

32

На правах рукописи

Игнатова Анна Дмитриевна



**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ИНЪЕКЦИОННОЙ ФОРМЫ КОМПЛЕКСНОГО
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ
КЛИНДАМИЦИНА И СПЕКТИНОМИЦИНА**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2007

1

Работа выполнена в отделе качества и стандартизации фармакологических лекарственных средств для животных Федерального государственного учреждения «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГУ «ВГНКИ») Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

Научный руководитель:

кандидат ветеринарных наук, доцент
Виолин Б.В.

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Преображенский С.Н.;

кандидат биологических наук
Сорокин М.В.

Ведущая организация - Федеральное государственное учреждение «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» Россельхознадзора МСХ РФ (г. Казань).

Защита состоится «12» апреля 2007 года в 15⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д. 220.011.01 в Федеральном государственном учреждении «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГУ «ВГНКИ») по адресу: Россия, 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д.5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ВГНКИ».

Автореферат разослан «27» февраля 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук, доцент,
Заслуженный ветеринарный врач РФ


Козырев Ю.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Респираторные заболевания телят наряду с желудочно-кишечными инфекциями занимают основное место в структуре заболеваний молодняка крупного рогатого скота. Убытки, причиняемые бронхопневмонией, складываются из отставания в росте, снижения привесов, затрат на лечение и профилактику заболевания, смертности животных (Г.К. Волков, В.Д. Баранников, 1995; О. Гамелин, 2002; Е.А. Капитонова, А.С. Оспенцева, А.С. Кашин, 2003). В отдельных хозяйствах гибель молодняка в совокупности с вынужденным убоем достигает 40-55%, а прирост массы тела у больных и переболевших животных снижается в 2-3 раза (Л. Слацина, 1982; В. Ардаатовский, 1996; Е.С. Воронин, А.Г. Шахов, 1999; М. Полюс, Б. Гранжан, 2004).

Бронхопневмония молодняка крупного рогатого скота представляет собой сложный инфекционный процесс, в котором на разных стадиях развития патологии принимают участие вирусы, микоплазмы, ассоциации бактерий (стафилококки, стрептококки, пастереллы, гемофилус, эшерихии, сальмонеллы и др.) в различных сочетаниях (И.И. Фельдман, М.Н. Шадрина, 1983; В.М. Данилевский, 1985; А.П. Брылин, 1986; С.К. Димов, В.И. Сайченко, 1997; S.B. Houghton, R.N. Gourlay, 1983; U. Fogarty, P.J. Quinn, J. Hannan, 1988).

Химиотерапия респираторных заболеваний, как правило, направлена на подавление патогенной микрофлоры. Широкое и часто нерациональное применение антибактериальных лекарственных средств при бронхопневмонии телят привело к распространению резистентных микроорганизмов, что является основным фактором, ограничивающим эффективность лечения (А. Жамантаев, 1984; В.Ф. Ковалев, И.Б. Волков, Б.В. Виолин, 1988; Л.И. Ефанова, 1997).

Учитывая, что применение научно-обоснованных комбинаций антибактериальных веществ является важным направлением современной химиотерапии бактериальных инфекций, позволяющим преодолеть проблему антибиотикорезистентности, значительно расширить спектр антимикробного действия, а также уменьшить токсическое влияние каждого антибиотика в комбинации на организм животных, нам представлялось актуальным разработать удобный в применении, малотоксичный комплексный препарат, активный в отношении основных бактериальных возбудителей респираторных заболеваний телят.

Клиндамицин - антибиотик группы линкозамидов, высоко активный в отношении грамположительной микрофлоры, микоплазм и анаэробов, в течение 30 лет успешно используется в медицине для лечения бактериальных инфекций респираторного тракта (А.Р. Ball, 1981; Т. Baragry, 1992; R.E. Lewis, M.E. Klepser, 1998). Учитывая, что этот антибиотик ранее не применялся для лечения бактериальных инфекций животных в Российской Федерации и не обладает перекрестной резистентностью с большинством других антибактериальных препаратов, он был выбран в качестве одного из действующих веществ комплексного антибактериального препарата для лечения респираторных заболеваний телят.

Обладая высокой активностью в отношении грамположительной микрофлоры и анаэробов, клиндамицин не действует на грамотрицательные бактерии

(G.F. Burrows, 1980; Spizek J., Resanka T., 2004). Поэтому, учитывая ассоциативный характер этиологии респираторных инфекций, для расширения спектра антибактериального действия в состав комплексного препарата был введен спектиномицин – антибиотик, по своей структуре и механизму действия сходный с аминогликозидами, однако не обладающий присущим им нефро- и ототоксическим действием, подавляющий развитие эшерихий, пастерелл, сальмонелл и других грамотрицательных микроорганизмов (W.T. Holloway, 1982, T. Baggoty, 1992; J.F. Prescott, J.D. Baggot, 1993), а также, как было установлено нами в опытах *in vitro*, усиливающий антибактериальные свойства клиндамицина.

Цели и задачи исследования. Разработать на основе клиндамицина и спектиномицина новый комплексный антибактериальный препарат для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Для этого было необходимо:

- обосновать состав и разработать лекарственную форму комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина;
- разработать требования к качеству препарата и методы его контроля;
- изучить стабильность препарата в процессе хранения;
- изучить острую токсичность препарата в опытах на лабораторных животных;
- изучить субхроническую токсичность препарата в опытах на лабораторных животных и телятах;
- изучить фармакокинетику клиндамицина и спектиномицина в организме телят после применения препарата;
- определить сроки выведения остаточных количеств клиндамицина и спектиномицина из организма телят после курсового применения препарата;
- определить терапевтическую эффективность комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина в производственных условиях и разработать схему его применения для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Научная новизна. Впервые разработан комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина в форме раствора для инъекций для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Установлено взаимоусиливающее действие комбинации клиндамицина и спектиномицина в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов; изучены фармако-токсикологические свойства и определена терапевтическая эффективность комплексного антибактериального препарата при лечении респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Практическая значимость работы.

Разработан и предложен для ветеринарной практики новый комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Разработаны методы контроля качества комплексного антибактериального препарата и установлен срок его годности.

Определены сроки возможного использования в пищу человеку мяса и субпродуктов телят после применения комплексного антибактериального препарата.

Разработана схема применения комплексного антибактериального препарата при лечении респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Разработана нормативная документация - технические условия и инструкция по применению комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Научное обоснование состава комплексного антибактериального препарата.
- Качественные и количественные методы контроля комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина.
- Результаты изучения стабильности комплексного антибактериального препарата при хранении.
- Результаты изучения острой и субхронической токсичности комплексного антибактериального препарата в опытах на лабораторных животных и телятах.
- Результаты изучения фармакокинетики клиндамицина и спектиномицина и определения сроков выведения остаточных количеств антибиотиков из организма телят после применения препарата.
- Результаты определения терапевтической эффективности комплексного антибактериального препарата при лечении респираторных заболеваний бактериальной этиологии у телят.
- Практические предложения по применению комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина в ветеринарии.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 4 научные работы.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 163 листах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение, выводы, практические предложения, список литературы. Работа иллюстрирована 31 таблицей, 6 рисунками, 3 графиками, 6 диаграммами и 7 фотографиями. Список литературы содержит 224 источника, в том числе 105 иностранных. Приложение на 9 листах.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в течение 2003-2007 г.г. В опытах было использовано 222 беспородные белые мыши обоего пола массой 18-22 г и 30 телят массой 45-180 кг. Клиническое испытание препарата в производственных условиях проведено на 577 телятах.

Определение чувствительности стафилококков, стрептококков, эшерихий, сальмонелл, пастерелл к клиндамицину, спектиномицину и их комбинации.

ям проводили на мясо-пептонном агаре (МПА) методом серийных разведений в плотной питательной среде (С.М. Навашин, И.П. Фомина, 1982).

В качестве тест-микроорганизмов использовали музейные культуры и выделенные от больных животных и птиц изоляты: *Escherichia coli* (сероварианты О9:К30, О2, О78, О4, О111, О139, О8, О18, О20, О15, О1; изоляты 1, 3, 4, 6/3, 4/1, 6/2, 1/5, №7, №27), *Salmonella enteritidis* (изоляты 1, 4, 15, G, 7, 2, 9/5, 2-32, 3/5, №27, №11), *Salmonella thyphimurium* (изолят 371), *Salmonella dublin* (изоляты МВА, 373, 2301, 315, ВНИИЗЖ), *Salmonella gallinarum-pullorum* (изоляты 24 КСТ, 10 Б, ЛБ, REV1), *Pasteurella multocida* (изоляты 1-8), *Staphylococcus aureus* (изоляты 1-20), *Streptococcus* spp. (изоляты 1-3).

За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) клиндамицина, спектиномицина и их комбинаций принимали наименьшую концентрацию антибиотиков, дающую полную задержку роста культуры на поверхности агара.

Разработка лекарственной формы.

Для производства инъекционной лекарственной формы было необходимо: выбрать соответствующий растворитель с учетом физико-химических свойств действующих веществ, обеспечивающий их полное растворение; выбрать консервант, позволяющий сохранять стерильность инъекционной лекарственной формы при многократном отборе препарата из флакона; установить оптимальное значение рН раствора, позволяющее обеспечить стабильность инъекционной лекарственной формы в течение срока годности, а также обеспечить наименьшее местно-раздражающее действие препарата при внутримышечном введении.

Для стандартизации и контроля качества комплексного антибактериального препарата, а также изучения его стабильности при хранении в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи XI к инъекционным лекарственным формам были предложены методики качественного и количественного контроля препарата с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения подлинности и массовой доли клиндамицина фосфата и бензилового спирта, метода тонкослойной хроматографии для определения подлинности спектиномицина гидрохлорида и микробиологического метода диффузии в агар для определения массовой доли спектиномицина гидрохлорида в препарате.

Стабильность комплексного антибактериального препарата изучали в соответствии с «Временной инструкцией по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре». Параллельно изучали стабильность препарата в условиях естественного хранения при комнатной температуре ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) и при многократном отборе раствора из флакона после первого прокола ла пробки иглой.

Образцы препарата, расфасованные по 20 мл в стеклянные флаконы, помещали для «ускоренного старения» в термостаты при температурах 37 и 50°C и исследовали через промежутки времени, соответствующие 6, 12, 18 и 24 месяцам хранения. При хранении препарата в естественных условиях исследования образцов проводили через 3, 6, 9, 12 и 18 месяцев после закладки на хране-

ние, а при многократном отборе препарата из флакона образцы исследовали сразу после прокола пробки и затем через 7, 14, 21 и 28 суток.

Оценку качества препарата в процессе хранения при повышенной и комнатной температуре проводили по показателям: внешний вид, прозрачность, окраска и pH раствора, наличие механических примесей, объем наполнения, подлинность и массовая доля клиндамицина фосфата, спектиномицина гидрохлорида и бензилового спирта, пирогенность и стерильность.

При многократном отборе препарата из флакона в течение 28 суток оценку его качества проводили по показателям: массовая доля клиндамицина фосфата, спектиномицина гидрохлорида и бензилового спирта, pH раствора, стерильность.

Острую токсичность препарата изучали на 102 беспородных белых мышах обоего пола массой 18-20 г. Препарат вводили однократно перорально в дозах: 21200, 26500, 31800, 42400, 53000 и 63000 мг/кг; подкожно в дозах: 10600, 13250, 15900, 18550 и 21200 мг/кг; внутрибрюшинно в дозах: 1590, 2650, 5300, 7950, 9540 и 10600 мг/кг. Каждую дозу препарата испытывали на 6 мышах.

Наблюдение за клиническим состоянием подопытных животных проводили в течение 14 суток после введения препарата, учитывали количество погибших мышей в зависимости от дозы и рассчитывали токсикологические параметры (LD_0 , LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} и LD_{100}) по методу Литчифилда-Уилкоксона (М.Л. Беленький, 1969).

Субхроническую токсичность комплексного антибактериального препарата изучали на 120 беспородных белых мышах обоего пола массой 18-22 г. Подопытных животных по принципу аналогов разделили на 4 группы по 30 мышей.

Препарат мышам вводили ежедневно в течение 20 суток подкожно в следующих дозах: 1 группе - $1/5 LD_{50}$ (3262 мг/кг массы животного); 2 группе - $1/10 LD_{50}$ (1631 мг/кг массы животного); 3 группе - $1/20 LD_{50}$ (815 мг/кг массы животного); 4 группе (контрольная) - 0,2 мл физиологического раствора.

Наблюдение за клиническим состоянием животных вели на протяжении 31 суток от начала опыта. Определение массы тела у мышей проводили до начала введения препарата и на 7, 14, 21 и 31 сутки опыта.

Для выявления возможного токсического действия комплексного антибактериального препарата на организм животных на 21 и 31 сутки от начала введения на 10 мышах каждой группы проводили определение детоксицирующей функции печени с помощью гексеналовой пробы. Гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг массы тела в форме 0,2% раствора. Учет времени сна начинали с момента принятия мышами бокового положения и заканчивали при появлении координированных движений. В эти же сроки на других 10 мышах каждой группы изучали общекомпенсаторные реакции организма с помощью функциональной пробы плаванием и определяли относительную массу (коэффициенты) внутренних органов: печени, почек, сердца, легких, селезенки,

учитывая, что изменение массы органа, как правило, ведет к существенному изменению его функциональных способностей (В.Н. Гацура, 1976).

Субхроническую токсичность комплексного антибактериального препарата изучали на 16 клинически здоровых телятах массой 60-70 кг, разделенных по принципу аналогов на 4 группы по 4 головы в каждой. Препарат вводили телятам внутримышечно 1 раз в сутки, в течение 20 дней в следующих дозах: 1 группе – пятикратную терапевтическую дозу (75 мг/кг массы тела); 2 группе – двух с половиной кратную терапевтическую дозу (37,5 мг/кг массы тела); 3 группе – терапевтическую дозу (15 мг/кг массы тела); 4 группе – 10 мл физиологического раствора (контроль).

В процессе опыта вели наблюдение за телятами и учитывали общеклиническое состояние, болезненность в месте введения препарата, аппетит, отправление физиологических функций. Клиническое и биохимическое исследование крови проводили до начала введения препарата, на 11 и 21 сутки опыта. О функциональном состоянии печени судили по изменению активности гепатоспецифических ферментов (аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинотрансферазы (АЛТ)) и содержанию общего билирубина в сыворотке крови. Функциональное состояние почек оценивали по содержанию в сыворотке крови креатинина и мочевины. На 21 сутки опыта проводили убой телят с целью проведения гистологического исследования органов и тканей животных.

Фармакокинетику клиндамицина и спектиномицина в сыворотке крови после однократного внутримышечного введения комплексного антибактериального препарата в терапевтической дозе 15 мг/кг массы тела изучали на 5 клинически здоровых телятах массой 45-60 кг.

Все животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания и в течение 14 дней до опыта и на протяжении опыта не получали никаких лекарственных препаратов.

Образцы крови отбирали в объеме 10 мл до введения и через 15; 30; 45 минут; 1; 1,5; 2; 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24 ч после введения препарата. После центрифугирования крови в течение 10 минут при 2000 об/мин. сыворотку отбирали в пробирки и замораживали при температуре минус 18 °С до исследования.

Определение клиндамицина в сыворотке крови проводили с использованием микробиологического метода диффузии в агар с тест-культурой *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (В.Ф. Ковалев и др., 1988). Предел количественного определения – 0,08 мкг/мл. Определение спектиномицина в сыворотке крови проводили после дериватизации предложенным нами методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с UV-детектированием. Предел количественного определения – 0,1 мкг/мл.

Определение сроков выведения остаточных количеств клиндамицина и спектиномицина после курсового применения препарата проводили на 9 телятах массой 160-180 кг. Животным один раз в сутки внутримышечно в течение 5 дней вводили комплексный антибактериальный препарат в дозе 15 мг/кг массы тела.

На 3, 14 и 21 сутки после последнего введения препарата проводили убой 3 телят. От каждого животного отбирали для исследования пробы печени, почек, мышечной ткани, мышечной ткани из места инъекции, жира, легких, сердца массой около 50 г, а также сыроворотку крови.

Содержание клиндамицина и спектиномицина в биосубстратах определяли теми же методами, что и при изучении фармакокинетики.

Терапевтическую эффективность комплексного антибактериального препарата изучали на 577 телятах при бронхопневмонии бактериальной этиологии в хозяйствах Московской, Белгородской и Свердловской областей.

При постановке диагноза учитывали эпизоотическую ситуацию в хозяйствах, клиническую картину заболевания, результаты патологоанатомического, бактериологического исследований, проведенных областными ветлабораториями.

Терапевтическую эффективность препарата на основе клиндамицина и спектиномицина изучали в сравнении с комплексными антибактериальными препаратами в форме раствора для инъекций: зинапримом (сульфаметазин + триметоприм); сульфетримом (эритромицин + триметоприм + сульфадиметоксин) и ультрადиазином (сульфадиазин + триметоприм), зарегистрированными в Российской Федерации для лечения респираторных заболеваний крупного рогатого скота бактериальной этиологии.

Больные животные были разделены на группы по принципу аналогов, учитывая возраст, пол, массу тела, тяжесть заболевания. Все телята находились в одинаковых условиях кормления и содержания.

Комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина телятам вводили внутримышечно. Препараты сравнения применяли в соответствии с утвержденными Россельхознадзором инструкциями по применению. Для определения наиболее эффективной дозы комплексного антибактериального препарата первоначально были испытаны следующие схемы применения: 0,5 мл/10 кг массы тела (7,5 мг/кг по сумме действующих веществ) один раз в сутки; 1 мл/10 кг массы тела (15 мг/кг по сумме действующих веществ) один раз в сутки; 1,25 мл/10 кг массы тела (18,75 мг/кг по сумме действующих веществ) один раз в сутки. Дальнейшие исследования продолжили с наиболее эффективными дозами.

За подопытными животными вели ежедневные клинические наблюдения, регистрируя температуру тела, частоту дыхания и сердечных сокращений. Проводили аускультацию животных. При оценке терапевтической эффективности комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина учитывали: сохранность животных, а также продолжительность курса лечения.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики, используя руководство Ю.С. Малеты и В.В. Тарасова (1982).

Результаты исследований

Антибактериальная активность клиндамицина, спектиномицина и их комбинаций. Полученные в опытах *in vitro* результаты (таблица 1) свидетельствуют о высокой чувствительности грамположительных микроорганизмов к клиндамицину. Минимальная подавляющая концентрация антибиотика, действующая на 90% изолятов стафилококков (МПК₉₀), составила 0,155 мкг/мл, а на 50% (МПК₅₀) – 0,076 мкг/мл. Для стрептококков эти показатели соответственно были равны 0,31 мкг/мл и 0,155 мкг/мл.

Табл. 1. Чувствительность микроорганизмов
к клиндамицину и спектиномицину

Род микроорганизмов	МПК, мкг/мл			
	Клиндамицин		Спектиномицин	
	МПК ₅₀	МПК ₉₀	МПК ₅₀	МПК ₉₀
Staphylococcus (n=20)	0,076	0,155	25,0	25,0
Streptococcus (n=3)	0,155	0,31	6,25	12,5
Escherichia (n=22)	>200	>200	12,5	25,0
Salmonella (n=21)	>200	>200	12,5	25,0
Pasteurella (n=8)	>200	>200	6,25	12,5

Низкую активность клиндамицина в отношении грамотрицательных микроорганизмов компенсирует второй компонент препарата - спектиномицин. В наших исследованиях МПК₉₀ спектиномицина находилась в диапазоне 12,5-25,0 мкг/мл, а МПК₅₀ – 6,25-25,0 мкг/мл, причем наибольшей активностью антибиотик обладал в отношении пастерелл и стрептококков.

При изучении антибактериального эффекта сочетания клиндамицина и спектиномицина *in vitro* нами было установлено, что минимальная подавляющая концентрация каждого из антибиотиков в присутствии другого снижается в 2-8 раз в зависимости от вида микроорганизма.

Например, в присутствии спектиномицина в концентрациях 3,12-6,25 мкг/мл МПК клиндамицина в отношении стафилококков снижается до 0,019 мкг/мл (в 8 раз). И наоборот, наличие в комбинации клиндамицина в концентрациях 0,019-0,038 мкг/мл снижает МПК спектиномицина в отношении стафилококков до 3,12 мкг/мл (в 8 раз).

При добавлении к спектиномицину клиндамицина в концентрации 100 мкг/мл МПК первого в отношении пастерелл снижается до 1,56 мкг/мл (в 8 раз). В то же время, присутствие спектиномицина в концентрациях 3,12-6,25 мкг/мл снижает МПК клиндамицина в отношении пастерелл до 50 мкг/мл (в 4 раза).

Взаимоусиливающий эффект клиндамицина и спектиномицина в комбинации, вероятно, обусловлен тем, что они блокируют различные стадии белкового синтеза в бактериальной клетке. Так, спектиномицин связывается с 30S

субъединицей рибосомы, подавляя инициацию синтеза белка, в то время как клиндамицин связывается с 50S субъединицей рибосомы, нарушая процесс элонгации пептидной цепи.

Установленное взаимоусиливающее действие комбинации клиндамицина и спектиномицина в отношении изученных нами этиологически значимых в развитии респираторных заболеваний телат микроорганизмов, а также расширение спектра антибактериальной активности при их совместном применении позволили включить эти антибиотики в состав комплексного препарата.

При разработке лекарственной формы препарата учитывали, что при септических и респираторных инфекциях наиболее предпочтительно парентеральное введение антибактериальных лекарственных средств, что позволяет обеспечить быстрое достижение терапевтического эффекта за счет поступления действующего вещества в кровь, а затем в органы и ткани, минуя желудочно-кишечный тракт. Поэтому комплексный антибактериальный препарат предложен нами в форме раствора для инъекций.

По внешнему виду лекарственное средство представляет собой бесцветный или светло-желтый прозрачный раствор, содержащий 5% клиндамицина фосфата и 10% спектиномицина гидрохлорида.

Разрешенные Государственной Фармакопеей вспомогательные вещества в составе препарата (бензиловый спирт – 1%, гидроокись натрия для коррекции рН до 3,8-5,5, вода для инъекций до 100%) обеспечивали хорошую растворимость действующих веществ, стерильность препарата при многократном отборе раствора из флакона, стабильность на протяжении всего срока хранения, а также наименьшее местно-раздражающее действие препарата при внутримышечном введении.

Для стандартизации и контроля качества комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина, а также определения его стабильности при хранении нами были предложены количественные методы контроля, позволяющие определить содержание одного антибиотика в присутствии второго.

Для определения подлинности и массовой доли клиндамицина фосфата, как наименее стабильного компонента, а также бензилового спирта предложен метод высокoeffективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Этот метод позволяет определить не только количество действующего компонента, но и обнаружить, в случае их наличия, продукты его распада.

Подобранные нами оптимальные условия хроматографирования (длина волны – 210 нм и элюент – ацетонитрил/раствор калия фосфорнокислого двузамещенного – 350/800 мл) позволяют одновременно идентифицировать и количественно определять в одной пробе клиндамицин и бензиловый спирт, что значительно сокращает время анализа. Установлено, что при подобранных условиях время выхода пика клиндамицина составляет 3-4 минуты, бензилового спирта – 6-7 минут.

Учитывая то, что клиндамицина фосфат микробиологически не активен, его присутствие в препарате не влияет на результаты количественного опреде-

ления спектиномицина гидрохлорида микробиологическим методом диффузии в агар с тест-культурой *Escherichia coli* ATCC 26.

Для определения подлинности спектиномицина мы предложили методику хроматографии в тонком слое на пластинках Silufol. Наилучшие результаты дала система растворителей этиловый спирт – аммиак водный (25%) в соотношении 2 : 1. Пятно, полученное при хроматографировании на пластине Silufol спектиномицина в исследуемом образце препарата, соответствовало пятну стандарта спектиномицина по величине и высоте прохождения ($R_f \sim 0,23$).

На основании проведенных исследований были установлены требования к качеству готовой инъекционной лекарственной формы препарата на основе клиндамицина и спектиномицина, которые вошли в технические условия (таблица 2).

Табл. 2. Требования к качеству комплексного антибактериального препарата

Наименование показателя	Характеристики и нормы
Внешний вид	Бесцветный или светло-желтый прозрачный раствор
Прозрачность раствора	Должен выдерживать сравнение с растворителем или эталоном № I
Окраска раствора	Не должен по интенсивности превышать эталон № 26
Объем заполнения, мл	Должен быть не менее номинального
pH раствора	3,8-5,5
Наличие механических включений	Должно соответствовать установленным требованиям
Подлинность спектиномицина гидрохлорида	Пятно спектиномицина в исследуемом образце препарата должно соответствовать пятну стандарта спектиномицина по величине и высоте прохождения ($R_f \sim 0,23$)
Подлинность клиндамицина фосфата и бензилового спирта	Время выхода пиков клиндамицина и бензилового спирта в образце препарата должно соответствовать времени выхода пиков в стандартном образце
Массовая доля спектиномицина гидрохлорида, %	9,0-11,0
Массовая доля клиндамицина фосфата, %	4,5-5,5
Массовая доля бензилового спирта, %	0,9-1,1
Пирогенность в тест-дозе 1 мл/кг массы кролика	Должен быть апирогенен
Стерильность	Должен быть стерилин

Предложенные качественные и количественные методы контроля комплексного антибактериального препарата, позволяют обеспечить оптимальный уровень качества лекарственного средства в процессе его производства, хранения и применения.

Результаты изучения стабильности трех экспериментальных серий лекарственного средства показали, что метод «ускоренного старения» не может быть использован для изучения стабильности инъекционной формы препарата вследствие деградации клиндамицина фосфата в условиях повышенной температуры.

Качественные и количественные показатели препарата при хранении его в условиях комнатной температуры в течение 18 месяцев и при многократном отборе раствора из флакона в течение 28 дней оставались без изменения. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было определено, что продуктов распада клиндамицина, наименее стабильного компонента в препарате, в период вышеуказанных сроков не образуется.

Результаты проведенных исследований позволили включить в инструкцию по применению и технические условия срок годности препарата 1,5 года и срок использования флакона с препаратом после его первого вскрытия - 4 недели при хранении при температуре не выше 25°C.

В результате изучения острой токсичности комплексного антибактериального препарата на лабораторных животных нами установлено (таблица 3), что независимо от пути введения, по параметрам острой токсичности согласно ГОСТ 12.1.007-76 препарат относится к IV классу опасности – веществам малоопасным ($LD_{50} > 5000$ мг/кг), а в соответствии с классификацией Медведя (1977) - к 4-му классу токсичности - малотоксичным соединениям ($LD_{50} > 1000$ мкг/кг).

Табл. 3. Токсикологические параметры препарата

Максимально переносимая доза, мг/кг	ЛД ₁₆ , мг/кг	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЛД ₈₄ , мг/кг	Абсолютно смертельная доза, мг/кг
Внутрибрюшинно				
1590	4305	8878 (5969 ÷ 10399)	11450	10600
Подкожно				
10600	13813	16309 (14562 ÷ 18266)	18806	21200
Перорально				
21200	28260	47091 (37976 – 58392)	65921	>65921

При изучении субхронической токсичности препарата на лабораторных животных было определено, что суммарно введенная в течение 20 дней доза

препарата (65240 мг/кг) не вызывала гибели мышей, поэтому точно рассчитать коэффициент кумуляции не представлялось возможным. Но, учитывая, что эта доза в 4 раза больше среднесмертельной дозы (16309 мг/кг) при однократном введении, по классификации Л.И. Медведя (1968) препарат предположительно можно отнести к веществам с умеренной кумуляцией ($K_{\text{кум}}$ 3-5).

Достоверное ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой снижение прироста массы мышей опытных групп, установленное на 14 и 21 сутки, при введении препарата во всех испытанных дозах свидетельствует об угнетении темпов анаболических процессов в организме грызунов при длительном применении лекарственного средства.

Нарушение компенсаторно-приспособительных способностей организма мышей (таблица 4) при введении препарата в дозе $1/5 \text{ ЛД}_{50}$ (3262 мг/кг) выражалось достоверным ($p < 0,05$) по сравнению с контролем уменьшением продолжительности их плавания на 21 день опыта, что, очевидно, связано с угнетением препаратом в наивысшей дозе биохимических реакций в печени, ведущем к снижению скорости утилизации продуктов обмена, образующихся вследствие мышечной нагрузки.

Табл. 4. Влияние комплексного антибактериального препарата на функциональное состояние организма мышей

№ групп-пы	Доза препарата	Продолжительность плавания (минуты)		Время сна (минуты)	
		21 сутки	31 сутки	21 сутки	31 сутки
1	$1/5 \text{ ЛД}_{50}$	9,36±0,46*	14,53±0,46	37,26±1,88*	32,29±2,03
2	$1/10 \text{ ЛД}_{50}$	12,51±0,54	15,26±0,49	39,10±3,17*	32,34±2,37
3	$1/20 \text{ ЛД}_{50}$	12,56±0,67	15,40±0,44	32,10±1,53	33,18±2,17
4	Контроль	13,15±0,55	15,00±0,50	28,31±2,30	30,23±2,17

* - $p < 0,05$

При оценке детоксицирующей функции печени было установлено, что препарат в дозах $1/5$ (3262 мг/кг) и $1/10 \text{ ЛД}_{50}$ (1631 мг/кг) вызывает функциональные изменения, выражающиеся достоверным ($p < 0,05$) по сравнению с контролем увеличением продолжительности гексеналового сна мышей на 21 день опыта (таблица 4). Видимо, высокие дозы препарата ингибируют активность микросомальных ферментов гепатоцитов, что приводит к снижению темпов разрушения гексенала, проявляющемся в увеличении времени сна. Увеличение ($p < 0,05$) весовых коэффициентов печени мышей при длительном введении препарата в этих же дозах ($1/5$ и $1/10 \text{ ЛД}_{50}$) подтвердило его гепатотоксическое влияние на организм грызунов.

Все изменения в организме мышей, вызванные двадцатидневным введением комплексного антибактериального препарата в высоких дозах, носили обратимый характер, о чем свидетельствует восстановление функций организма животных до нормы через 10 суток после прекращения применения препарата.

В процессе изучения субхронической токсичности комплексного антибактериального препарата на телятах гибели животных не отмечали.

Физиологические показатели (температура тела, частота дыхательных движений и сердечных сокращений) телят, а также основные клинические показатели крови (таблица 5) (за исключением количества тромбоцитов) в течение опыта находились в пределах физиологической нормы и достоверно ($p > 0,05$) не отличались от контроля.

Двадцатидневное введение препарата в двух с половиной кратной терапевтической дозе приводило к достоверному ($p < 0,05$) по сравнению с контролем уменьшению количества тромбоцитов в крови животных.

Табл. 5. Клинические показатели крови телят на 21 сутки опыта

Исследуемые показатели	Группа животных			
	Пятикратная терапевтическая доза	2,5-кратная терапевтическая доза	Терапевтическая доза	Контроль
Гемоглобин, г/л	107,00±7,24	108,00±5,23	107,75±9,23	101,50±5,43
Гематокрит, %	28,48±2,08	31,43±2,13	29,98±2,66	28,03±0,96
Цветной показатель	0,90±0,09	0,85±0,06	0,79±0,11	0,86±0,12
Эритроциты, млн./мкл	8,02±0,35	8,29±0,54	7,67±0,37	7,36±0,54
Лейкоциты, тыс./мкл	7,00±0,90	8,20±0,34	7,80±0,76	6,98±0,45
Тромбоциты, тыс./мкл	458,75±76,52	392,33±32,13*	425,00±26,67	454,25±28,40

*- $p < 0,05$

Учитывая, что данный эффект не являлся дозозависимым, и количество тромбоцитов находилось в пределах физиологической нормы (260-700 тыс./мкл), полученные результаты могут указывать только на тенденцию возможного угнетающего влияния препарата на гемопоэз при длительном применении.

Содержание общего билирубина в сыворотке крови телят на 21 сутки соответствовало физиологической норме (таблица 6), что свидетельствует об отсутствии влияния препарата на экскреторную функцию печени.

Наблюдаемое на 21 сутки опыта достоверное ($p < 0,05$) повышение активности АСТ в пределах физиологической нормы (45,3-110,2 мкмоль/л) в сыворотке крови телят всех опытных и контрольной групп в 1,4-1,5 раз по сравнению с показателем до начала введения, очевидно, было связано с физиологической перестройкой в организме растущих животных, а не с токсическим влиянием препарата. Тем более нарушение функционального состояния печени чаще всего сопровождается одновременным повышением активности АСТ и АЛТ. Однако активность АЛТ после двадцатидневого введения комплексного

антибактериального препарата у всех животных находилась в пределах физиологической нормы и не была повышена по сравнению с аналогичным показателем до введения препарата.

Табл. 6. Влияние препарата на функциональное состояние печени и почек телят

Показатель	Пятикратная терапевтиче- ская доза	2,5-кратная терапевтиче- ская доза	Терапевтиче- ская доза	Контроль
До введения				
Общий билирубин, мкмоль/л	4,75±0,63	4,00±0,72	5,00±0,72	4,50±0,72
АЛТ, мкмоль/л	22,75±5,16	24,00±7,60	31,25±6,60	23,00±5,79
АСТ, мкмоль/л	55,25±7,15	62,75±7,06	50,25±7,06	52,50±6,51
Креатинин, мкмоль/л	115,50±11,58	107,00±3,62	103,25±7,78	96,25±7,78
Мочевина, ммоль/л	6,43±0,86	6,90±0,62	8,80±1,64	8,20±2,71
На 21 сутки				
Общий билирубин, мкмоль/л	5,00±0,36	5,66±1,93	4,75±0,63	5,50±0,72
АЛТ, мкмоль/л	28,00±5,79	28,67±6,58	31,35±5,15	25,75±4,61
АСТ, мкмоль/л	83,25±9,23*	87,67±3,10*	70,75±7,05*	83,25±5,61*
Креатинин, мкмоль/л	94,75±4,43	93,25±4,25	91,67±6,20	89,75±2,71
Мочевина, ммоль/л	8,70±0,44	8,80±0,92	8,47±0,91	8,40±0,43

*- $p < 0,05$

Отсутствие гепатотоксического действия препарата на организм телят подтвердили результаты гистологических исследований, не выявившие каких-либо патологических изменений в ткани печени животных опытных групп даже при введении лекарственного средства в пятикратной терапевтической дозе в течение 20 дней.

При длительном введении препарат не оказывал негативного влияния на функциональное состояние почек животных, о чем свидетельствовали физиологические уровни содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови телят

опытных групп (таблица 6) и отсутствие патологических изменений в почечной ткани животных.

При гистологическом исследовании было установлено, что даже в пятикратной терапевтической дозе внутримышечное введение препарата не вызывает деструктивных изменений мышечных волокон, что свидетельствует об отсутствии его местно-раздражающего действия.

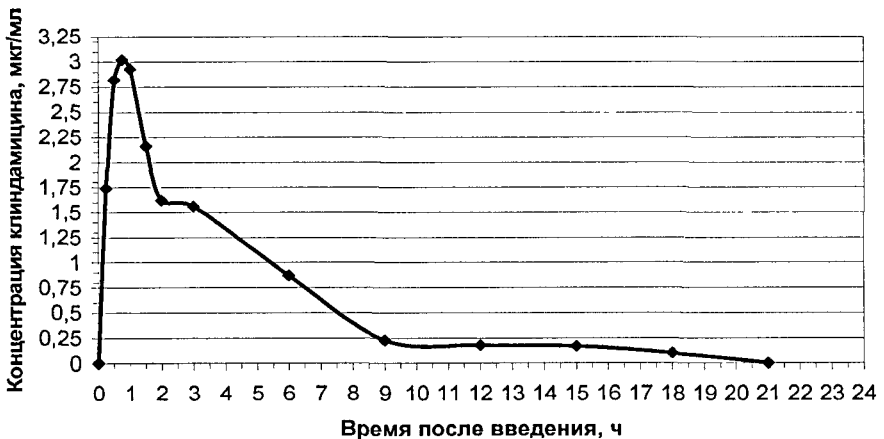
Результаты оценки безопасности комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина для телят при его двадцатидневном введении в терапевтической дозе и дозах, превышающих терапевтическую в 2,5 и 5 раз (соответственно 15, 37,5 и 75 мг/кг массы тела по сумме действующих веществ), показали, что лекарственное средство не оказывает токсического действия на организм животных.

Выявленное в конце опыта снижение количества тромбоцитов в пределах физиологической нормы свидетельствует о возможном угнетающем влиянии препарата при длительном применении на гемопоэз, что было учтено при разработке инструкции по применению лекарственного средства.

Учитывая, что комплексный антибактериальный препарат на практике будет применяться не более 5 дней, даже при случайной передозировке лекарственного средства проявление побочного действия практически исключается.

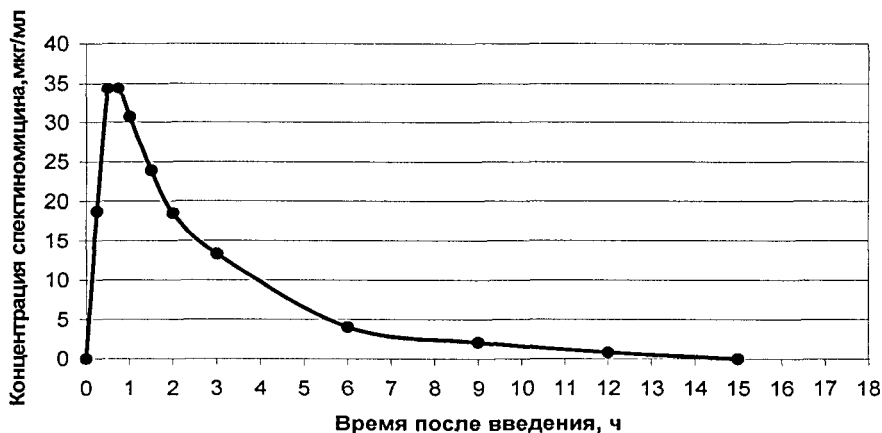
Фармакокинетические исследования показали, что уже через 15 минут после внутримышечного введения клиндамицин обнаруживался в крови телят в концентрациях, в 5-10 раз превышающих антибактериальные (график 1), что, учитывая бактерицидный характер действия его в высоких концентрациях, позволяет контролировать развитие устойчивых штаммов. Уровень клиндамицина, достаточный для ингибирования чувствительных микроорганизмов, в т.ч. микоплазм, сохранялся в сыворотке до 18 часов

График 1. Фармакокинетика клиндамицина в сыворотке крови телят



Концентрация спектиномицина в сыворотке достигала антибактериальных значений для большинства чувствительных микроорганизмов через 15-30 минут (график 2) и, учитывая взаимоусиливающее действие антибиотиков, установленное нами ранее в опытах *in vitro*, поддерживалась в крови в ингибирующих концентрациях до 9 ч.

График 2. Фармакокинетика спектиномицина в сыворотке крови телят



Полученные средние значения концентраций клиндамицина и спектиномицина в сыворотке крови телят, изменяющиеся во времени, подвергались фармакокинетической оценке методом последовательного логарифмирования и описывались в рамках двухкамерной модели с учетом всасывания следующим уравнением:

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - (A+B)e^{-kt},$$

где C – концентрация антибиотика в сыворотке;

A и B – величины отрезка на оси ординат при экстраполяции прямой к моменту времени $t=0$ в фазу распределения и элиминации, соответственно;

α , β , k , e – фармакокинетические константы.

Фармакокинетические параметры клиндамицина и спектиномицина характеризовались высокими значениями максимальных концентраций ($C_{\max}=2,89$ и $28,27$ мкг/мл, соответственно) и быстрым временем их достижения ($t_{\max}=45$ мин).

Очевидно, малый объем распределения спектиномицина в периферических тканях ($V_{d_{ss}}=286$ мл/кг) при одновременно малой степени связывания с белками крови (6-8,5%) объясняется тем, что вследствие высокой ионизации и низкой липофильности антибиотик слабо проникает через клеточные мембраны, попадая, главным образом, в межклеточное пространство. Короткий период

полувыведения спектиномицина ($t_{1/2\beta}$ -130,7 мин) обусловлен его высокой водорастворимостью, вследствие чего он выводится из организма за счет гломерулярной фильтрации, не подвергаясь биотрансформации.

Высокий показатель объема распределения клиндамицина в периферической ($V_{d_{ss}}=5202,9$ мл/кг) камере свидетельствует о его хорошем проникновении в клетки тканей, что позволило нам прогнозировать высокую эффективность препарата в отношении микоплазм, являющихся внутриклеточными паразитами. Достаточно продолжительный период полувыведения ($t_{1/2\beta}=330,8$ мин) клиндамицина фосфата, очевидно, объясняется постепенным гидролизом антибиотика щелочной фосфатазой крови до активной формы, а также постепенным высвобождением его из белковых комплексов в крови.

Учитывая, что клиндамицин и спектиномицин *in vitro* обладают постантибиотическим эффектом, проявляющемся в продолжении подавления роста бактерий при удалении антибиотиков из инкубационной среды (S.C. Ebert, W.A. Craig, 1990; R.E. Lewis, M.E. Klepser, 1998), мы предположили, что препарат оказывает антибактериальный эффект в организме телят при его назначении с более длительными интервалами введения по сравнению с рассчитанными. Как было позже подтверждено в производственных условиях, применение препарата с 24 часовым интервалом оказалось эффективным при лечении респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

При изучении сроков выведения антибиотиков из организма телят после курсового пятидневного применения препарата в дозе 15 мг/кг массы тела было установлено, что клиндамицин не накапливался и достаточно быстро выводился из организма животных. На третьи сутки его обнаруживали в печени, почках, месте инъекции, легких, жире в концентрациях 0,14-0,21 мкг/г, а на 14 сутки его содержание во всех исследованных биосубстратах было ниже предела количественного определения метода (0,08 мкг/г). Спектиномицин обнаруживали в организме телят на 3 и на 14 сутки после окончания курсового применения препарата. Причем наибольшие его количества регистрировали в месте инъекции и в почках. Через 3 недели содержание спектиномицина во всех исследованных биосубстратах находилось ниже предела количественного определения метода (0,1 мкг/г), что дало основание рекомендовать использовать в пищу человека мясо и субпродукты телят, не ранее, чем через 21 день после окончания курсового применения препарата.

При изучении терапевтической эффективности комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина в производственных условиях было установлено, что при введении один раз в сутки в течение 3-5 дней в дозе 0,5 мл/10 кг массы тела (7,5 мг/кг по сумме действующих веществ) лекарственное средство оказалось недостаточно эффективным и обеспечивало сохранность только 89,7% животных (таблица 7).

Увеличение дозы препарата до 1,0 и 1,25 мл/10 кг массы тела (15 и 18,75 мг/кг по сумме действующих веществ) приводило к повышению эффективности лечения бронхопневмонии телят до 96,3 и 96,9 % соответственно, при этом достоверных различий в эффективности применения этих доз не установлено ($p>0,05$).

Эффективность применения препарата на основе клиндамицина и спектиномицина в дозах 1,0 и 1,25 мл/10 кг массы тела превышала эффективность лечения телят препаратами сравнения на 2,4-6,9%, а курс лечения при этом сокращался на 0,8-3,3 дня.

Табл. 7. Эффективность комплексного антибактериального препарата при бронхопневмонии бактериальной этиологии у телят

Показатели	Препарат на основе клиндамицина и спектиномицина			Зинаприм	Сульфетрим	Ультрадиазин
	0,5 мл/10 кг	1,0 мл/10 кг	1,25 мл/10 кг			
Количество животных, голов	39	178	185	40	66	69
Продолжительность лечения, дней	7,4±0,5	4,2±0,8	4,0±0,7	7,3±0,7	4,0±0,5	5,0±0,7
Эффективность, %	89,7	96,3	96,9	90,0	93,9	91,3

Таким образом, результаты изучения терапевтической эффективности в производственных условиях позволяют считать, что разработанное нами комплексное антибактериальное лекарственное средство на основе клиндамицина и спектиномицина в дозе 1,0 мл/10 кг массы тела (15 мг/кг по сумме действующих веществ) при внутримышечном введении один раз в сутки в течение 3-5 суток может быть использовано для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Результаты проведенных нами исследований по разработке лекарственной формы, методов контроля качества, изучению антибактериальных, фармако-токсикологических свойств и терапевтической эффективности комплексного антибактериального препарата на основе клиндамицина и спектиномицина были использованы при разработке технических условий и инструкции по применению лекарственного средства в ветеринарии.

ВЫВОДЫ

1. Разработан новый комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина в форме раствора для инъекций для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии. Комбинация клиндамицина и спектиномицина обладает взаимоусиливающим действием в отношении грамположительных (стафилококки, стрептококки) и грамотрицательных (пастереллы, сальмонеллы, эшерихии) микроорганизмов. Установлено,

что минимальная подавляющая концентрация каждого из антибиотиков в присутствии другого снижается в 2-8 раз в зависимости от вида чувствительного микроорганизма.

2. Комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина отвечает стандартным требованиям, предъявляемым к инъекционным лекарственным формам, и стабилен в течение 18 месяцев при хранении в условиях комнатной температуры и в течение 28 суток после первого вскрытия флакона.

3. Комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина по параметрам острой токсичности независимо от пути введения (перорально, подкожно, внутривенно) согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности - веществам малоопасным. ЛД₅₀ для белых мышей при пероральном введении составляет 47091 мг/кг, при подкожном введении - 16309 мг/кг, при внутривенном введении - 8878 мг/кг.

4. Двухдневное введение комплексного антибактериального препарата в форме раствора для инъекций в дозе 1/5 от ЛД₅₀ приводит к временному нарушению компенсаторно-приспособительных способностей, а в дозах 1/5 и 1/10 от ЛД₅₀ к временному нарушению детоксицирующей функции печени белых мышей, восстанавливающихся через 10 дней после прекращения применения препарата.

5. Двухдневное введение комплексного антибактериального препарата в терапевтической дозе и в дозах, в 2,5 и 5 раз превышающих терапевтическую (соответственно, 15, 37,5 и 75 мг/кг массы тела по сумме действующих веществ), не оказывает токсического действия на организм телят. Снижение количества тромбоцитов в пределах физиологической нормы в конце опыта свидетельствует о возможном угнетающем влиянии препарата на гемопоэз при длительном применении.

6. Фармакокинетика клиндамицина и спектиномицина после однократного внутримышечного введения препарата в дозе 15 мг/кг массы тела характеризуется высокими значениями максимальных концентраций антибиотиков ($C_{\max \text{ клинд}}=2,89$; $C_{\max \text{ спект}}=28,27$ мкг/мл), быстрым временем их достижения ($t_{\max}=45$ мин), малым объемом стационарного распределения спектиномицина ($V_{d_{ss}}=286$ мл/кг) и высоким объемом стационарного распределения клиндамицина ($V_{d_{ss}}=5202,9$ мл/кг) в организме телят.

7. Остаточные количества клиндамицина и спектиномицина после пятидневного внутримышечного введения комплексного антибактериального препарата в дозе 15 мг/кг массы тела полностью выводятся из организма телят через 21 сутки.

8. Комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина в дозе 1 мл/10 кг массы тела (15 мг/кг по сумме действующих веществ) при применении в течение 3-5 дней обладает 94,4-97,6 % эффективностью при лечении респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработан и предложен для ветеринарной практики новый комплексный антибактериальный препарат на основе клиндамицина и спектиномицина для лечения респираторных заболеваний телят бактериальной этиологии.

2. Результаты исследований нашли отражение в разработанной нормативной документации, переданной для регистрации лекарственного средства в Российской Федерации в Россельхознадзор:

- технических условиях ТУ 9348-054-47611900-2007 «Клиндаспектин раствор для инъекций»;

- инструкции по применению Клиндаспектина раствора для инъекций в ветеринарии.

3. На лекарственное средство, содержащее в качестве действующих веществ клиндамицин и спектиномицин, получен патент РФ на изобретение № 2227741 «Препарат для профилактики и лечения инфекционных заболеваний животных и птиц бактериальной этиологии».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. С. Ионов, А. Игнатова, Е. Елисеева. Клиндаспектин - препарат против ассоциированных инфекций. // Птицеводство. - 2005. - № 4. - С. 53-54.

2. Б.В. Виолин, А.Д. Игнатова, И.Д. Игнатова. Изучение токсичности комплексного инъекционного препарата на основе клиндамицина и спектиномицина в опытах на лабораторных животных. // Сборник научных трудов ВГНКИ. - 2006. - Т. 67. - С. 182-188.

3. А.Д. Игнатова, Б.В. Виолин. Изучение субхронической токсичности инъекционной формы клиндаспектина в опытах на телятах. // Аграрная наука.- 2006. - № 7. - С. 25-28.

4. С.Н. Ионов, А.Д. Игнатова, Е.Н. Елисеева. Клиндаспектин при бактериальных инфекциях птиц. // Ветеринария. - 2007. - № 1. - С. 13-17.

Заказ № 99/02/07 Подписано в печать 19 02 2007 Тираж 100 экз Усл п л 1,25



ООО "Цифровичок", тел (495) 797-75-76, (495) 778-22-20
www.cfr.ru ; e-mail: info@cfr.ru