-медиа, 2009. – 1088 с.
92. Кусова, Р.Д. Разработка геля и эмульсионной мази с маслом лоха / Р.Д. Кусова // Фармация. – 2006. - № 6. – С. 30-32.
93. Ланчини, Д. Антибиотики / Д. Ланчини, Ф. Паренти. – М.: Мир, 1985. – 272 с.
94. Лапина, Т.И. Изучение структуры слизистой оболочки матки при субклиническом и клиническом эндометрите коров в сравнительном аспекте / Т.И. Лапина, Л.Г. Войтенко, И.А. Головань, А.А. Пирожникова, Д.В. Шилин, О.С. Войтенко // Аграрный научный журнал. – 2015. - № 5. – С. 14-16.
95. Лекарственные средства в аэрозольной упаковке / Г.П. Грядунова, В.Я. Лебедеико, Г.С. Башура; под ред. А.И. Теньцовой. - МИ им. И.М. Сеченова, 1980. - 33 с.
96. Лобова, П.С. Чувствительность полевых изолятов стафилококков к антибиотикам / П.С. Лобова, А.В. Морозова, В.Е. Абрамов, А.Ю. Гуляева, Н.И. Тягнибедина, Б.В. Виолин // Аграрная наука. - 2009. - № 11. - С. 26-28.
97. Логвинов, Д.Д. Лечение послеродовых эндометритов у коров / Д.Д. Логвинов, В.С. Гонтаренко // Ветеринария. – 1971. – № 1. – С. 92-94.
98. Логинова, Н.В., Полозов Г.И. Введение в фармацевтическую химию. - Электрон. текст. дан. - Мн.: «Электронная книга БГУ», 2004. - Режим доступа: <http://anubis.bsu.by/publications/elresources/Chemistry/Loginova.pdf> .
99. Ляпунов, Н.А. Методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, В.А. Бовтенко // Фармацевтическая промышленность. - 2009. - №1. - С. 40-49.
100. Ляпунов, Н.А. Микробиологическое изучение назального спрея, содержащего консервант пропиленгликоль / Н.А. Ляпунов, А.И. Бардаков, Э.А.

Бариев, Е.П. Безуглая, Е.В. Дунай, Е.Г. Жемерова // Фармация. - 2014. - № 8. - С. 16-19.

101. Ляпунов, Н.А. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая // Фармацевтическая отрасль. – февраль, 2013. – № 1 (36). – С. 79-86.

102. Ляпунов, Н.А. Технологические и биофармацевтические основы создания пенных препаратов в аэрозольной упаковке антибактериального и противовоспалительного действия: дисс. ... док. фармац. наук / Николай Александрович Ляпунов. – Х., 1989. – 482 с.

103. Ляпунова, О.А. Разработка технологии пенных препаратов в аэрозольной упаковке для применения в проктологии: автореф. ... канд. фармац. наук / Оксана Алексеевна Ляпунова. – Х., 1986. – 24 с.

104. Ляшенко, Н.Ю. Применение препаратов «Эндометраг-Био» и «Биометросанит®» для терапии острого послеродового эндометрита / Н.Ю. Ляшенко, В.С. Авдеенко, А.В. Молчанов, Т.Н. Родионова // АПК России. - 2016. - Т. 23. - № 2. - С. 441-446.

105. Малыгина, Н.А. Профилактика и лечение гнойно-катарального эндометрита у коров / Н.А. Малыгина, А.В. Булаева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2017. - № 1 (147). - С. 116-120.

106. Мартынова, А.В. Фармако-токсикологическое обоснование применения диоксидина в животноводстве и ветеринарии: дисс. ... канд. биол. наук : 16.00.04 / Алла Витальевна Мартынова. - Воронеж, 1999. - 166 с.

107. Марченко, Л.Г. Технология мягких лекарственных форм / Л.Г. Марченко, А.В. Русак, И.Е. Смехова; под ред. Л.Г. Марченко. - СПб.: СпецЛит, 2004. - 172 с.

108. Масьянов, Ю.Н. Гуморальный иммунитет и морфологические изменения при эндометрите у коров / Ю.Н. Масьянов, В.И. Михалёв, И.Т. Шапошников, И.С. Толкачёв, А.А. Щербаков // Ветеринарный врач. – 2011. - № 6. – С. 41-43.

109. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. - 16-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: Новая волна, 2012.- 1216 с.
110. Международная фармакопея. Общие методы анализа. - Т. 1. - Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1981. - 242 с.
111. Международная фармакопея. Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов. - Т. 3. - Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1981. - 435 с.
112. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
113. Мизина, П.Г. Фитопленки в фармации и медицине / П.Г. Мизина // Фармация. – 2000. – № 5-6. – С. 38-39.
114. Мисайлов, В.Д. Агалактия свиноматок – одна из причин высокой заболеваемости и гибели поросят / В.Д. Мисайлов // Ветеринарная патология. – 2003. - № 3. – С. 12-13.
115. Мисайлов, В.Д. Первичная слабость родов, мертворождаемость поросят и послеродовые болезни свиноматок / В.Д. Мисайлов, В.Н. Коцарев // Свиноводство. - 2005. - № 4. - С. 22-26.
116. Мисайлов, В.Д. Роль половых стероидов и окситоцина в регуляции сократительной функции матки и разработка способов терапии и профилактики и некоторых акушерских болезней у коров и свиней : автореф. ... док. вет. наук : 16.00.07 / Владимир Дмитриевич Мисайлов. - Воронеж, 1990. – 52 с.
117. Мисайлов, В.Д. Этиологические и патогенетические аспекты патологии родов и послеродового периода у свиней и коров / В.Д. Мисайлов, А.Г. Шахов, В.Н. Коцарев, А.В. Сотников, Н.И. Шумский // Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях. – Воронеж, 2001. - С. 85-105.
118. Михайлова, Н.Н. Изотоничность и изогидричность глазных капель промышленного производства / Н.Н. Михайлова // Фармация. - 2007. - № 7. - С. 33-35.

119. Михайлова, С.В. Фармако-токсикологические параметры комплексного антибактериального препарата фенитил и его эффективность при эшерихиозе поросят : автореф. ... канд. вет. наук : 06.02.03 / Светлана Владимировна Михайлова. – Воронеж, 2013. – 21 с.

120. Михалёв, В.И. Гнойно-воспалительные заболевания матки у коров и оптимизация методов их лечения / Михалёв В.И., Нежданов А.Г., Шапошников И.Т., Ерин Д.А., Скориков В.Н., Филин В.В., Чупрын С.В. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 3. - С. 116-120.

121. Михалёв, В.И. Послеродовая субинволюция матки у коров, её функциональное состояние и разработка эффективных методов терапии и профилактики: дисс. ... док. вет. наук: 16.00.07, 16.00.02 / Виталий Иванович Михалёв. – Воронеж, 2007. – 335 с.

122. Михалёв, В.И. Терапевтическая эффективность нородина при остром послеродовом эндометрите коров / В.И. Михалёв, В.И. Беляев, А.Н. Гнётов // Аграрный вестник Урала. – 2008. - № 6. – С. 62-63.

123. Михалёв, В.И. Принципы рациональной фармакотерапии послеродовых заболеваний у коров / В.И. Михалёв // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Мат. Международ. научно-практ. конф., посвященной 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров. 18-19 октября 2012, г. Воронеж. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2012. – С. 328-332.

124. Михалёв, В.И. Рациональные подходы для сохранения здоровья высокопродуктивных молочных коров / В.И. Михалёв, И.С. Толкачёв, Н.В. Филатов // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции: матер. I Междунар. конф. по ветеринарно-санитарной экспертизе. – Воронеж, 26-27 ноября 2015 г. – ВГАУ, 2015. – С. 147-150.

125. Михеева, Н.С. Крем как рациональная лекарственная форма / Н.С. Михеева, В.Ф. Охотникова, В.В. Бортникова, Т.А. Сокольская // Вопросы

биологической, медицинской и фармацевтической химии. - № 12. - 2014. - С. 14-20.

126. Мосин, В.В. Новокаиновая терапия при акушерских и гинекологических болезнях / В.В. Мосин, А.М. Миняев, П.В. Веселов // Ветеринария. – 1973. - № 5. – С. 87-90.

127. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора минздрава России. – 2004. – 91 с.

128. Навашин, С.М. Рациональная антибиотикотерапия (справочник) / С.М. Навашин, И.П. Фомина. – М.: Медицина, 1982. – 496 с.

129. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К.: МОРИОН, 2001. – 472 с.

130. Насибов, Ф.Н. Эндометральные нарушения у коров и их нормализация препаратом Эндотил-форте / Ф.Н. Насибов, А.В. Панкратова, А.С. Самохин, Б.Т. Хетагурова, Г.Ю. Косовский, С.Н. Хилькевич, Д.А. Белоконева // Сельскохозяйственная биология. - 2012. - № 2. - С. 60-63.

131. Нежданов, А.Г. Болезни органов размножения у коров и проблемы их диагностики, терапии и профилактики / А.Г. Нежданов, В.Д. Мисайлов, А.Г. Шахов // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных материалы международной научно-практической конференции посвященной 35-летию организации Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии. - 2005. - С. 8-11.

132. Нежданов, А.Г. Квантовая терапия коров при метритах и маститах / А.Г. Нежданов, В.П. Иноземцев, И.И. Балков // Ветеринария. – 2000. - № 10. – С. 9-12.

133. Нежданов, А.Г. Поведенческие реакции беременных коров как биологические маркеры потенциала молочно продуктивности и риска развития акушерской патологии / А.Г. Нежданов, Е.В. Смирнова, Н.Т. Климов, В.И.

Михалёв, К.А. Лободин // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2015. - № 4 (47). – С. 49-54.

134. Нежданов, А.Г. Послеродовой метрит у молочных коров / А.Г. Нежданов, С.В. Шабунин, В.И. Михалёв, В.В. Филин, В.Н. Скориков // Ветеринария. – 2016. - № 8 . – С. 3-10.

135. Нежданов, А.Г. Послеродовые гнойно-воспалительные заболевания матки у коров / А.Г. Нежданов, А.Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2005. - № 3. – С. 61-64.

136. Нежданов, А.Г. Эволюция принципов и оптимизация методов терапии коров при гнойно-воспалительных заболеваниях половых органов / А.Г. Нежданов, С.В. Шабунин // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённая 100-летию со дня рождения профессора В.А. Акатова. 27-29 мая 2009 года, г. Воронеж. - Воронеж: изд-во «Истоки», 2009. – С. 9-13.

137. Никифорова, Г.Н. Возможности местной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов / Г.Н. Никифорова, В.М. Свистушкин, М.Г. Дедова // Русский медицинский журнал. Актуальная проблема. - № 6. - 2015. - С. 346-349.

138. Николаев, С.В. Состав микроорганизмов и их чувствительность к антимикробным средствам при остром воспалении матки у коров-первотёлок / С.В. Николаев, И.Г. Конопельцев // Современные научно-практические достижения в ветеринарии: сборник статей Международной научно-практической конференции. – Киров: Вятская ГСХА, 2016. – С. 34-39.

139. Новикова, Е.Н. Новый пробиотический препарат «Гипролам» для профилактики послеродового эндометрита / Е.Н. Новикова, И.С. Коба // Вестник АПК Ставрополя. – 2013. - № 2 (10). – С. 219-221.

140. Новикова, Е.Н. Применение нового средства для лечения эндометрита бактериальной и микозной этиологии / Е.Н. Новикова, М.Б. Решетка, И.С. Коба,

М.С. Дубовикова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. - № 3. – С. 138-140.

141. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных / А.М. Смирнов, С.В. Шабунин, М.И. Рецкий, И.М. Донник, В.Н. Скира, А.В. Суворов, Л.В. Бабышова. – М.: РАСХН, 2007. – 418 с.

142. Орлов, В.Д. Медицинская химия / В.Д. Орлов, В.В. Липсон, В.В. Иванов. – Харьков: Фолио, 2005. – 461 с.

143. Оценка естественной резистентности крупного рогатого скота и овец. Методические рекомендации / П.Н. Смирнов, Н.Б. Гончарова, И.М. Воронова, В.М. Чекишев и др. – Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1989. - 20 с.

144. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека: Руководство (Р 1.2.3156-13). – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. – 639 с.

145. Падейская, Е.Н. Антибактериальный препарат диоксидин: итоги и перспективы применения в клинической практике / Е.Н. Падейская // Экспресс-информация. Новые лекарственные препараты. – 1989. - № 7. – С. 1-18.

146. Падейская, Е.Н. Антибактериальный препарат диоксидин: особенности биологического действия и значение в терапии различных форм гнойной инфекции / Е.Н. Падейская // Инфекции и антимикробная терапия. – Т. 3. - № 5. – 2001. – С. 40-43.

147. Падейская, Е.Н. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике / Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев. - М., Лагота, 1998. - 351 с.

148. Падейская, Е.Н. Артротоксичность хинолонов и фторхинолонов в эксперименте: характер поражений и возможный механизм действия / Е.Н. Падейская // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. - 45 (8). – С. 36-41.

149. Падейская, Е.Н. Субмикроскопические изменения в клетках *E. coli* и *St. aureus* под влиянием диоксидина / Е.Н. Падейская, В.С. Тюрин, Г.Н. Першин, А.С. Быков // Фармакология и токсикология. – 1974. - № 1. – С. 80-85.

150. Падейская, Е.Н. Фармакокинетика диоксидина: проникновение препарата в органы и ткани при однократном и повторном введении / Е.Н. Падейская, Л.Д. Шипилова, Л.И. Буданова // Фармакология и токсикология. – 1983. – №6. – С. 667-672.

151. Падейская, Е.Н. Фторхинолоны / Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев. - М.: Биоинформ, 1995. - 208 с.

152. Падейская, Е.Н. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике / Е.Н. Падейская, В.П. Яковлев - М., Лагота, 1998. - 351 с.

153. Патент 1811844 А 1/61 К 31/43. Способ лечения хронических эндометритов / Авдеенко В.С. ; патентообладатель Новосибирский сельскохозяйственный институт. - № 4671770/15; заявл. 18.01.1989 ; опубл. 30.04.1993. - Бюл. № 16. – 7 с.

154. Патент 194263. Способ повышения антибактериальной активности антибиотиков / Богданова В.И., Башура Г.С. ; патентообладатель Харьковский НИИ микробиологии, вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова и Харьковский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт. – № 1025888/31-18 ; заявл. 03.09.1965 ; опубл. 30.03.1967. - Бюл. № 8. – 5 с.

155. Патент 2065743. МПК А61К31/00. Способ профилактики и лечения эндометритов у коров / Гавриш В.Г., Нахонов Ю.А. ; патентообладатель ТОО «НИТА». – заявл. 21.10.1993 ; опубл. 27.08.1996. – 5 с.

156. Патент 2227024 Российской Федерации. МПК А61К31/00, А61Р15/00. Эмульсия "эндометрицит" для профилактики и лечения послеродовых заболеваний у коров / В.А. Володин, Г.М. Туников, В.И. Зацаринный ; патентообладатель Рязанская государственная сельскохозяйственная академия им. проф. П.А. Костычева. – заявл. 15.03.2002; опубл. 20.04.2004. – 7 с.

157. Патент 2325174 Российской Федерации. МПК А61К35/50. Способ лечения эндометритов у коров / А.Ф. Колчина, Л.И. Дроздова, Е.И. Шурманова, Н.Н. Семенова, П.А. Ильиных, Н.Г. Шатрова ; патентообладатель Уральский государственный аграрный университет. - № 2006111131/13 ; заявл. 05.04.2006; опубл. 27.05.2008, Бюл. № 15. – 9 с.

158. Патент 2593354 Российской Федерации. МПК А61Н 39/08, А61К31/14, А61К35/50, А61Р15/00, А61М31/00. Способ повышения эффективности лечения коров, больных острым гнойно-катаральным эндометритом / Т.Е. Григорьева, Н.С. Сергеева ; патентообладатель ФГБОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия». - № 2014104644/14, заявл. 10.02.2014; опубл. 10.08.2016, Бюл. № 23. – 10 с.

159. Петров, К.И. Лечение коров с острым гнойно-катаральным эндометритом на молочном комплексе Тюменской области / К.И. Петров, А.А. Жерносенко, Г.В. Хонина, В.В. Пожарская // Научный альманах. – 2016. - № 4-4 (18). – С. 27-30.

160. Племяшов, К.В. Репродуктивная функция высокопродуктивных молочных коров при нарушении обмена веществ и ее коррекция / К.В. Племяшов, Д.О. Моисеенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2010. - № 1. – С. 37-40.

161. Плетенев, Н.В. Антимикробная активность и эффективность озонированного физиологического раствора натрия хлорида при санации / Н.В. Плетенев, И.Г. Конопельцев // Теоретические и практические вопросы ветеринарной медицины: сб. статей Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения док. вет. наук, проф. Лыжиной В.А. – Вятская ГСХА, 2007. – С. 108-111.

162. Поверхностно-активные вещества и композиции: справочник / под ред. М.Ю. Плетнева. – М.: Фирма Кламель, 2002. – 768 с.

163. Покрышкин, В.И. Олазол – новое ранозаживляющее средство / В.И. Покрышкин // Экспресс-Информация, Минмедпром. – 1982. - 36 с.

164. Полянцев, Н.И. Вагосепт при посттравматическом воспалении родополовых путей у коров / Н.И. Полянцев, Е.В. Ярошенко // Ветеринария. – 2012. - № 4. – С. 37-40.

165. Полянцев, Н.И. Детоксикационные средства при послеродовом эндометрите у коров / Н.И. Полянцев, А.Г. Магомедов // Ветеринария. – 2006. - № 11. – С. 30-33.

166. Попов, Н.И. Дезинфекция объектов ветеринарного надзора бактерицидными пенами : автореф. ... докт. вет. наук : 16.00.06 / Николай Иванович Попов. – М., 2005. – 43 с.

167. Попов, Ю.Г. Отечественные препараты в борьбе с гинекологическими заболеваниями коров и свиноматок / Ю.Г. Попов, Л.В. Макаренко, М.Н. Скомарова // Эффективное животноводство. – 2016. - № 1 (122). – С. 44-48.

168. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. - НИИАХ СГМА, 2002. - 586 с.

169. Практическое руководство по обеспечению продуктивного здоровья крупного рогатого скота: учеб. пособие / С.В. Шабунин, Ф.И. Василевич, А.Г. Нежданов, А.Г. Шахов, Н.Т. Климов, Ю.Н. Алехин, А.И. Золотарев, М.И. Рецкий, И.Т. Шапошников / под ред. С.В. Шабунина, Ф.И. Василевича. – Воронеж: «Антарес», 2011. – 220 с.

170. Пропелленты для аэрозольных упаковок / И.Е. Кузьменко, Д.А. Лейнасаре. - Ленинград: Химия. Ленингр. отдел., 1970. - 206 с.

171. Рабинович, М.И. Несовместимость и побочное действие лекарств, применяемых в ветеринарии / Рабинович М.И. - М.: КолосС, 2006. - 248 с.

172. Распутина, О.В. Оксидативный гомеостаз у стельных коров и при остром гнойно-катаральном эндометрите / О.В. Распутина, М.Н. Скомарова, Д.Д. Цырендоржиев, В.В. Курилин // Ветеринария. - 2007. - № 1. - С. 35-39.

173. Растриженкова, Л.В. Фармако-токсикологические свойства и эффективность динопена при профилактике и лечении послеродового эндометрита коров : дисс. ... канд. вет наук : 16.00.04 / Лариса Викторовна Растриженкова. – Воронеж, 2009. – 156 с.

174. Рауст, П. Аэрозоли / П. Рауст. - М.: Мир, 1987. - 280 с.

175. Рациональная антимикробная фармакотерапия: Рук. для практикующих врачей / Под ред. В.П. Яковлева, С.В. Яковлева. - М.: Литтерра, 2003. - 1004 с.

176. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии: Рук. для практикующих врачей / В.И. Кулаков, В.Н. Серов, П.Р. Абакарова и др. ; Под общ. ред. В.И. Кулакова, В.Н. Серова. М. : Литтерра, 2005; 1158 с. - (Рациональная фармакотерапия : сер. рук. для практикующих врачей : Т. 9).

177. РД-АПК 3.10.07.02-09. Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений. - М., Минсельхоз, 2009. – 29 с.

178. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н., Бунатян Н.Д. и др. - М., ЗАО «Гриф и К», 2012. - 944 с.

179. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ 2010 г. / под общ. ред. чл.-кор. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

180. Савелов, А.М. Виватон: научно-практическая монография / А.М. Савелов. – М.: ЗАО «Виватон», 2009. – 320 с.

181. Сакаева И.В. Стандартные термины Европейской фармакопеи и их использование в российской фармакопейной практике / И.В. Сакаева, Е.И. Сакаева, В.А. Меркулов, А.А. Матюшин, О.Н. Губарева, Т.Б. Шемерянкина // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2014. - № 3. – С. 51-55.

182. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов». СанПиН 2.3.2.1078-01 / Приложение №21 // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. – Вып. 4 (10). – М., 2002. – 145 с.

183. Сафарова, М. Эффективность препарата «Сепранол» при профилактике послеродовых осложнений у коров / М. Сафарова, М. Панфилова // Молочное и мясное скотоводство. – 2012. - № 8. – С. 32-34.

184. Сафонов, В.А. Влияние дефицита селена на состояние системы антиоксидантной защиты у коров в период стельности и при акушерской

патологии / В.А. Сафонов, Г.Н. Близнецова, А.Г. Нежданов, М.И. Рецкий, И.Г. Конопельцев // Российская сельскохозяйственная наука. – 2008. - № 6. – С. 50-52.

185. Сергеев, Ю.В. Хроническая субинволюция матки у коров : дисс. ... канд. вет. наук : 16.00.07, 16.00.02 / Юрий Васильевич Сергеев. – Воронеж, 2004. – 145 с.

186. Сидоренко, С.В. Роль хинолонов в антибактериальной терапии. Механизм действия, устойчивость микроорганизмов, фармакокинетика и переносимость / С.В. Сидоренко // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11. - № 2. – С. 98-101.

187. Скомарова, М.Н. Терапевтическая эффективность гинодиксина при эндометритах и маститах у коров, вызванных условно-патогенной микрофлорой : дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.02, 06.02.03 / Мария Николаевна Скомарова. – Новосибирск, 2010. – 139 с.

188. Слободяник, В.И. Опыт применения иммунокорректоров / В.И. Слободяник // Ветеринария. - 2013. - № 1. - С. 42-44.

189. Соколов, В.Д. Диоксидин и препараты на его основе в ветеринарии / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, В.Д. Войтенко, В.Е. Абрамов // Ветеринария. – 2010. - № 11. – С. 44-47.

190. Страчунский, Л.С. Современная антимикробная химиотерапия: рук. для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. – М.: Боргес, 2001. – 432 с.

191. Стьюпер, Э. Машинный анализ связи химической структуры и биологической активности / Э. Стьюпер, У. Брюггер, П. Джуре. – М.: Мир, 1987. - 235 с.

192. Сулейманов, С.М. Факторы защиты и морфофункциональные изменения при послеродовом эндометрите у коров / С.М. Сулейманов, Ю.Н. Масьянов, И.Т. Шапошников, В.И. Михалёв, И.С. Толкачев, А.А. Щербаков // Ветеринария. - 2012. - № 6. - С. 39-42.

193. Теньцова, А.И. Полимеры в фармации / А.И. Теньцова, М.Т. Алюшина. - М.: Медицина, 1985. - 256 с.

194. Теньцова, А.И. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств (введение в биофармацию) // А.И. Теньцова, А.С. Ажгихин. – М.: Медицина, 1974. - 383 с.

195. Теплых, Т.Г. Роль оксида азота в патогенезе гнойных воспалительных заболеваниях органов малого таза / Т.Г. Теплых, С.С. Даташвили, Т.А. Макаренко, С.Н. Шилов, В.Б. Цхай // Сибирское медицинское обозрение. - 2008. - № 6. - С. 52-55.

196. Терешкина, О.И. Информация о безопасности вспомогательных веществ, входящих в лекарственные препараты / О.И. Терешкина, Т.А. Гуськова // Фармация. - 2007. - № 5. - С. 4-6.

197. Терешкина, О.И. Отечественный опыт доклинической оценки безопасности состава лекарственных средств / О.И. Терешкина, Т.А. Гуськова // Фармация. - 2007. - № 6. - С. 6-9.

198. Терешкина, О.И. Спрей: определение понятия / О.И. Терешкина, В.М. Павлов, И.П. Рудакова, И.А. Самылина // Фармация. - 2006. - № 5. - С. 41-43.

199. Тетерев И.И. применение биогеля 10 при акушерско-гинекологических заболеваниях коров / И.И. Тетерев, А.В. Филатов // Ветеринария. - 2003. - № 12. - С. 12.

200. Тетерев, И.И. Разработка и применение прополисных и фитопрепаратов в животноводстве и ветеринарии : дисс. ...доктор ветеринарных наук в форме науч. доклада : 16.00.01 / Иван Иванович Тетерев. – Киров, 2004. – 54 с.

201. Технология и стандартизация лекарств: сб. науч. тр. / под ред. В.П. Георгиевского, Ф.А. Конева. – Х.: РИРЕГ, 1996. – 784 с.

202. Титова, А.В. Вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственных препаратов. Стандартизация и методы контроля : дисс. ... док. фармацев. наук : 15.00.01 / Анна Васильевна Титова. – М., 2006. - 412 с.

203. Тихомиров, В.К. Пены. Теория и практика их получения и разрушения / В.К. Тихомиров. - М.: Химия, 1983. - 264 с.

204. Тихонов, А.И. Биофармация: Учеб. для студ. фармац. вузов и фак. / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярных, И.А. Зупанец, О.С. Данькевич, Е.Е. Богуцкая, Н.В. Бездетко, Ю.Н. Азаренко; Под ред. А. И. Тихонова. - Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. - 240 с.

205. Ткаченко, М.Л. Твердые дисперсии бутадiona с трисамином в качестве гидрофильного носителя / М.Л. Ткаченко, С.Г. Смелова, Жнякина Л.Е., Л.В. Павлова // Фармация. – 2006. - № 3. – С. 31-35.

206. Трахтенберг, И.М. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко: под ред. И.М. Трахтенберга. – М.: Медицина, 1991. – 208 с.

207. Тулегенова, А.У. Разработка новых лекарственных препаратов: общие методологические подходы / А.У. Тулегенова // Фармация Казахстана. – июль, 2010. - № 7 (110) - С. 11-15.

208. Турченко, А.Н. Применение широко используемых в животноводстве пробиотических препаратов для профилактики острых послеродовых эндометритов у коров (на молочных комплексах) / А.Н. Турченко, И.С. Коба, А.И. Петенко, Е.А. Горпинченко, Е.Н. Новикова, М.Б. Решетка // Ветеринария Кубани. – 2012. - № 3. – С. 11-13.

209. Удавлиев, Д.И. Инсектоакарицидные средства на основе пиретроидов и циодрина в форме полимерных изделий, аэрозолей, эмульсий и пен : автореф. ... докт. вет. наук : 06.02.05, 06.02.03 / Дамир Исмаилович Удавлиев. - М., 2011. – 46 с.

210. Фадеева, Н.И. Молекулярно-биологические особенности антибактериального действия производных 4-хинолон-3-карбоновой кислоты / Н.И. Фадеева, М.В. Шульгина, Р.Г. Глушков // Химико-фармацевтический журнал. - 1993. - Т. 27. - № 5. - С. 4-19.

211. Фармацевтическая технология: Учеб. пособие / Под ред. В.И. Погорелова. – Ростов-н/Д: Феникс, 2002. – 544 с.

212. Фармацевтическая химия: уч. пособие / под ред. А.П. Арзамасцева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 640 с.

213. Федосеева, В.Н. Экспериментальное изучение иммуотоксических свойств факторов внешней среды / В.Н. Федосеева, А.Н. Шарецкий, О.В. Аристовская, А.Н. Чередеев, В.В. Иванов // Методические рекомендации. – М., 1989. – 47 с.

214. Филатов, А.В. Патология послеродового периода у свиноматок: высокоэффективное лечение с помощью препарата Метрамаг®-15 / А.В. Филатов, В.П. Хлопицкий // Свиноводство. – 2017. – № 2. – С. 61-63.

215. Филатов, А.В. Фармакопрофилактика послеродовых заболеваний у свиноматок / А.В. Филатов, А.Ф. Сапожников // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. - 2014. - № 4. - С. 39-43.

216. Хаджиева, З.Д. Пенные терапевтические системы технологические аспекты и классификация / З.Д. Хаджиева // Фармация. – 2007. – №1. – С. 35-37.

217. Хаджиева, З.Д. Сравнительное изучение структурно-механических свойств пенных дисперсных систем в зависимости от используемых ПАВ / З.Д. Хаджиева // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: матер. межрегион. конф. по фармации и фармакологии (58; 2003; Пятигорск). – Пятигорск: ПятГФА, 2003. - С. 166-169.

218. Хаджиева, З.Д. Теоретическое обоснование и экспериментальное исследование пенных терапевтических систем для применения в медицинской и бальнеологической практике: дисс. ... докт. фармацевт.наук : 15.00.01 / Захра Джамалеевна Хаджиева. – М., 2007. – 321 с.

219. Хаджиева, З.Д. Формирование понятийного аппарата пенных терапевтических систем / З.Д. Хаджиева // Фармация. – 2006. – № 6. – С. 41-42.

220. Хасанов, Н. Сравнительная оценка эффективности разных методов лечения при острых маститах и эндометритах у дойных коров / Н. Хасанов, Т. Давлатмуродов, Н. Сатторов, С. Баротов // Кишоварз. - 2009. - № 4. - С. 21-23.

221. Хлопицкий, В.П. Ветеринарный контроль в цехе опороса – залог хозяйственного долголетия свиноматок, высокой плодовитости и многоплодия / В.П. Хлопицкий // Свиноводство. – 2014. - № 4. – С. 55-57.

222. Хлопицкий, В.П. Комплекс диагностических и лечебно-профилактических мероприятий при воспалительных заболеваниях органов репродукции у коров / В.П. Хлопицкий, А.А. Сидорчук, С.В. Васенко, Х.С. Горбатова, А.В. Филатов, А.Ч. Джамалдинов // Ветеринария. – 2016. - № 7. – С. 42-46.

223. Хлопицкий, В.П. Комплексный контроль возбудителей инфекций при воспроизводстве свиней / В.П. Хлопицкий, А.А. Сидорчук, Н.И. Шумский // Ветеринария. - 2015. - № 3. - С. 8-12.

224. Хлопицкий, В.П. Контроль причин бесплодия – залог репродуктивного долголетия здоровья маточного поголовья свиней / В.П. Хлопицкий, К.А. Кривенцев, Т.А. Сафина // Свиноводство. – 2013. - № 6. – С. 73-76.

225. Хлопицкий, В.П. Метриты – одна из основных причин бесплодия свиноматок / В.П. Хлопицкий // Ветеринария. – 2010. - № 12. – С. 14-17.

226. Хлопицкий, В.П. Основные мероприятия в системе работы по воспроизводству свиней / В.П. Хлопицкий // Ветеринария. – 2012. - № 7. – С. 44-48.

227. Хлопицкий, В.П. Основные технологические, биологические и ветеринарные аспекты воспроизводства свиней / В.П. Хлопицкий, А.И. Рудь. – ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии, 2011. – 280 с.

228. Хмыров, А.В. Определение экспериментальных доклинических токсико-фармакологических на основе флорфеникола / А.В. Хмыров, Г.В. Сноз, Г.И. Горшков // Российский ветеринарный журнал. - 2014. - № 2. – С. 40-42.

229. Цетлин, В.М. Аэрозоли в быту / В.М. Цетлин. – Москва, 1978. – 136 с.

230. Чекман, И.С. Аэрозоли – дисперсные системы: Монография / И.С. Чекман, А.О. Сыровая, С.В. Андреева, В.А. Макаров. – Х.: «Цифрова друкарня №1», – 2013. – 100 с.

231. Чуешов, В.И. Промышленная технология лекарств / В.И. Чуешов, М.Ю. Чернов, Л.М. Хохлова .И. Богуславская, П. Д. Пашнев, О. А. Ляпунова, Е.А. Егоров, Д.В. Рыбачук, Е.В. Гладух, Е.В. Сайко, Г.Т. Сиренко, С.Т. Шебанова. – т. 2. - Х.: Издательство НФАУ МТК, 2002. - 560 с.

232. Шабунин, С.В. Бактериальные и вирусные инфекции в патологии воспроизводительной функции коров / С.В. Шабунин, А.Г. Шахов, А.Г. Нежданов // Ветеринария. - 2012. - № 10. – С. 3-8.

233. Шабунин, С.В. Болезни органов размножения у животных как локальное проявление полиорганной патологии / С.В. Шабунин, А.Г. Нежданов // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённая 100-летию со дня рождения профессора В.А. Акатова. 27-29 мая 2009 года, г. Воронеж. - Воронеж: изд-во «Истоки», 2009. – С. 6-9.

234. Шабунин, С.В. Проблемы профилактики бесплодия у высокопродуктивного молочного скота / С.В. Шабунин, А.Г. Нежданов, Ю.Н. Алёхин // Ветеринария. – 2011. - № 2. – С. 3-8.

235. Шабунин, С.В. Системное решение проблемы сохранения воспроизводительной способности и продуктивного долголетия молочного скота / С.В. Шабунин, А.Г. Нежданов // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2014. - № 8. - С. 3-13.

236. Шабунин, С.В. Стратегия и тактика антибактериальной терапии гнойно-воспалительных заболеваний матки у сельскохозяйственных животных / С.В. Шабунин, И.Т. Шапошников, Г.А. Востроилова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 3. - С. 178-181.

237. Шакуров, М.Ш. Новокаиновые блокады в ветеринарии / М.Ш. Шакуров, С.В. Тимофеев, И.Г. Галимзянов. – М.: КолосС, 2007. – 72 с.

238. Шапошников, И.Т. Терапия эндометрита у коров ротационными препаратами / И.Т. Шапошников // Ветеринарная патология. - 2011. - № 1. – С. 51-54.

239. Шапошников, И.Т. Фармако-токсикология композиционных антибактериальных препаратов и их клиническая эффективность при послеродовом эндометрите у коров : дисс. ... док. вет. наук : 06.02.03, 06.02.06 / Иван Тихонович Шапошников. - Воронеж, 2013. – 318 с.

240. Шахов, А.Г. Значение оксида азота и половых стероидов в развитии субинволюции матки у коров / А.Г. Шахов, В.И. Михалёв, М.И. Рецкий, В.Д. Мисайлов, Г.Н. Близнецова, Н.В. Пасько // Российская сельскохозяйственная наука. - 2006. № 6. – С. 49-51.

241. Швец, Г.И. Применение Тилозинокара для лечения острых послеродовых гнойно-катаральных эндометритов у коров / Г.И. Швец // Наука и инновации в сельском хозяйстве: матер. Междунар. научн.-практ. конф. – 2011. – С. 186-187.

242. Шицкова, А.П. Методы гигиенической и токсикологической оценки биологического действия пестицидов / А.П. Шицкова, О.Н. Елизарова, Л.В. Жидкова, Т.А. Кочеткова, А.И. Левин, Р.А. Рязанова, Н.А. Шевырева. - М.: «Медицина», 1977. – 200 с.

243. Эйдельштейн, С. И. Основы аэрозольтерапии / С. И. Эйдельштейн. - М.: Медицина, 1967. - 335 с.

244. Яковлев, В.П. Клиническая фармакология фторхинолонов / В.П. Яковлев, С.В. Яковлев // Клиническая фармакология и терапия. - 1994. – Т. 3. - № 2. - С. 7-33.

245. Яковлев, В.П. Норфлоксацин - высокоактивный препарат группы фторхинолонов / В.П. Яковлев // Инфекция и антимикробная терапия. - 1999. - №1. – С. 7- 16.

246. Яковлев, В.П. Фармакокинетическое взаимодействие между фторхинолонами и другими лекарственными средствами/ В.П. Яковлев // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. - 43 (7). – С. 36-44.

247. Ярных, В.С. Аэрозоли в ветеринарии / В.С. Ярных. – М.: «Колос», 1972. – 352 с.

248. Ятусевич, Д.С. Энрофлон – пенообразующие таблетки – новый препарат для лечения коров, больных послеродовым эндометритом / Д.С. Ятусевич, В.Д. Ятусевич // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». - 2007. - Т. 43. - № 2. - С. 209-211.

249. Abd El-Aty, A.M. Pharmacokinetics and bioavailability of florfenicol following intravenous, intramuscular and oral administration in rabbits / A.M. Abd El-Aty, A. Goudah, K. Abo El-Sooud, H.Y. El-Zorba // Veterinary Research Communications. - 2004. - v. 28. - p. 515-524.

250. Adams, P.E. Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in male veal calves given repeated doses / P.E. Adams, K.J. Varma, T.E. Powers, J.F. Lamendola // Am. J. Vet. Res. - 1987. - Vol. 48. - № 12. – p. 1725-1732.

251. Adhami, Z.N. The pharmacokinetics and tissue penetration of norfloxacin / Z.N. Adhami, R. Wise, D. Weaton // J. Antimicrob. Chemother. – 1984. - № 13. - p. 87-92.

252. Afifi, N.A. Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens / N.A. Afifi, K. Abo El-Sooud // British Poultry Science. - 1997. - № 38. - p. 425-428.

253. Ajevar, G. Transcriptional profile of endometrial TLR4 and 5 genes during the estrous cycle and uterine infection in the buffalo (*Bubalus bubalis*) / G. Ajevar, S. Muthu, M. Sarkar, H. Kumar, G.K. Das, N. Krishnaswamy // Vet. Res. Commun. – Jun, 2014. – v. 38. – I. 2. – p. 171-176.

254. Amos, M.R. Differential endometrial cell sensitivity to a cholesterol-dependent cytolysin links *Trueperella pyogenes* to uterine disease in cattle / M.R. Amos, G.D. Healey, R.J. Goldstone, S.M. Mahan, A. Düvel, H.J. Schuberth, O. Sandra, P. Zieger, I. Dieuzy-Labaye, D.G. Smith, I.M. Sheldon // Biol. Reprod. – Mar, 2014. - v. 90. – I. 3. - Article 54. – p. 1-13.

255. Armengol, R. Comparison of two treatment strategies for cows with metritis in high-risk lactating dairy cows / R. Armengol, L. Fraile // Theriogenology. – May, 2015. - v. 83. – I. 8. – p. 1344-1351.

256. Arzhavitina, A. Foams for pharmaceutical and cosmetic application / A. Arzhavitina, H. Steckel // *International Journal of Pharmaceutics*. - 2010. - Jul, 15. - v. 394. - I. 1-2. - p. 1-17.

257. Bartolome, J.A. Strategies for the treatment of dairy cows at high risk for postpartum metritis and for the treatment of clinical endometritis in Argentina / J.A. Bartolome, P. Khalloub, R.L. de la Sota, M. Drillich, P.G. Melendez // *Trop. Anim. Health Prod.* - Jan, 2014. - v. 46. - I. 1. - p. 79-85.

258. Bertschinger, H.U. Studies on the mastitis-metritis-agalactia syndrome (milk fever) in sows. II. Bacteriological findings in spontaneous cases / H.U. Bertschinger, J. Pohlenz, I. Hemlep // *Schweiz Arch Tierheilkd.* - 1977. - Jun, 119 (6). - p. 223-233.

259. Bicalho, M.L. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle / M.L. Bicalho, F.S. Lima, E.K. Ganda, C. Foditsch, E.B. Meira Jr., V.S. Machado, A.G. Teixeira, G. Oikonomou, R.O. Gilbert, R.C. Bicalho // *J. Dairy Sci.* - Jul, 2014. - v. 97. - I. 7. - p. 4281-4295.

260. Biksi, I. Association between endometritis and urocystitis in culled sows / I. Biksi, N. Takács, F. Vetési, L. Fodor, O. Szenci, E. Fenyő // *Acta Vet. Hung.* - 2002. - v. 50. - I. 4. - p. 413-423.

261. Braga, P.C. Vaginal gel adsorption and retention by human vaginal cells: visual analysis by means of inorganic and organic markers / P.C. Braga, M. Dal Sasso, A. Spallino, C. Sturla, M. Culici // *International Journal of Pharmaceutics*. - May, 2009. - v. 373. - I. 1-2. - p. 10-15.

262. *British Pharmacopoeia*. - 2009. - v. I&II. - 10952 p.

263. Bretzlaff, K.N. Florfenicol in non-lactating dairy cows: pharmacokinetics, binding to plasma proteins, and effects on phagocytosis by blood neutrophils / K.N. Bretzlaff, C.A. Neff-Davis, R.S. Ott // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* - 1987. - v. 10. - I. 3. - p. 233-240.

264. Brodzki, P. Phenotyping of leukocytes and granulocyte and monocyte phagocytic activity in the peripheral blood and uterus of cows with endometritis / P.

Brodzki, K. Kostro, A. Brodzki, U. Lisiecka, L. Kurek, J. Marczuk // *Theriogenology*. – Aug, 2014. – v. 82. – I. 3. – p. 403-410.

265. Brodzki, P. *Trueperella pyogenes* and *Escherichia coli* as an etiological factor of endometritis in cows and the susceptibility of these bacteria to selected antibiotics / M. Bochniarz, A. Brodzki, Z. Wrona, W. Wawron // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2014. – v. 17. – I. 4. – p. 657-664.

266. Bromfield, J.J. Physiology and endocrinology symposium: Uterine infection: linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow / J.J. Bromfield, J.E. Santos, J. Block, R.S. Williams, I.M. Sheldon // *J. Anim. Sci.* – May, 2015. – v. 93. – I. 5. – p. 2021-2033.

267. Burfeind, O. Diagnosis of acute puerperal metritis by electronic nose device analysis of vaginal discharge in dairy cows / O. Burfeind, M. Bruins, A. Bos, I. Sannmann, R. Voigtsberger, W. Heuwieser // *Theriogenology*. – 2014. – v. 82. - I. 1. – p. 64-70.

268. Cannon, M. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluoridated derivatives / M. Cannon, S. Harford, J. Davies // *J. Antimicrob. Chemother.* – 1990. – v. 26. – p. 307-317.

269. Catania, P.N. Inhibition of supraeschar and subeschar *Pseudomonas* infection by silver sulfadiazine dry foam / P.N. Catania, J.C. King // *Journal of pharmaceutical sciences*. – Mar, 1975. - v. 64. – I. 3. – p. 457-464.

270. Chean, R. Gentamicin in pregnancy: seeing past the drug categorisation in pregnancy / R. Chean, S.M. Garland, L. Leung // *Intern. Med. J.* – Jan, 2017. – v. 47. – I. 1. – p. 124-125.

271. Clemmons, B.A. Vaginal and Uterine Bacterial Communities in Postpartum Lactating Cows / B.A. Clemmons, S.T. Reese, F.G. Dantas, G.A. Franco, T.P.L. Smith, O.I. Adeyosoye, K.G. Pohler, P.R. Myer // *Front Microbiol.* – Jun, 2017. – v. 8. - p. 1047-1055.

272. Cofsky, R.D. Recovery of norfloxacin in feces after administration of a single oral dose to human volunteers / R.D. Cofsky, L. DuBouchet, S.H. Landesman // *Antimicrob. Ag. Chemother.* - 1984. - p. 40-110.

273. Cook, A. Use of florfenicol in the non-human primates / A. Cook, M. St. Claire, R. Sams // *J. Med. Primatol.* - 2004. - v. 33. - № 3. - p. 127-133.

274. CPMP/ICH/367/96 (ICH Topic Q6A). – Note for Guidance Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. – 32 p. - www.ema.europa.eu.

275. Cukierski, M.A. Embryotoxicity studies of norfloxacin in cynomolgus monkeys: I. Teratology studies and norfloxacin plasma concentration in pregnant and nonpregnant monkeys / M.A. Cukierski, S. Prahalada, A.G. Zacchei, C.P. Peter, J.D. Rodgers, D.L. Hess, M.J. Cukierski, A.F. Tarantal, T. Nyland, R.T. Robertson // *Teratology.* – Jan, 1989. - v. 39. – I. 1. - p. 39-52.

276. Cukierski, M.A. Embryotoxicity studies of norfloxacin in cynomolgus monkeys. II. Role of progesterone / M.A. Cukierski, A.G. Hendrickx, S. Prahalada, A.F. Tarantal, D.L. Hess, B.L. Lasley, C.P. Peter, R. Tarara, R.T. Robertson // *Teratology.* – Nov, 1992. - v. 46. – I. 5. - p. 429-438.

277. CPMP/ICH/367/96 (ICH Topic Q6A). – Note for Guidance Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. - <http://www.emea.eu.int>

278. Dalin, A.M. Post-mortem examination of genital organs from sows with reproductive disturbances in a sow-pool / A.M. Dalin, K. Gidlund, L. Eliasson-Selling // *Acta Vet Scand.* – 1997. – v. 38. – I. 3. – p. 253-262.

279. de Boer, M. Associations between intrauterine bacterial infection, reproductive tract inflammation, and reproductive performance in pasture-based dairy cows / M. de Boer, B.M. Buddle, C. Heuer, H. Hussein, T. Zheng, S.J. LeBlanc, S. McDougall // *Theriogenology.* – Jun, 2015. - v. 83. – I. 9. – p. 1514-1524.

280. Dini, P. Effect of uterine lavage on neutrophil counts in postpartum dairy cows / P. Dini, M. Farhoodi, M. Hostens, M. Van Eetvelde, O.B. Pascottini, M.H. Fazeli, G. Opsomer // *Anim. Reprod. Sci.* – Jul, 2015. – v. 158. – p. 25-30.

281. Djuricic, D. The intrauterine treatment of the retained foetal membrane in dairy goats by ozone: novel alternative to antibiotic therapy / D. Djuricic, H. Valpotic, M. Samardzija // *Reprod. Domest. Anim.* – Apr, 2015. – v. 50. – I. 2. – p. 236-239.

282. Duignan, N.M. Pharmacological studies with lincomycin in late pregnancy / N.M. Duignan, J. Andrews, J.D. Williams // *Br. Med. J.* – Jul, 1973. –v. 14. - I. 3 (5871). – p. 75-78.

283. Dzhurova, I. Pathohistological changes in the mammae and sex organs of sows with the MMA syndrome / I. Dzhurova, G. Gülübinov, G. Bozhkova, N. Korudzhiiski. – *Vet. Med. Nauki.* – 1983. – v. 20. – I. 8. – p. 93-100.

284. Edlund, C. Effect of norfloxacin on human oropharyngeal and colonic microflora and multiple dose pharmacokinetics / C. Edlund, T. Bergan, R. Josefsson // *Scand. J. Inf. Dis.* – 1987. - № 19. - p. 21-113.

285. Esposito, G. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows / G. Esposito, P.C. Irons, E.C. Webb, A. Chapwanya // *Anim. Reprod. Sci.* – Jan, 2014. – v. 30 (144). – I. 3-4. – p. 60-71.

286. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimentation and other Scientific Purposes. - European Treaty Series № 123. - Strasbourg, 18 March 1986. - 50 p.

287. European Pharmacopoeia. E. 7. - Strassbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care (EDQM) - Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2010. - Vol.1., Vol.2. - 3536 p.

288. Exalto, N. Safety aspects and side-effects of ExEm-gel and foam for uterine cavity distension and tubal patency testing / N. Exalto, M. Stassen, M.H. Emanuel // *Reproductive Biomedicine Online.* – Nov, 2014. – v. 29. – I. 5. - p. 534-540.

289. Frankel, A. Bilateral comparison study of pimecrolimus cream 1% and a ceramide-hyaluronic acid emollient foam in the treatment of patients with atopic dermatitis / A. Frankel, A. Sohn, R.V. Patel, M. Lebwohl // *Journal of drugs in dermatology.* – Jun, 2011. – v. 10. – I. 6. – p. 666-672.

290. Fujii, T. PVA copolymer: the new coating agent / T. Fujii, Y. Furuya, M. Naomi, K. Tomita // *Pharmaceutical Technology Europe.* – Oct, 2008. – v. 20. – I. 10. – p. 20-24.

291. Gadebusch, H.H. Norfloxacin, the first of a new class of fluoroquinolones antimicrobials, revisited / H.H. Gadebusch, D.L. Shungu // *Intern. J. Antimicrob.* - Aug, 1991. - p. 3-28.

292. Garro, C.J. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system / C.J. Garro, L. Mian, M. Cobos Roldán // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*. – Oct, 2014. – v. 98. – I. 5. – p. 838-844.

293. Graage, R. Septicaemia in piglets associated with a positive finding of a methicillin-resistant *S. aureus* strain / R. Graage, M. Ganter, J. Verspohl, B. Strommenger, K.H. Waldmann, W. Baumgärtner, I. Hennig-Pauka // *Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere*. – 2014. - № 42 (3). – p. 163-168.

294. Grobbel, M. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004–2006 / M. Grobbel, A. Lubke-Becker, E. Alesík, S. Schwarz, J. Wallmann, C. Werckenthin, L.H. Wieler // *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*. – 2007. - v.120. – p. 391–401.

295. Gundling, N. Lactational incidences of common diseases in dairy herds in Schleswig-Holstein (Germany): effect of first test-day milk yield, herd milk yield and number of lactation / N. Gundling, I. Ruddat, K. Prien, B. Hellerich, M. Hoedemaker // *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* – May-Jun, 2015. – v. 128. – I. 5-6. – p. 225-232.

296. Guo, J.X. Improvement of stability of polidocanol foam for nonsurgical permanent contraception / J.X. Guo, L. Lucchesi, K.W. Gregory // *Contraception*. – Aug, 2015. - v. 92. – I. 2. – p. 103-107.

297. Guo, M. Endometrial inflammation and abnormal expression of extracellular matrix proteins induced by *Mycoplasma bovis* in dairy cows / M. Guo, G. Wang, T. Lv, X. Song, T. Wang, G. Xie, Y. Cao, N. Zhang, R. Cao // *Theriogenology*. – Mar, 2014. – v. 15 (81). – I. 5. – p. 669-674.

298. Haimer, P. Invited review: Antibiotic treatment of metritis in dairy cows: a systematic approach / P. Haimerl, W. Heuwieser // *J. Dairy Sci.* – Nov, 2014. – v. 97. - I. 11. – p. 6649-6661.

299. Halgaard, C. Epidemiologic factors in puerperal diseases of sow / C. Halgaard // Nord. Vet. Med. – Apr, 1983. – v. 35. – I. 4. – p. 161-174.

300. Hassanin, O. Effects of florfenicol on the immune responses and the interferon-inducible genes in broiler chickens under the impact of E. coli infection / O. Hassanin, F. Abdallah, A. Awad // Vet. Res. Commun. - Mar, 2014. - v. 38. - I. 1. - p. 51-58.

301. Haugaard, K. Short communication: genetic parameters for fertility-related disorders in Norwegian Red / K. Haugaard, B. Heringstad // J. Dairy Sci. – Feb, 2015. – v. 98. – I. 2. – p. 1321-1324.

302. Hawkins, L.L. Effects of florfenicol injection on the meat characteristics of the cervical muscles in cattle / L.L. Hawkins, L.J. Perino, G. Kennedy, M. Dikeman, D. Cole // Am. J. Vet. Res. - 2002. - v. 63. - № 1. - p. 64-68.

303. Heaton, V.J. Potent antipneumococcal activity of gemifloxacin is associated with dual targeting of gyrase and topoisomerase IV , and in vivo target preference for gyrase, and enhanced stabilization of cleavable complexes in vitro / V.J. Heaton, J.E. Ambler, L.M. Fisher // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2000. – v. 44. – p. 311-327.

304. Hehenberger, EM. Diagnosis and therapy of retained fetal membranes, puerperal metritis and clinical endometritis in cattle: Results of the Online-survey among Swiss practitioners. II. Puerperal metritis and clinical endometritis / E.M. Hehenberger, MG. Doherr, M. Bodmer, A. Steiner, G. Hirsbrunner // Schweiz. Arch. Tierheilkd. – Sep, 2015. – v. 157. – I. 9. – p. 503-512.

305. Heppelmann, M. Effect of suppression of postpartum ovulation on endometrial inflammation in dairy cows / M. Heppelmann, A. Brömmling, S.E. Ulbrich, M. Weinert, M. Piechotta, C. Wrenzycki, S. Merbach, H.A. Schoon, M. Hoedemaker, H. Bollwein // Theriogenology. – Jul, 2015. – v. 1 (84). – I. 1. – p. 155-162.

306. Herradora, L.M. Effect of oral enrofloxacin and florfenicol on pigs experimentally infected with Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 1 / L.M. Herradora, R. Martinez-Gamba // J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med. - 2003. - v. 50. – I. 5. – p. 259-263.

307. Hirsch, A.C. Investigation on the efficacy of meloxicam in sows with mastitis-metritis-agalactia syndrome / A.C. Hirsch, H. Philipp, R. Kleemann // J. Vet. Pharmacol. Ther. – Oct, 2003. - v. 5. – I. 26. – p. 355-360.

308. Holmes, B. Norfloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use / B. Holmes, R.N. Brogden, D.M. Richards // Drugs. – 1985. – v. 30. – p. 482-513.

309. <http://galen.vetrif.ru>

310. <http://www.rlsnet.ru>

311. Hu, D. Florfenicol induces more severe hemotoxicity and immunotoxicity than equal doses of chloramphenicol and thiamphenicol in Kunming mice / Hu D., Han Z., Li C., Lv L., Cheng Z., Liu S. // Immunopharmacol. Immunotoxicol. – Oct, 2016. – v. 27. - p. 1-14.

312. ICH Topic Q 8 (R2). - Part I. - Pharmaceutical Development (EMEA/CHMP/167068/2004 Note for Guidance on Pharmaceutical Development) European Medicines Agency, June, 2009.

313. ICH Topic Q 8. – Part II. – Annex Pharmaceutical Development. (EMEA/CHMP/167068/2004 Annex to Note for Guidance on Pharmaceutical Development) European Medicines Agency, 2009.

314. Jianzhong, L. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs, experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* / L. Jianzhong, K.F. Fung, Z. Chen, Z. Zeng, J. Zhang // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2003. - v. 47. – I. 2. - p. 820-823.

315. Jianzhong, S. Bioavailability and pharmacokinetics of florfenicol in healthy sheep / S. Jianzhong, L. Xinbo, J. Haiyang, H.H. Walter // Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. - 2004. - v. 27. - p. 163-168.

316. Johnson, H. Endometrial expression of selected transcripts in postpartum of primiparous Holstein cows with clinical and subclinical endometritis / H. Johnson, C.G. Torres, F. Carvallo, M. Duchens, O.A. Peralta // Anim. Reprod. Sci. – May, 2015. – v. 156. – p. 34-39.

317. Karg, H. Causes of sow mortality in Hungarian indoor and outdoor pig production units / H. Karg, G. Bilkei // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – Sep-Oct, 2002. – v. 115. – I. 9-10. – p. 366-368.

318. Kasimanickam, R. Mucin 1 and cytokines mRNA in endometrium of dairy cows with postpartum uterine disease or repeat breeding / R. Kasimanickam, V. Kasimanickam, J.P. Kastelic // Theriogenology. – Apr, 2014. – v. 15 (81). – I. 7. – p. 952-958.

319. Kehrenberg, C. Plazmid-borne florfenicol resistance in *Pausterella multocida* / C. Kehrenberg, S. Schwarz // J. Antimicrob. Chemother. - 2005. - v. 55. - № 5. - p. 773-775.

320. Kemper, N. The role of bacterial pathogens in coliform mastitis in sows / N. Kemper, D. Bardehle, J. Lehmann, I. Gerjets, H. Looft, R. Preissler // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – Mar-Apr, 2013. – v. 126. – I. 3-4. – p. 130-136.

321. König, K. Gentamicin trough levels using a simplified extended-interval dosing regimen in preterm and term newborns // K. König, A. Lim, A. Miller, S. Saker, K.J. Guy, C.P. Barfield // Eur. J. Pediatr. - May, 2015. - v. 174. - I. 5. - p. 669-673.

322. Korudzhiiiski, N. Microbial etiology of the MMA syndrome (mastitis-metritis-agalactia) in swine raised commercially / N. Korudzhiiiski, G. Bozhkova, G.V. Gülübinov, I. Dzhurova, S. Georgiev // Vet. Med. Nauka. – 1987. – v. 24. – I. 5. – p. 11-15.

323. Krogh, M.A. Evaluation of effects of metritis management in a complex dairy herd health management program / M.A. Krogh, C. Enevoldsen // J. Dairy Sci. - 2014. – v. 97. – I. 1. - p. 552-561.

324. Küçükaslan, I. Evaluation of endometrial echotexture and cervical cytology in cows during and after treatment of endometritis / I. Küçükaslan, D. Kaya, B. Emre, H. Bollwein, N. Ozyurtlu, S.B. Mülazımoğlu, S. Aslan // Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere. – 2014. – v. 42. – I. 6. – p. 343-350.

325. Lane, V.M. Intravenous and subcutaneous pharmacokinetics of florfenicol in sheep / V.M. Lane, A. Villarroel, S.E. Wetzlich, A. Clifford, I. Taylor, A.L. Craigmill // J. Vet. Pharmacol. Ther. - 2004. - v. 27. - № 4. - p. 191-196.

326. LeBlanc, S.J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows / S.J. LeBlanc // *Animal*. – May, 2014. – v. 8. – I. s1. – p. 54-63.

327. Ledgard, A.M. Influence of pathogenic bacteria species present in the postpartum bovine uterus on proteome profiles / A.M. Ledgard, G.A. Smolenski, H. Henderson, R.S. Lee // *Reprod. Fertil. Dev.* – Jan, 2015. – v. 27. – I. 2. – p. 395-406.

328. Lis, M. The effects of florfenicol on lymphocyte subsets and humoral immune response in mice / M. Lis, M. Szczypka, A. Suszko, M. Świtała, B. Obmińska-Mrukowicz // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2011. – v. 14. – I. 2. – p. 191-198.

329. Lobell, R.D. Pharmacokinetics of florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle / R.D. Lobell, K.J. Varma, J.C. Johnson, R.A. Sams, D.F. Gerken, S.M. Ashcraft // *J. Vet. Pharmacol. Therap.* - 1994. - v. 17. - p. 253-258.

330. Machado, V.S. Short communication: Relationship between natural antibodies and postpartum uterine health in dairy cows / V.S. Machado, M.L. Bicalho, R.O. Gilbert, R.C. Bicalho // *J. Dairy Sci.* – Dec, 2014. – v. 97. – I. 12. – p. 7674-7678.

331. Machado, V.S. Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows / V.S. Machado, M.L. Bicalho, E.B. Meira Junior, R. Rossi, B.L. Ribeiro, S. Lima, T. Santos, A. Kussler, C. Foditsch, E.K. Ganda, G. Oikonomou, S.H. Cheong, R.O. Gilbert, R.C. Bicalho // *PLoS One*. – Mar, 2014. – v. 17. – I. 9 (3). – e91734.

332. Maes, D. Diseases in swine transmitted by artificial insemination: an overview / D. Maes, H. Nauwynck, T. Rijsselaere, B. Mateusen, P. Vyt, A. de Kruif, A. Van Soom // *Theriogenology*. – Nov. 2008. – 70 (8). – p. 1337-1345.

333. Magata, F. Lipopolysaccharide (LPS) inhibits steroid production in theca cells of bovine follicles in vitro: distinct effect of LPS on theca cell function in pre- and post-selection follicles / F. Magata, M. Horiuchi, A. Miyamoto, T. Shimizu // *J. Reprod. Dev.* – 2014. – v. 60. – I. 4. – p. 280-287.

334. Mahan, D.C. Effect of vitamin E sources (RRR- or all-rac-alpha-tocopheryl acetate) and levels on sow reproductive performance, serum, tissue, and milk alpha-

tocopherol contents over a five-parity period, and the effects on the progeny / D.C. Mahan, Y.Y. Kim, R.L. Stuart // *J. Anim. Sci.* – Jan, 2000. – v. 78. – I. 1. – p. 110-119.

335. Martel, J. In vitro activity of florfenicol on the primary pathogenic bacteria of the respiratory tract in European cattle / J. Martel // In: *Proceedings of the XVIII World Buiatrics Congress.* – Bologna, Italy. - 1994. - p. 25-30.

336. Martingano, D. Daily dosing of gentamicin using ideal body weight for the treatment of intrapartum chorioamnionitis: a pilot study / D. Martingano, X. Guan, A. Renson, S. Singh, M. Kesavan Nasir, J. Kim, J. Carey // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – Apr, 2017. – v. 11. – p. 1-7.

337. Mendonça, L.G. Comparison of peripartum metabolic status and postpartum health of Holstein and Montbéliarde-sired crossbred dairy cows / L.G. Mendonça, C.C. Abade, E.M. da Silva, N.B. Litherland, L.B. Hansen, W.P. Hansen, R.C. Chebel // *J. Dairy Sci.* – Feb, 2014. – v. 97. – I. 2. – p. 805-818.

338. Michel, C. Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fish - pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria / C. Michel, B. Kerouault, C. Martin // *J. Appl. Microbiol.* – 2003. – v. 95. - № 5. – p. 1008-1015.

339. Mido, S. Effects of intrauterine infusion of povidone-iodine on endometrial cytology and bacteriology in dairy cows with clinical endometritis / S. Mido, N. Murata, M.S. Rawy, G. Kitahara, T. Osawa // *J. Vet. Med. Sci.* – Dec, 2015. – v. 77. – I. 12. - p. 1667-1671.

340. Moore, S.G. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: IV. Transition period, uterine health, and resumption of cyclicity / S.G. Moore, T. Fair, P. Lonergan, S.T. Butler // *J. Dairy Sci.* – May, 2014. – v. 97. – I. 5. – p. 2740-2752.

341. Moura, L.I. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment-a review / L.I. Moura, A.M. Dias, E. Carvalho, H.C. de Sousa // *Acta Biomaterialia.* – Jul, 2013. – v. 9. – I. 7. – p. 7093-7114.

342. Palacios-Arriaga, J.M. Efficacy of florfenicol premix in wianing pigs exper-imentally infected whith actinobacillus pleuropneumoniae / J.M. Palacios-

Arriaga, J.A. Guitierrez Pabello, G. Chavez Gris, R. Hernandez Castro // *Revista Latinia-mericana de Microbiologia*. - 2000. - v. 42. - p. 27-33.

343. Pantaleo, M. Immunological aspects of metritis in dairy cows: a review / M. Pantaleo, A. Rizzo, G. D'Onghia, G. D'Onghia, M. Roncetti, M. Piccinno, M. Mutinati, M.R. Terlizzi, R.L. Sciorsci // *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. – 2014. – v. 14. – I. 3. – p. 196-205.

344. Parker Gaddis, K.L. Genomic selection for producer-recorded health event data in US dairy cattle / K.L. Parker Gaddis, J.B. Cole, J.S. Clay, C. Maltecca // *J. Dairy Sci.* – May, 2014. – v. 97. – I. 5. – p. 3190-3199.

345. Piras, C. Changes in protein expression profiles in bovine endometrial epithelial cells exposed to *E. coli* LPS challenge / C. Piras, Y. Guo, A. Soggiu, M. Chanrot, V. Greco, A. Urbani, G. Charpigny, L. Bonizzi, P. Roncada, P. Humblot // *Mol. Biosyst.* – 2017. – Jan, 31. – v. 13. – I. 2. – p. 392-405.

346. Pohl, P, Oswald E, Van Muylem K, Jacquemin E, Lintermans P, Mainil J. *Escherichia coli* producing CNF1 and CNF2 cytotoxins in animals with different disorders / Pohl P, Oswald E, Van Muylem K, Jacquemin E, Lintermans P, Mainil J. // *Vet. Res.* – 1993. – v. 24. – I. 4. – p. 311-315.

347. Preissler, R. A genome-wide association study to detect genetic variation for postpartum dysgalactia syndrome in five commercial pig breeding lines / R. Preissler, J. Tetens, K. Reiners, H. Looft, N. Kemper // *Anim. Genet.* – Aug, 2013. – v. 44. – I. 5. – p. 502-508.

348. Prunner, I. Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows / I. Prunner, H. Pothmann, K. Wagener, M. Giuliadori, J. Huber, M. Ehling-Schulz, M. Drillich // *Theriogenology*. – Dec, 2014. – v. 82. – I. 9. – p. 1316-1322.

349. Prunner, I. Risk factors for uterine diseases on small- and medium-sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations / I. Prunner, K. Wagener, H. Pothmann, M. Ehling-Schulz, M. Drillich // *Theriogenology*. – Oct, 2014. – v. 1. - I. 82 (6). – p. 857-865.

350. Reppert, E.J. Evidence for the use of ceftiofur for treatment of metritis in dairy cattle / E.J. Reppert // *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* – Mar, 2015. – v. 31. – I. 1. – p. 139-149.

351. Sanders, P.A. Principles of aerosol technology / P.A. Sanders. - New-York, 1970. – 417 p.

352. Sant'Ana, F.J. Lectin-binding sites on the normal and pathologic uterus of sows / F.J. Sant'Ana, E.F. Nascimento, P.F. Andrés Laube, E.J. Gimeno, C.G. Barbeito // *Reprod. Domest. Anim.* – Dec, 2009. – v. 44. – I. 6. – p. 889-893.

353. Schwarz, S. Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive and coagulase-variable Staphylococci from various indications of swine, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006 / S. Schwarz, E. Alesík, C. Werckenthin, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, L.H. Wieler, J. Wallmann // *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* – 2007. – v. 120. – I. 9-10. – p. 372-379.

354. Schwarz, S. Antimicrobial susceptibility of streptococci from various indications of swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006 / S. Schwarz, E. Alesík, C. Werckenthin, M. Grobbel, A. Lübke-Becker, C. Werckenthin, L.H. Wieler, J. Wallmann // *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* - 2007. - v. 120. – I. 9-10. - p. 380-390.

355. Sheldon, I.M. Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease / I.M. Sheldon, J.G. Cronin, G.D. Healey, C. Gabler, W. Heuwieser, D. Streyll, J.J. Bromfield, A. Miyamoto, C. Fergani, H. Dobson // *Reproduction.* – Sep, 2014. – v. 148. – I. 3. – p. 41-51.

356. Shen, J. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy and Escherichia coli infected broiler chickens / J. Shen, X. Wu, D. Hu, H. Jiang // *Research in Veterinary Science.* - 2002. - v. 73. - p. 137-140.

357. Shen, J. Bioavailability and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens / J. Shen, D. Hu, X. Wu, J.R. Coats // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* - 2003. - v. 26. - № 5. – p. 337-341.

358. Shuang, G. Immunosuppressive activity of florfenicol on the immune responses in mice / G. Shuang, S. Yu., G Weixiao, W. Dacheng, Z. Zhichao, L. Jing, D. Xuming // *Immunol. Invest.* – 2001. – v. 40. – I. 4. – p. 356-366.

359. Stein, G.E. Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloxacin / G.E. Stein // *Amer. J. Med.* – 1987. - № 82. - p. 21.

360. Styková, E. Adherence of bacteria to mucus collected from different parts of the reproductive tract of heifers and cows / E. Styková, R. Nemcová, I. Valocký, F. Novotný, P. Guba // *Can. J. Microbiol.* – Nov, 2013. – v. 59. – I. 11. – p. 720-725.

361. Suter, W. Agents / W. Suter, A. Russelet, F. Knusel // *Chemother.* - 1978. - v. 13. - I. 5. - p. 770-783.

362. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/497/98-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Lincomycin. Summary report (1). - www.ema.europa.eu.

363. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/749/00-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Lincomycin. Summary report (2). - www.ema.europa.eu.

364. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/822/02-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Lincomycin. (Extension to all food producing species). Summary report (3). - www.ema.europa.eu.

365. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/591/99-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol (Extension to pigs). Summary report (3). - www.ema.europa.eu.

366. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol. Summary report (1). - www.ema.europa.eu.

367. Tselevych, M.V. Effect of norfloxacin on ultrastructure characteristics of the loach embryos / M.V. Tselevych // *Cytology and genetics.* 2008. Mar-Apr; v. 42 (2). p. 29-34.

368. Turner, M.L. Immunity and inflammation in the uterus / M.L. Turner, G.D. Healey, I.M. Sheldon // *Reprod. Domest. Anim.* – Aug, 2012. – v. 47. – Suppl. 4. – p. 402-409.

369. Wagener, K. Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and *Trueperella pyogenes* in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis / K. Wagener, T. Grunert, I. Prunner, M. Ehling-Schulz, M. Drillich // *Vet. J.* – Dec, 2014. – v. 202. – I. 3. – p. 527-532.

370. Walker, CG. Modulation of the immune system during postpartum uterine inflammation / C.G. Walker, S. Meier, H. Hussein, S. McDougall, C.R. Burke, J.R. Roche, M.D. Mitchell // *Physiol. Genomics.* – Apr, 2015. – v. 47. – I. 4. – p. 89-101.

371. Wolfson, J.S. Norfloxacin: a new targeted fluoroquinolone antimicrobial agent / J.S. Wolfson, D.C. Hooper // *Ann. Intern. Med.* – 1988. - № 10. - p. 238-251.

372. Woodford, R. Bioavailability and activity of topical corticosteroids from a novel drug delivery system, the aerosol quick-break foam / R. Woodford, B.W. Barry // *Journal of pharmaceutical sciences.* – Jan, 1977. – v. 66. – I. 1. – p. 99-103.

373. Yoshimura, H. Minimum inhibitory concentrations of 20 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections in Japan / H. Yoshimura, M. Ishimaru, A. Kojima // *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* – 2002. – Vol. 49. - № 2. – p. 457-460.

374. Zhao, H.X. Prevalence and molecular characterization of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from dairy cattle with endometritis in China / H.X. Zhao, J.L. Zhao, J.Z. Shen, H.L. Fan, H. Guan, X.P. An, P.F. Li // *Microb. Drug Resist.* – Apr, 2014. – v. 20. – I. 2. - p. 162-169.

375. Zhao, J.L. Presence of superantigen genes and antimicrobial resistance in *Staphylococcus* isolates obtained from the uteri of dairy cows with clinical endometritis / J.L. Zhao, Y.X. Ding, H.X. Zhao, X.L. He, P.F. Li, Z.F. Li, H. Guan, X. Guo // *Vet. Rec.* – Oct, 2014. – v. 11; 175. – I. 14. – p. 352.

ПРИЛОЖЕНИЕ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2455992

**ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ**

Патентообладатель(ли): *Закрытое акционерное общество научно-производственное предприятие "Агрофарм" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2011129143

Приоритет изобретения **13 июля 2011 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **20 июля 2012 г.**

Срок действия патента истекает **13 июля 2031 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 455 992** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/498 (2006.01)
A61K 31/10 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
A61K 47/44 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011129143/15, 13.07.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.07.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.07.2011

(45) Опубликовано: 20.07.2012 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2333759 C1, 20.09.2008. RU 2065745
C1, 27.08.1996. CN 101375855 A, 04.03.2009.

Адрес для переписки:

394087, г.Воронеж, ул. Ломоносова, 114б,
ЗАО НПП "Агрофарм", Д.В. Василенко

(72) Автор(ы):

Шабунин Сергей Викторович (RU),
 Шапошников Иван Тихонович (RU),
 Востроилова Галина Анатольевна (RU),
 Рогачева Тамара Евгеньевна (RU),
 Нежданов Анатолий Григорьевич (RU),
 Михалёв Виталий Иванович (RU),
 Ерин Денис Александрович (RU),
 Ческидова Лилия Валерьевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Закрытое акционерное общество научно-
 производственное предприятие "Агрофарм"
 (RU)

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕРОВОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области ветеринарии. Препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита у коров, следующего состава, мас. %: норфлоксацина гидрохлорид - 1,0-3,5, диоксидин - 1,0-3,5, диметилсульфоксид - 10,0,

глицерин - 10,0; 1,2 пропиленгликоль - 10,0, масло подсолнечное рафинированное - 12,5, воск эмульсионный - 1,0, кислота стеариновая - 1,0, вода для инъекций - до 100%. Использование препарата позволяет повысить эффективность профилактики и лечения эндометрита у коров. 5 пр., 4 табл.

RU 2 4 5 5 9 9 2 C 1

RU 2 4 5 5 9 9 2 C 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2464979

**ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА И СИНДРОМА
МЕТРИТ-МАСТИТ-АГАЛАКТИИ У СВИНОМАТОК**

Патентообладатель(ли): *Шабунина Оксана Сергеевна (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2011143314

Приоритет изобретения 26 октября 2011 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 27 октября 2012 г.

Срок действия патента истекает 26 октября 2031 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU**⁽¹¹⁾ **2 464 979**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/7036 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011143314/15, 26.10.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.10.2011

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 26.10.2011

(45) Опубликовано: 27.10.2012 Бюл. № 30

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: КЛЕНОВА И.Ф. и др. Ветеринарные
препараты в России: Справочник в 2х томах,
Т.1. - М.: Сельхозиздат, 2004, с.482. RU
2333759 C1, 20.09.2008. RU 2259820 C1,
10.09.2005.

Адрес для переписки:
394087, г.Воронеж, ул. Ломоносова, 1146,
ЗАО НПП "Агрофарм", Д.В. Василенко

(72) Автор(ы):
Шабунин Сергей Викторович (RU),
Шапошников Иван Тихонович (RU),
Востройлова Галина Анатольевна (RU),
Рогачева Тамара Евгеньевна (RU),
Близнецова Галина Николаевна (RU),
Ческидова Лилия Валерьевна (RU),
Брюхова Ирина Викторовна (RU),
Панина Татьяна Анатольевна (RU),
Шабунина Оксана Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Шабунина Оксана Сергеевна (RU)

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕРОВОГО ЭНДОМЕТРИТА И
СИНДРОМА МЕТРИТ-МАСТИТ-АГАЛАКТИИ У СВИНОМАТОК

(57) Реферат:
Изобретение относится к области
ветеринарии. Препарат для лечения и
профилактики послеродового эндометрита и
синдрома метрит-мастит-агалактии у
свиноматок, содержащий следующие
компоненты, мас.-%: флорфеникол - 1,0-3,0,
линкомицина гидрохлорид - 1,0-3,0,
диметилсульфоксид - 10,0, глицерин - 10,0, 1,2

пропиленгликоль - 10,0, масло подсолнечное
рафинированное - 12,5, воск эмульсионный -
1,0, кислота стеариновая - 0,9, вода для
инъекций - до 100%. Использование препарата
позволяет повысить эффективность лечения и
профилактики послеродового эндометрита и
синдрома метрит-мастит-агалактии у
свиноматок. 17 табл., 5 пр.

RU 2 4 6 4 9 7 9 C 1

RU 2 4 6 4 9 7 9 C 1

Закрытое акционерное общество научно-производственное предприятие
«Агрофарм»

СТАНДАРТ ЗАО НПП «АГРОФАРМ»

СТО 10590965-0038-2011

СОГЛАСОВАНО

Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и
фитосанитарному надзору


Е.А.Непоклонов
« 25 MAR 2012 » 2012 г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор закрытого
акционерного общества
научно-производственное
предприятие «Агрофарм»


Г.Н. Близнецова
« 25 MAR 2012 » 2012 г.

ВИАПЕН

Технические условия

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «Всероссийский
государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов»
(ФГБУ «ВЕТКИ»),
председатель ТК 454


А.В. Панин
« 10 марта » 2012 г.

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Руководителя
Россельхознадзора



Н. А. ВЛАСОВ

04.07.2016

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Виапена для профилактики и лечения
воспалительных процессов матки у коров и свиноматок

(Организация-разработчик: ООО НПП «Агрофарм»; Россия,
394061, Воронежская обл., г. Воронеж, проспект Труда, д.10, к 18)

I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Виапен (Viapenum).

Международные непатентованные наименования действующих веществ: гидроксиметилхиноксалиндиоксид, норфлоксацин и диметилсульфоксид.

2. Лекарственная форма: эмульсия для внутриматочного введения в аэрозольной упаковке.

Виапен в качестве действующих веществ содержит диоксидин - 15 мг/г, норфлоксацина гидрохлорид - 30 мг/г, диметилсульфоксид – 100 мг/г и вспомогательные вещества: глицерин, 1,2 пропиленгликоль, масло подсолнечное, воск эмульсионный, эмульгатор Дракорин 100 SEP, кислота стеариновая и вода очищенная – до 1 г. В качестве пропеллента используют сжиженный газ хладон 12 или хладон 134а.

3. По внешнему виду препарат представляет собой эмульсию светло-желтого цвета, образующую при выпуске из баллона пену светло-желтого цвета.

Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения – 1,5 года с даты производства.

Запрещается применение Виапена по истечении срока годности.

4. Виапен выпускают расфасованным по 65 и 130 г в алюминиевые аэрозольные баллоны соответствующей вместимости. Каждая единица фасовки сопровождается инструкцией по применению.

5. Виапен хранят в закрытой упаковке производителя в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, вдали от огня и нагревательных приборов, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5°C до 20°C.

6. Виапен следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

8. Отпускается Виапен без рецепта ветеринарного врача.

II. Фармакологические свойства

9. Виапен относится к комбинированным антибактериальным препаратам для внутриматочного введения.

10. Норфлоксацин (1-Этил-6-фтор-1,4-дигидро-4-оксо-7-(1-пиперазинил)-3-хинолинкарбоновой кислоты гидрохлорид), входящий в состав препарата, является антибактериальным средством из группы фторхинолонов, обладает широким спектром антибактериального действия, подавляет рост и развитие грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе *Escherichia coli*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Bordetella*, *Compylobacter*, *Corinebacterium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Mycobacterium* spp., включая пеницилиназопродуцируемые и метицилиноустойчивые штаммы, а также *Mycoplasma* spp.

Механизм действия норфлоксацина заключается в ингибировании активности ДНК-гиразы (II и IV тип топоизомеразы), что приводит к необратимым изменениям и гибели микробной клетки.

Диоксидин (гидрокси-метилхиноксалиндиоксид) – 2,3-Ди (гидрокси-метил) хиноксалин-1,4-диоксид – антибактериальное средство из группы хиноксалина, активен в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, обладает бактерицидным действием. Действие диоксидина обусловлено повреждением биосинтеза ДНК микробной клетки.

Диметилсульфоксид (димексид) оказывает противовоспалительное, противоэкссудативное и местное обезболивающее действие за счет инактивации гидроксильных радикалов и улучшения метаболических процессов в очаге воспаления, способствует проникновению антибактериальных компонентов к ткани матки.

Выводятся норфлоксацин и диоксидин из организма животного в неизменной форме и в виде метаболитов, в основном с мочой, у лактирующих животных – частично с молоком.

Виапен по степени воздействия на организм относится к веществам «малоопасным» (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не оказывает местно-раздражающего действия на ткани матки.

III. Порядок применения

11. Виапен применяют для профилактики и лечения воспалительных процессов матки после родовспоможения при осложненных и патологических родах, оперативного отделения последа, при острых послеродовых эндометритах у коров и свиноматок и при синдроме метрит-мастит-агалактии у свиноматок.

12. Противопоказанием к применению Виапена является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата, в том числе в анамнезе.

Запрещается применять Виапен при выделении у больного животного микроорганизмов, устойчивых к фторхинолонам и хиноксалинам.

13. Виапен вводят внутриматочно по 60 г (1 доза) на животное с интервалом 24 часа:

- с лечебной целью коровам в течение 3-4 дней, свиноматкам – в течение 1-3 дней;

- с профилактической целью после оказания родовспоможения или оперативного отделения последа коровам и свиноматкам – однократно.

Перед введением препарата проводят санитарную обработку наружных половых органов и корня хвоста. При необходимости освобождают полость матки от воспалительного экссудата.

Баллон с препаратом подогревают на водяной бане при температуре $(45\pm 5)^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут и интенсивно встряхивают. Нажимая на распылительную головку, вводят лекарственный препарат в полость матки с помощью катетера для искусственного осеменения, закрепленного на носике головки.

При использовании баллона, содержащего 1 дозу препарата (65 г), на распылительную головку нажимают до полного освобождения баллона, при использовании баллона, содержащего 2 дозы препарата (130 г), первую дозу выпускают в течение 10 секунд, вторую – до полного выхода содержимого баллона.

Перед введением второй дозы препарата, оставшейся в баллоне, катетер для искусственного осеменения обрабатывают 70 % этиловым спиртом.

14. Симптомов передозировки у животных не выявлено.

15. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не установлено.

16. Следует избегать пропуска очередной дозы препарата, так как это может привести к снижению его терапевтической эффективности. В случае пропуска одной дозы применение препарата возобновляют в той же дозировке и по той же схеме.

17. При применении Виапена в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений у коров и свиноматок, как правило, не наблюдается. В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают животному антигистаминные и симптоматические средства.

18. Запрещается применять Виапен одновременно с бактериостатическими антибиотиками (левомецетином, макролидами и тетрациклинами) и нитрофуранами, ввиду возможного снижения антибактериальной активности, а также с теофилином и нестероидными противовоспалительными средствами.

19. Убой коров и свиноматок на мясо разрешается не ранее, чем через 3 суток после последнего введения препарата. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано в корм пушным зверям.

Молоко дойных коров запрещается использовать в пищевых целях ранее, чем через 5 суток после последнего введения Виапена. Молоко, полученное во время лечения и в течение 5 суток после последнего введения препарата, может быть использовано после кипячения в корм животным.

IV. Меры личной профилактики

20. При проведении лечебно-профилактических мероприятий с использованием Виапена следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

21. Во время работы с препаратом запрещается пить, курить и принимать пищу. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

Баллоны следует беречь от ударов и падений. Запрещается вскрывать заполненные и пустые баллоны из-под лекарственного препарата.

При утилизации препарата с истекшим сроком годности баллон полностью освобождают от препарата, нажимая на расплывательную головку. Не допускается разборка как наполненного, так и пустого баллона. Пустые баллоны из-под препарата утилизируют с бытовыми отходами.

22. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Виапеном.

При случайном попадании препарата на кожу или слизистые оболочки его необходимо смыть струей проточной воды. В случае появления аллергических реакций, а также попадания лекарственного препарата внутрь следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или тарную этикетку).

С утверждением настоящей инструкции утрачивает силу инструкция по применению Виапена, утвержденная Россельхознадзором 26 марта 2012 г.

Наименование и адрес
производственной площадки
производителя лекарственного
препарата для ветеринарного
применения

ООО НПП «Агрофарм»; Россия,
394087, Воронежская обл.,
г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114-б

Наименование, адрес организации,
уполномоченной держателем или
владельцем регистрационного
удостоверения лекарственного
препарата на принятие претензий
от потребителя

ООО НПП «Агрофарм»; Россия,
394087, Воронежская обл.,
г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114-б

Номер регистрационного удостоверения *15-3-31.11-3288 НППР-3-31.11/02817*

Закрытое акционерное общество научно-производственное предприятие
«Агрофарм»

СТАНДАРТ ЗАО НПП «АГРОФАРМ»

СТО 10590965-0039-2012

СОГЛАСОВАНО

Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и
фитосанитарному надзору



Е.А. Непоклонов
« » 2012 г.

11 ОКТ 2012

УТВЕРЖДАЮ

Директор закрытого
акционерного общества
научно-производственное
предприятие «Агрофарм»



Г.Н. Блинецова
« 15 » октября 2012 г.

ФЛОРОПЕН

Технические условия

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «Всероссийский
государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов»
(ФГБУ «ВГНКИ»),
председатель ТК 454



А.Н. Панин
« » 2012 г.

Handwritten signatures and initials in blue ink on the left margin.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Флоропена с лечебной и лечебно-профилактической целью при эндометритах и синдроме ММА бактериальной этиологии у свиноматок

(организация-разработчик: ЗАО НПП «Агрофарм», г. Воронеж)

I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Флоропен (Floropenum).

Международные непатентованные наименования действующих веществ: флорфеникол и линкомицин.

2. Лекарственная форма: эмульсия для внутриматочного введения в аэрозольной упаковке.

Лекарственный препарат в 1 г в качестве действующих веществ содержит 25 мг флорфеникола, 15 мг линкомицина гидрохлорида и 100 мг диметилсульфоксида, а также вспомогательные вещества: 100 мг глицерина, 100 мг 1,2 пропиленгликоля, 125 мг масла подсолнечного, 10 мг воска эмульсионного, 10 мг эмульгатора Дракорин 100 SEP, 7,5 мг кислоты стеариновой и воду дистиллированную – до 1 г. В качестве пропеллента используют сжиженный газ хладон 12 или хладон 134а. По внешнему виду препарат представляет собой эмульсию белого цвета, образующую при выпуске из баллона пену белого цвета.

3. Флоропен выпускают расфасованным по 65 и 130 г в алюминиевые аэрозольные баллоны соответствующей вместимости.

4. Флоропен хранят в закрытой упаковке производителя в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, вдали от огня и нагревательных приборов, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5°C до 20°C.

Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения – 1,5 года с даты производства.

Запрещается применение Флоропена по истечении срока годности.

5. Флоропен следует хранить в местах, недоступных для детей.

6. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

II. Фармакологические свойства

7. Флоропен относится к комбинированным антибактериальным препаратам для внутриматочного введения.

Флорфеникол представляет собой производное тиамфеникола, в молекуле которого гидроксильная группа заменена атомом фтора. Флорфеникол обладает широким спектром антибактериального действия, в том числе в отношении *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus* spp., *Omitobacterium rhinotracheae*, *E. coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Corinebacterium pyogenes*, *Shigella* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. Флорфеникол активен против бактерий, которые производят ацетилтрансферазу и являются устойчивыми к хлорамфениколу.

Механизм бактериостатического действия флорфеникола заключается в связывании с рибосомальной субъединицей 70S в протоплазме бактериальной клетки, блокировке фермента пептидилтрансферазы, что приводит к торможению синтеза белка у чувствительных микроорганизмов на уровне рибосом.

Линкомицина гидрохлорид – антибиотик из группы линкозамидов, продуцируемый *Streptomyces lincolnensis* или родственными актиномицетами. Активен в отношении грамположительных кокков (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., в т.ч. *Streptococcus pneumoniae*); *Haemophilus influenzae*; *Bacillus anthracis*, *Mycoplasma* spp., *Bacteroides* spp., *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*. Не действует на *Enterococcus* spp (в т.ч. *Enterococcus faecalis*), грамотрицательные микроорганизмы, грибы, вирусы, простейшие.

Механизм действия линкомицина связан с подавлением синтеза белка в микробной клетке вследствие обратимого связывания с 50S субъединицей рибосом и нарушением образования пептидных связей.

Диметилсульфоксид (димексид) оказывает противовоспалительное, противозэкссудативное и местное обезболивающее действие за счет инактивации гидроксильных радикалов и улучшения метаболических процессов в очаге воспаления, способствует проникновению антибактериальных компонентов к ткани матки.

Выводятся флорфеникол, линкомицин и диметилсульфоксид из организма животного в неизменной форме и частично в виде метаболитов, в основном с желчью и мочой.

Флоропен по степени воздействия на организм согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к веществам малоопасным (4 класс опасности), не оказывает местно-раздражающего действия на ткани матки.

III. Порядок применения

8. Флоропен применяют свиноматкам с лечебной и лечебно-профилактической целью при послеродовом эндометрите и синдроме метрит-мастит-агалактии бактериальной этиологии.

9. Противопоказанием к применению Флоропена является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата, в том числе в анамнезе.

10. Флоропен вводят внутриматочно по 60 г (1 доза) на животное: с лечебной целью в течение 1-3 дней с интервалом 24 часа; с лечебно-профилактической целью после опороса – однократно.

Перед введением препарата проводят санитарную обработку наружных половых органов и корня хвоста. При необходимости освобождают полость матки от воспалительного экссудата.

Баллон с препаратом подогревают на водяной бане при температуре $(45\pm 5)^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут и интенсивно встряхивают. Нажимая на распылительную головку, вводят лекарственный препарат в полость матки с помощью катетера для искусственного осеменения, закрепленного на носике головки.

При использовании баллона, содержащего 1 дозу препарата (65 г), на распылительную головку нажимают до полного освобождения баллона, при использовании баллона, содержащего 2 дозы препарата (130 г), первую дозу выпускают в течение 10 секунд, вторую – до полного выхода содержимого баллона.

Перед введением второй дозы препарата, оставшейся в баллоне, катетер для искусственного осеменения обрабатывают 70% этиловым спиртом.

11. Симптомов передозировки у животных не выявлено.

12. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не установлено.

13. Следует избегать пропуска очередной дозы препарата, так как это может привести к снижению его терапевтической эффективности. В случае пропуска одной дозы применение препарата возобновляют в той же дозировке и по той же схеме.

14. При применении Флоропена в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений у свиноматок, как правило, не наблюдается. В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают животному антигистаминные и симптоматические средства.

15. Запрещается применять Флоропен одновременно с тиамфениколом и хлорамфениколом, с антибиотиками группы пенициллина, цефалоспорины и фторхинолонами.

16. Убой свиноматок на мясо разрешается не ранее, чем через 2 суток после последнего введения препарата. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано в корм пушным зверям.

IV. Меры личной профилактики

17. При проведении лечебно-профилактических мероприятий с использованием Флоропена следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

18. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Флоропеном. При случайном попадании препарата на кожу или слизистые оболочки его необходимо смыть струей проточной воды. В случае появления аллергических реакций, а также попадания лекарственного препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

19. Баллоны следует беречь от ударов и падений. Запрещается вскрывать заполненные и пустые баллоны из-под лекарственного препарата.

При утилизации препарата с истекшим сроком годности баллон полностью освобождают от препарата, нажимая на распылительную головку. Не допускается разборка как наполненного, так и пустого баллона. Пустые баллоны из-под препарата утилизируют с бытовыми отходами.

20. Организация-производитель: ЗАО НПП «Агрофарм», Россия, 394087, Воронежская обл., г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114-б.

Инструкция разработана ЗАО НПП «Агрофарм», Россия, 394087, Воронежская обл., г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114-б.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГБУ «ВГНКИ».

Номер регистрационного удостоверения

Проект

Общество с ограниченной ответственностью
научно-производственное предприятие «Агрофарм»

СТАНДАРТ ООО НП «АГРОФАРМ»

СТО 10590965-0059-2017

УТВЕРЖДАЮ

Директор общества
с ограниченной ответственностью
научно-производственное
предприятие «Агрофарм»



Г.Н. Блинецова
«14» сентября 2017 г.

ПРИМАНЕН

Технические условия

Проект - ИНСТРУКЦИЯ
по применению Примапена для профилактики и лечения
воспалительных процессов матки у коров и свиноматок

(Организация-разработчик: ООО НПП «Агрофарм»; Россия,
394061, Воронежская обл., г. Воронеж, проспект Труда, д. 10, к. 18)

I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Примапен (Primapenum).

Международные непатентованные наименования действующих веществ: гидроксиметилхиноксалиндиоксид, гентамицин и диметилсульфоксид.

2. Лекарственная форма: эмульсия для внутриматочного введения в аэрозольной упаковке.

Примапен в качестве действующих веществ содержит диоксидин - 10 мг/г, гентамицина сульфат - 25 мг/г, диметилсульфоксид - 100 мг/г, облепиховое масло - 10 мг/г и вспомогательные вещества: глицерин, 1,2 пропиленгликоль, масло подсолнечное, воск эмульсионный, эмульгатор Дракорин 100 SEP, кислота стеариновая и вода очищенная - до 1 г. В качестве пропеллента используют сжиженный газ хладон 12 или хладон 134а.

3. По внешнему виду препарат представляет собой эмульсию желтого цвета, образующую при выпуске из баллона пену желтого цвета.

Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения - 1,5 года с даты производства.

Запрещается применение Примапена по истечении срока годности.

4. Примапен выпускают расфасованным по 65 и 130 г в алюминиевые аэрозольные баллоны соответствующей вместимости. Каждая единица фасовки сопровождается инструкцией по применению.

5. Примапен хранят в закрытой упаковке производителя в сухом, защищённом от прямых солнечных лучей месте, вдали от огня и нагревательных приборов, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5°C до 20°C.

6. Примапен следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

8. Отпускается Примапен без рецепта ветеринарного врача.

II. Фармакологические свойства

9. Примапен относится к комбинированным антибактериальным препаратам для внутриматочного введения.

10. Гентамицина сульфат - антибиотик, продуцируемый *Micromonospora purpurea*; является смесью гентамицинов C1, C2 и C1a. Эффективен в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. Высокочувствительны к гентамицину (МПК менее 4 мг/л) грамотри-

рицательные микроорганизмы - *Proteus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp.; грамположительные микроорганизмы - *Staphylococcus* spp. (в т.ч. пенициллинорезистентные); чувствительны при МПК 4-8 мг/л - *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Providencia* spp. Резистентность микроорганизмов к гентамицину развивается медленно, однако штаммы, устойчивые к неомицину и канамицину, могут проявлять устойчивость также и к гентамицину (неполная перекрестная устойчивость). Резистентны (МПК более 8 мг/л) - *Neisseria meningitidis*, *Treponema pallidum*, *Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Providencia rettgeri*. Не действует на анаэробы, грибы, вирусы, простейшие.

Механизм действия гентамицина основан на связывании с 30S субъединицей рибосом и нарушением синтеза белка, препятствуя образованию комплекса транспортной и матричной РНК, при этом происходит ошибочное считывание генетического кода и образование нефункциональных белков. В больших концентрациях нарушает барьерную функцию цитоплазматической мембраны и вызывает гибель микроорганизмов.

Диоксидин (гидрокси-метилхиноксалиндиоксид) – 2,3-Ди (гидрокси-метил) хиноксалин-1,4-диоксид – антибактериальное средство из группы хиноксалина, активен в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, обладает бактерицидным действием. Действие диоксидина обусловлено повреждением биосинтеза ДНК микробной клетки.

Диметилсульфоксид (димексид) оказывает противовоспалительное, противоэкссудативное и местное обезболивающее действие за счет инактивации гидроксильных радикалов и улучшения метаболических процессов в очаге воспаления, способствует проникновению антибактериальных компонентов в ткани матки.

Выводятся гентамицин и диоксидин из организма животного в неизменной форме, в основном с мочой, у лактирующих животных – частично с молоком.

Примапен по степени воздействия на организм относится к веществам «малоопасным» (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не оказывает местно-раздражающего действия на ткани матки.

III. Порядок применения

11. Примапен применяют для профилактики и лечения воспалительных процессов матки после родовспоможения при осложненных и патологических родах, оперативного отделения последа, при острых послеродовых эндометритах у коров и свиноматок и при синдроме метрит-мастит-агалактии у свиноматок.

12. Противопоказанием к применению Примапена является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата, в том числе в анамнезе.

Запрещается применять Примапен при выделении у больного животного микроорганизмов, устойчивых к аминогликозидам и хиноксалинам.

13. Примапен вводят внутриматочно по 60 г (1 доза) на животное с интервалом 24 часа:

- с лечебной целью коровам в течение 3-4 дней, свиноматкам – в течение 1-3 дней;

- с профилактической целью после оказания родовспоможения или оперативного отделения последа коровам и свиноматкам – однократно.

Перед введением препарата проводят санитарную обработку наружных половых органов и корня хвоста. При необходимости освобождают полость матки от воспалительного экссудата.

Баллон с препаратом подогревают на водяной бане при температуре $(45\pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 10 минут и интенсивно встряхивают. Нажимая на распылительную головку, вводят лекарственный препарат в полость матки с помощью катетера для искусственного осеменения, закрепленного на носике головки.

При использовании баллона, содержащего 1 дозу препарата (65 г), на распылительную головку нажимают до полного освобождения баллона, при использовании баллона, содержащего 2 дозы препарата (130 г), первую дозу выпускают в течение 10 секунд, вторую – до полного выхода содержимого баллона.

Перед введением второй дозы препарата, оставшейся в баллоне, катетер для искусственного осеменения обрабатывают 70% этиловым спиртом.

14. Симптомов передозировки у животных не выявлено.

15. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не установлены.

16. Препарат не применяется беременным животным. Ограничения к использованию в период лактации отсутствуют.

17. Следует избегать пропуска очередной дозы препарата, так как это может привести к снижению его терапевтической эффективности. В случае пропуска одной дозы применение препарата возобновляют в той же дозировке и по той же схеме.

18. При применении Примапена в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений у коров и свиноматок, как правило, не наблюдается. В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают животному антигистаминные и симптоматические средства.

19. Запрещается применять Примапен одновременно с другими препаратами, оказывающими ото- или нефротоксическое действие. С осторожностью - при недостаточности функции надпочечников, при легких нарушениях выделительной функции почек, одновременно с петлевыми диуретиками, миорелаксантами.

20. Убой коров и свиноматок на мясо разрешается не ранее, чем через 3 суток после последнего введения препарата. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано в корм пушным зверям.

Молоко дойных коров запрещается использовать в пищевых целях ранее, чем через 5 суток после последнего введения Примапена. Молоко, по-

лученное во время лечения и в течение 5 суток после последнего введения препарата, может быть использовано после кипячения в корм животным.

IV. Меры личной профилактики

21. При проведении лечебно-профилактических мероприятий с использованием Примапена следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

22. Во время работы с препаратом запрещается пить, курить и принимать пищу. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

Баллоны следует беречь от ударов и падений. Запрещается вскрывать заполненные и пустые баллоны из-под лекарственного препарата.

При утилизации препарата с истекшим сроком годности баллон полностью освобождают от препарата, нажимая на распылительную головку. Не допускается разборка как наполненного, так и пустого баллона. Пустые баллоны из-под препарата утилизируют с бытовыми отходами.

23. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Примапеном.

При случайном попадании препарата на кожу или слизистые оболочки его необходимо смыть струей проточной воды. В случае появления аллергических реакций, а также попадания лекарственного препарата внутрь следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или тарную этикетку).

Наименование и адрес
производственной площадки
производителя лекарственного
препарата для ветеринарного
применения

ООО НПП «Агрофарм»; Россия,
394087, Воронежская обл.,
г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114-б

Директор ООО НПП «Агрофарм»



Близнецова Г.Н.