

**Новикова Светлана Валериевна**

**Технология получения препарата «Септогель»,  
его фармако-токсикологические свойства и  
эффективность применения при лечении  
маститов у коров**

**16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Москва - 2004**

Работа выполнена в научно-исследовательском отделе ЗАО «Нита-Фарм» (г. Саратов), Саратовском Государственном аграрном университете им. Н. И. Вавилова и Всероссийском Государственном центре качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГУ ВГНКИ) в период с 1999 по 2003 г.

**Научный руководитель:**

Доктор биологических наук,  
профессор Советкин Станислав Васильевич

**Официальные оппоненты:**

Доктор биологических наук,  
профессор Дорожкин Василий Иванович  
Доктор ветеринарных наук,  
Демидова Лидия Дмитриевна

**Ведущая организация:**

Московская государственная академия ветеринарной  
медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина

Защита диссертации состоится «20» мая 2004 г. в 15<sup>00</sup> часов  
на заседании диссертационного совета Д 2720011.01 во  
Всероссийском государственном центре качества и стандартизации  
лекарственных средств для животных и кормов (ФГУ ВГНКИ) по  
адресу: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ ВГНКИ

Автореферат разослан «9» апреля 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

  
Ю.А. Козырев

## 1. Общая характеристика работы

1.1. Актуальность темы. В молочном скотоводстве заболеванием, на долю которого приходится основная часть экономического ущерба, является мастит. По данным Международной молочной федерации, маститом ежегодно болеет около 25% поголовья дойного стада. Экономический ущерб складывается из снижения годового удоя, низкого санитарного качества молока и молочных продуктов. Также, при тяжелых формах в патологический процесс вовлекается организм животного в целом, что является причиной преждевременной выбраковки животного (Гончаров В.П. и др., 1987г, Карташова В. М., 1982г.).

Для лечения маститов, в основном, применяют препараты, содержащие антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны. Их применение ведет к подавлению иммунной системы животных и человека, возникновению аллергий и дисбактериозов. Но наиболее негативным последствием является появление микроорганизмов, устойчивых к действию одного или комплекса антибиотиков, что снижает терапевтическую эффективность целого ряда препаратов. Поэтому сегодня для достижения лечебного эффекта от применения целого ряда препаратов необходимо значительное увеличение их разовой дозы. В таких случаях, помимо увеличения стоимости лечения, завышенные дозы могут оказывать токсическое воздействие на организм животного.

В этих условиях для борьбы с маститом крайне важным представляется поиск новых лекарственных средств. В настоящее время работа ведется по двум направлениям: разработка новых антибиотиков и альтернативных препаратов (Буданцев А., Шевченко Е., 1985). На наш взгляд, наиболее перспективной является разработка альтернативных препаратов, безопасных для животных и человека, способных существенно сокращать уровень браковки молока после их применения, и, одновременно, ликвидировать заболевание в короткие сроки, и, самое главное, не способствовать появлению устойчивых к ним микроорганизмов. Одним из таких веществ является йод. Это уникальное вещество, лекарственные формы на его основе отличаются высокой биологической активностью и разносторонним фармакологическим действием. Будучи недорогими и малотоксичными, йодсодержащие препараты являются весьма перспективными для ветеринарии и, в частности, для лечения мастита.

На сегодняшний день, в нашей стране и за рубежом созданы препараты на основе йода для лечебно-профилактических мероприятий при мастите коров. Например, синтайод, йодвисмутсульфамид, тиксотропин, раствор йода в минеральном масле, лазин (Демидова Л.Д., Юрков В.М, 1998, Ивченко В. М., 1988, Крюков Б. Н, 1978, Крюков Н. И., 1999). Но эффективность их различна в силу того, что используются разные формы йода, формообразующие основы и технологии. Поэтому разработка новых препаратов на основе йодсодержащих субстанций, будет способствовать повышению эффективности терапии мастита у коров, снижению отрицательного влияния на организм животных и, одновременно, повышать качество получаемой продукции, что является актуальной задачей ветеринарной науки и практики.

1.2. Цели и задачи исследований. Целью исследований являлось разработать новый противомаститный препарата «Септогель» в связи с широким распространением мастита у коров, а также снижением терапевтической эффективности многих противомаститных препаратов.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- установить на основании экспериментальных исследований оптимальное соотношение входящих в состав препарата компонентов; разработать технологию изготовления препарата «Септогель», обеспечивающую его стабильность, высокое содержание биологически активного йода, а также концентрацию водородных ионов, близкую к pH секрета молочной железы;
- определить острую и хроническую токсичность препарата, его эмбриотоксические, тератогенные, мутагенные, аллергизирующие, раздражающие и антимикробные свойства;
- изучить отдаленные последствия влияния септогеля на паренхиму молочной железы, а также время выведения йода из организма животных;
- установить эффективность применения препарата септогель для лечения различных форм мастита у коров в сравнении с препаратами мастисан – А и мастилекс;
- обобщить результаты исследований и на основании этого разработать и утвердить нормативную документацию на препарат септогель.

Исследования выполнены в соответствии с утвержденной ученым советом ФГУ ВГНКИ рабочей программой.

1.3. Научная новизна. Разработана технология получения

нового противомаститного препарата септогель, изучены его фармакотоксикологические свойства. На основании экспериментальных исследований и производственной проверки определена терапевтическая эффективность препарата при лечении различных форм мастита. Научная новизна подтверждена патентом РФ № 2165261, «Средство для лечения мастита у коров», 2001 г.

1.4. Практическая значимость работы. Для лечения мастита у коров предложен новый лекарственный препарат септогель. Определена оптимальная схема его применения при лечении различных форм мастита у коров. Разработана и утверждена Департаментом ветеринарии Минсельхоза России нормативно-техническая документация на препарат (Наставление по применению септогеля для лечения мастита у коров № 13-4-03/0011 от 15.02.01г., «Регистрационное удостоверение № P044-2.0-1189 от 15.05.01 г., ТУ 9337-015-34214729-00 от 15.02.01 г.).

1.5. Апробация материалов диссертации. Материалы диссертации доложены и одобрены на Международной научно-практической конференции, посвященной 25-летию Смоленского СХИ, 1999 г, I-ой Международной конференции «Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики, как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных», Ставрополь, 2001 г, I-ом Международном конгрессе «Биотехнология – состояние и перспективы развития», научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов Саратовского Госагроуниверситета, 2000-2002 г.

1.6. Публикация результатов исследований. Основные научные результаты исследований изложены в 5 научных работах.

1.7. Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложения. Список использованной литературы включает 351 источник, в том числе 243 отечественных и 108 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 26 таблицами, 7 рисунками, схемами и графиками.

1.8. Основные положения, выносимые на защиту:

Разработка технологии получения нового противомаститного препарата септогель;

Фармако-токсикологические свойства нового препарата септогель для лечения мастита у коров;

Лечебная эффективность септогеля при лечении различных форм мастита у коров.

## **2. Материалы и методы исследования**

Работа выполнена в научно-исследовательском отделе ЗАО «Нита-Фарм» (г. Саратов), Саратовском Государственном аграрном университете им. Н. И. Вавилова и Всероссийском Государственном центре качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГУ ВГНКИ) в период с 1999 по 2003 г.

Экспериментальная часть работы выполнена в научно-исследовательском отделе ЗАО «Нита-фарм», г. Саратов, кафедре акушерства и хирургии Института ветеринарной медицины и биотехнологии Саратовского Государственного Аграрного Университета, кафедре фармакологии и токсикологии Саратовского Государственного Медицинского Университета. Изучение терапевтической эффективности препарата проведено на коровах черно – пестрой и симментальской породы, принадлежащих хозяйствам Саратовской и Волгоградской областей.

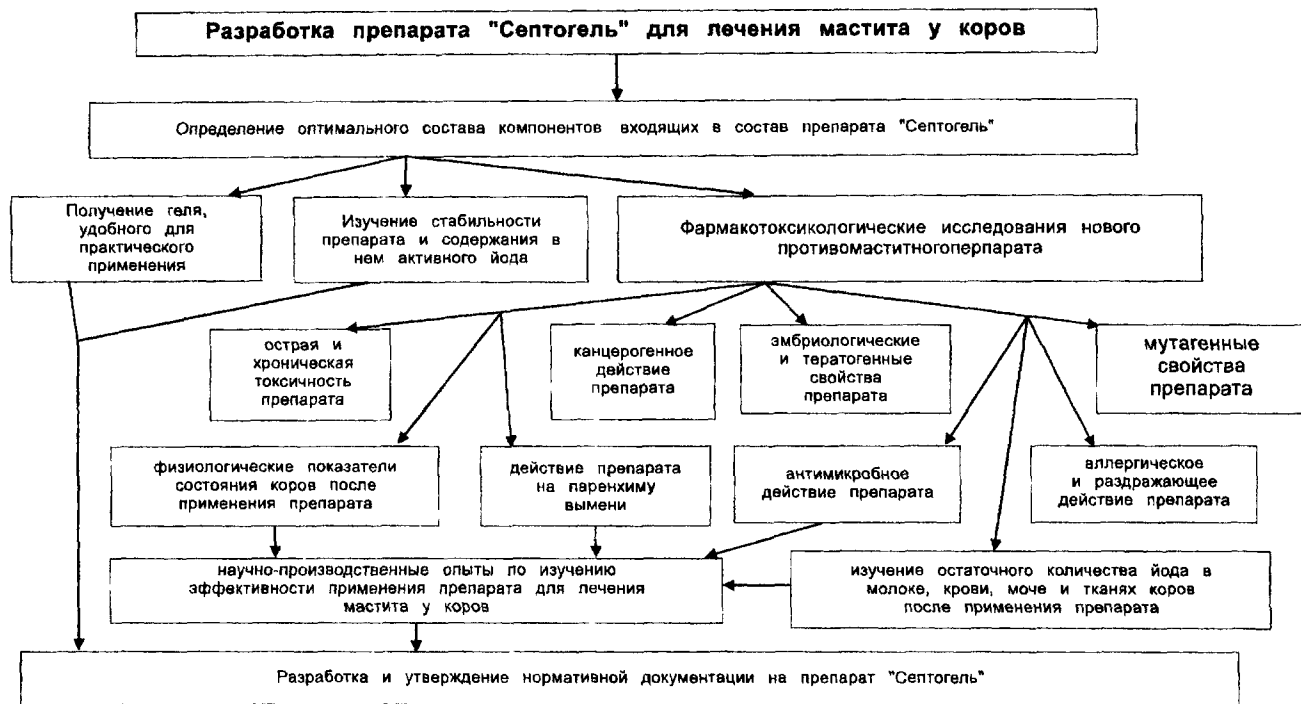
Новый прогивомаститный препарат разработан на основе йод-поливинилпирролидона (Йодповидон или Йод-ПВП). Это сложное синтетическое вещество, состоящее из молекулы полимера поливинилпирролидона и входящих в комплекс атомов йода. При разработке рецептуры препарата отработаны условия, обеспечивающие стабильность содержания активного йода в препарате в течение максимально длительного времени, снижение возможного негативного действия препарата на ткани молочной железы, а также, получение оптимальной консистенции препарата для более удобного его практического применения.

Для установления оптимального соотношения входящих в состав препарата компонентов и отработки оптимальных технологических режимов его изготовления было проведено более 100 лабораторных опытов.

Для проведения фармакотоксикологических исследований, группы животных формировали по принципу парных аналогов с учетом пола, возраста и живой массы.

В лабораторных и научно-производственных опытах использованы нелинейные белые мыши, беспородные белые крысы и морские свинки, кролики породы «Шиншилла», коровы черно-пестрой и симментальской породы.

Последовательность проведения исследований представлена на схеме 1.



Изучение стабильности препарата и содержания активного йода в процессе хранения определяли с момента изготовления и через 6, 9, 12, 15, 18 месяцев, исследования выполняли в соответствии с требованиями Госфармакопей X и XI. Измерение РН - потенциометрически, динамическую вязкость - при помощи стеклянного вискозиметра ВПЖ-2, содержание активного йода - по методике фирмы BASF для определения йода. Исследовано по 20 образцов от 5 производственных серий.

**Микробиологическую активность** препарата определяли при разведении септогеля 1 : 200 (ГФ, том XI, стр. 210, 1998), в опытах использовали тест-микроб стафилококк 209-Р, ГОСТ 28085 полученный в лаборатории ВГНКИ и изолят *Escherichia coli*, выделенный из пораженной маститом доли. В опытах использовано 11 опытных и 36 производственных серий.

**Острую токсичность** препарата определяли при помощи ( $LD_{50}$ ) на нелинейных белых мышах-самцах (27 голов, массой 21 – 25 г.), по методу наименьших квадратов с использованием пробит-анализа (Иванов П.Г., Погорелюк С.А., 1990).

**Хроническую токсичность** определяли на 12 коровах. В период опыта учитывали потребление корма и воды, состояние волосяного покрова, слизистых, поведение, состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем, морфологические показатели крови животных. После введения препарата наблюдения за животными проводили в течение 20 дней.

**Аллергенное действие** препарата исследовали с помощью конъюнктивной пробы (Г. П. Трубецкая, 1976) на 5 кроликах массой 3 - 4 кг и кожно-провокационной пробы (О. Л. Алексеева, Л. А. Дудева, 1978) на 6 морских свинок массой 250-300г.

Для оценки **мутагенного действия** септогеля использовали метод учета аномальных головок спермиев (АГС) у мышей (Маланин Л. П., Морозов А. П., Селиванова А. С., 1988). В опыте использовано 10 белых мышей-самцов, массой 21-25г.

Определение **эмбриотоксической и тератогенной активности** септогеля проводили по методу Dawson, 1926, Wilson в модификации Дыбан с соавторами, 1966 (Маланин Л. П., Морозов А. П., Селиванова А. С., 1988). В опытах использовано 40 белых крыс-самок массой 150-200 г.

**Канцерогенное действие** препарата выявляли на белых мышах-самках (30 голов, массой 21-25г) которым во влагалище в течение 30 дней вводили септогель на тампонах при помощи

специального приспособления. Результаты учитывали на основании морфологических исследований репродуктивных органов.

**Влияние препарата на молочную цистерну, паренхиму молочной железы и организм животного** испытывали на 15 клинически здоровых коровах. У животных измеряли температуру тела, местную температуру вымени, частоту сердечных сокращений, частоту дыхательных движений, частоту сокращений рубца, состояние нервной системы. Гематологические и биохимические исследования проводили по общепринятым методикам: количество форменных элементов определяли с использованием камеры Горяева, лейкограмму рассчитывали при просмотре мазков, окрашенных по Романовскому-Гимза, общий белок - биуретовой реакцией, общий кальций - пламенной фотометрией, неорганический фосфор - с ванадиомолибдатным реактивом (по Пулу в модификации Коромылова В. Ф. и Кудрявцевой Л. А. 1999), каротин - по методу Бессей в модификации А. А. Анисимовой (1998, 1999, 2000, 2002,).

**Распределение активнoдействующего вещества (йода), септогеля** исследовали в различных органах и тканях, полученных от 4 коров. Животным вводили септогель в дозе 20,0 мл, с содержанием активного йода 0,5%, 3 раза через каждые 24 часа. Убой животных проводили через 1, 2, 3 и 4 суток.

**Терапевтическую эффективность препарата** проверяли на 459 коровах черно-пестрой и симментальской породы в хозяйствах Саратовской и Волгоградской областей. При постановке диагноза и выяснении формы мастита использовали анамнестические данные и клинические признаки, для подтверждения диагноза использовали пробу с 2 % раствором мастидина. Для диагностики субклинического мастита применяли пробу отстаивания и пробу с 2 % раствором мастидина и ПМК-2.

Результаты лечения учитывали на 10 день после последнего введения препарата. Выздоровевшими считались животные, у которых отсутствовали клинические признаки заболевания, и была отрицательная проба отстаивания и проба с 2% раствором мастидина. Цифровой материал обрабатывался статистически, с вычислением средних арифметических величин ( $\bar{x}$ ), стандартной ошибки этих средних величин ( $Sx$ ) и критерий «t» по Стьюденту.

## **2.1. Результаты собственных исследований**

### **2.1.1. Методологические подходы к разработке технологии получения противомаститного препарата септогель**

Новый противомаститный препарат разрабатывали на основе йод-поливинилпирролидона. При разработке рецептуры препарата необходимо было добиться стабильности содержания активного йода в препарате в течение максимально длительного времени, а также снижения возможного негативного действия препарата на ткани молочной железы и получить удобную для применения консистенцию.

При проведении экспериментов по определению качественного и количественного состава септогеля для обеспечения стабильного содержания активного йода и соответствия pH препарата с pH молочной железы, был апробирован ряд веществ. Наилучший результат получен при использовании фосфатно-цитратного буфера.

В экспериментах по созданию необходимой консистенции препарата, наилучшие результаты были получены при использовании Полаксомера. Необходимая консистенция достигалась введением его умеренного количества (4%). Из-за медленного растворения Полаксомера в воде, для ускорения процесса, его предварительно растворяли в подогретом до 80 – 90°C пропиленгликоле в течение 10 – 15 мин.

Несмотря на решение ряда технологических вопросов, а именно, оптимизацию pH и консистенции препарата, потери активного йода в нем достигали 50% и более. При проведении ряда экспериментов, было выяснено, что потери максимальны - при введении йод-ПВП в состав горячей смеси и при pH препарата выше 5,5. Аналогичные изменения происходят и при нагреве препарата выше 40 °C

На основании экспериментальных данных, самым технологичным был признан вариант изготовления препарата с использованием полаксомера и полным его растворением при температуре 70 °C и введением йод-ПВП в состав смеси после ее остывания до 40 °C. Это снизило потери йода до 24 – 28%, это было преодолено введением в препарат заведомого избытка йод – ПВП в количестве 25 – 27%.

Для выяснения оптимального температурного режима хранения препарата, позволяющего сохранить без изменения его терапевтическую эффективность и свойства, образцы препарата поместили в морозильную ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) и холодильную ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) камеры, оставили при комнатной температуре (около  $+20^{\circ}\text{C}$ ), в термостат ( $+45^{\circ}\text{C}$ ). Через сутки измеряли вязкость, pH, содержание активного йода в препарате.

Было установлено, что изменение температуры хранения влияет только на вязкость препарата, остальные физико-химические параметры не изменяются. Установлено, что недопустимым является охлаждение препарата ниже  $+4^{\circ}\text{C}$ , - в этом случае разрушается структура геля, и консистенция препарата напоминает глицерин. Основываясь на этих данных, мы внесли в наставление рекомендуемую температуру хранения препарата.

После установления оптимального температурного режима хранения, был проведен ряд экспериментов для установления оптимального срока хранения препарата. Для этого образцы были помещены на хранение при температуре  $+10-20^{\circ}\text{C}$ . Измерения pH, динамической вязкости и содержания активного йода проводились впервые - через 6 месяцев со дня изготовления, в дальнейшем - каждые 3 месяца в течение 18 месяцев. Исследования проводили общепринятыми методами по определению цвета, pH, содержания активного йода, вязкости препарата, антимикробной активности.

Установлено, что при хранении препарата в течение 18 месяце (срок наблюдения), он сохраняет все свои качественные и количественные показатели, в том числе и антимикробную активность, в соответствии с требованиями технических условий.

### **2.1.1.1 Физико-химические свойства септогеля**

Препарат септогель представляет собой гомогенный гидрофильный, умеренно текучий гель, при температуре ниже  $+10^{\circ}\text{C}$  разжижается, но сохраняет антимикробные свойства. Готовый препарат соответствует требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

| Показатели                                                          | Характеристика и норма |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Внешний вид, консистенция                                           | Гель                   |
| Цвет                                                                | Красно-коричневый      |
| Запах                                                               | Слабый запах йода      |
| pH                                                                  | 5,5±0,5                |
| Плотность, г/см <sup>3</sup>                                        | 1,15±0,05              |
| Подлинность (наличие активного йода)                                | Положительная          |
| Содержание активного йода, масс. %                                  | 0,5±0,07               |
| Биологическая активность в отношении стафилококка 209-Р, ГОСТ 28085 | Положительная          |

Содержание основных компонентов в препарате представлено в таблице 2.

Таблица 2

### Содержание основных компонентов в препарате септогель

| Компоненты                      | На 100 мл |
|---------------------------------|-----------|
| Глицерин, г.                    | 35        |
| Полаксомер, г.                  | 4         |
| Натрия фосфат двузамещенный, г. | 0,57      |
| Лимонная кислота, г.            | 0,76      |
| Йодоповидов, г.                 | 5         |
| Вода дистиллированная, мл.      | До 100 мл |

## 2.1.2 Фармако-токсикологические исследования препарата септогель

### 2.1.2.1 Острая токсичность септогеля

Эксперименты проведены на половозрелых нелинейных белых мышах-самцах, массой 19–21г, 27 голов. Навески препарата, растворяли в дистиллированной воде, после чего полученный раствор вводили внутривентрально в объеме 10 мл/кг массы тела. Токсическое

действие препарата оценивали по наличию возбуждения, тремора, нарушения координации движений, судорог. Гибель большинства животных наступала в течение первых суток после введения.

Выяснение  $LD_{50}$  проводилось при помощи пробит-анализа.

На основании экспериментальных данных установлено, что  $LD_{50}$  для препарата септогель, при внутривывамном способе введения белым мышам, составляет –  $85,9 \pm 14,5$  г /кг массы.

Согласно существующей классификации химических веществ по степени воздействия на человека, йод-ПВП относится к малотоксичным (4 группа) (Плетнева Т. В. и др., 2000).

### **2.1.2.2. Хроническая токсичность септогеля**

Хроническую токсичность исследовали на клинически здоровых коровах (6 голов) подобранных по принципу аналогов (порода, возраст, живая масса, условия кормления, содержания). В контрольную группу были включены клинически здоровые коровы (6 голов), также подобранные по принципу аналогов. Животным опытной группы септогель вводился внутривывамно (3 головы) и ректально (3 головы), 10 раз, с интервалом в 12 часов, в дозе составляющей 10 мл - предположительная терапевтическая доза. Животным контрольной группы вводили гелевую основа препарата без йода. После введения, наблюдения за животными вели в течение 20-ти дней. В период опыта у животных учитывали: температуру тела, частоту сердечных сокращений, дыхательных движений и сокращений рубца. Нами не было выявлено отклонений в показателях физиологического состояния животных. Все коровы оставались клинически здоровыми, вне зависимости от способа введения препарата (ректально или внутривывамно).

Одним из важнейших показателей безвредности препарата - изменение параметров гемостаза у животных после его применения. Гематологические показатели, полученные в опыте по хронической токсичности септогеля, находились в пределах нормы (количество эритроцитов в опытной группе – 5,5-6,0 млн., в контрольной – 5,9-6,5, лейкоцитов, соответственно, 7,7-8,0 и 8,0-8,6 тыс., эозинофилов – 3,8-5,1 и 4,5-5,0).

На основании полученных данных можно заключить, что препарат септогель не оказывает отрицательного влияния на гемостаз животных, на центральную нервную, сердечно-сосудистую, дыхательную системы и желудочно-кишечный тракт.

### **2.1.2.3 Отдаленные последствия применения препарата септогель**

#### **2.1.2.3.1. Эмбриотоксическое и тератогенное действие септогеля**

Опыты проводили на белых крысах-самках, массой тела 150-200г. Началом беременности считали день обнаружения спермиев во влагалищном мазке. Септогель вводили в желудок зондом в виде водного раствора 1 : 1, в дозе, превышающей терапевтическую в 50 и 100 раз. Всего было поставлено 2 серии опытов на 70 крысах.

В 1-ой серии опыта исследовали токсичность для эмбрионов крыс - септогель в дозе 1 г/кг живой массы вводили в желудок на протяжении всего срока беременности; контрольные крысы получали дистиллированную воду. Результаты учитывали на 20-й день беременности. Результаты исследований показали - действующие и вспомогательные вещества септогеля не обладают эмбриотоксическим действием. Нет статистически достоверных различий в реакции яичников, число желтых тел на животное в опытной и контрольной группах находится практически на одном уровне – 10,4 – 11,1. Не выявлено статистически достоверных различий в живой массе эмбрионов, в опытной группе она была равна  $55 \pm 0,3$  г., а в контрольной  $-5,7 \pm 0,9$ г. это свидетельствует, что септогель в критические периоды развития эмбрионов, не оказывает тератогенного действия.

Во II серии опыта устанавливали период максимальной пороговой чувствительности эмбрионов в критические периоды беременности. Препарат вводили однократно, в дозе 2 г/кг живой массы на 4, 8, 9, 10, 12, 14 день беременности. Анализ результатов показал отсутствие тератогенного воздействия препарата – в опытной группе количество плодов в среднем составило 13, в контрольной – также 13, аномалий развития в обеих группах не обнаружено. На основании экспериментальных данных можно заключить, что септогель лишен эмбриотоксического и тератогенного воздействия на теплокровных животных.

#### **2.1.2.3.2. Мутагенное действие септогеля**

Для этого применяли классический метод учета аномальных головок спермиев (АГС) у мышей. В работе использовали белых мышей-самцов живой массой 21-25 г. в количестве 10 голов. Препарат в дозе 6 г/кг живой массы (доза превышала терапевтическую в 300

раз) вводили однократно внутрижелудочно зондом. Убой животных проводили через 35 дней после введения препарата, считая этот срок оптимальным для выхода максимального количества поврежденных спермиев.

Для получения препаратов два эпидидимиса от каждого самца помещали в физиологический раствор и измельчали тонкими ножницами, затем суспензировали. В суспензию вносили 4 капли 1%-ного эозина и через 40 минут после фильтрации через капроновое ситечко готовили на предметном стекле воздушно-сухие мазки. Подсчет головок спермиев осуществляли в расчете на 300 спермиев от каждого самца. К аномальным относили спермии с деформированной акросомой, макро- и микроголовками, овальными, аморфными и сильно скрученными головками. Изменения тела и хвостиков сперматозоида во внимание не принимали. Подсчитывали процент спермиев с аномалиями. Результаты подвергали статистической обработке, нами не выявлено увеличения частоты аномальных головок в опытной группе ( $11,0 \pm 1,7\%$ ) по сравнению с контролем ( $10,6 \pm 1,8\%$ ), что дает возможность предположить что септогель лишен мутагенной активности.

### **2.1.2.3.3. Канцерогенное действие септогеля**

Опыты проводили на мышах-самках в количестве 30 голов, которым во влагалище вводили септогель на тампонах из мало гигроскопической ваты. Для этого стеклянные цилиндрические трубочки 0,2 см диаметром и около 2 см в длину оплавливались по краям, чтобы избежать травмы при введении их в половые пути. В каждую трубочку закладывался тампон, пропитанный препаратом. Трубочки вводились во влагалище до соприкосновения с шейкой матки. Затем мандреном тампон выталкивался, трубочку удаляли, и тампон с препаратом входил в соприкосновение с шейкой матки. Тампон оставляли в половых путях и удаляли перед введением следующего тампона со свежей порцией септогеля. Таким образом, каждой мышке было введено в течение 1 месяца по 30 тампонов с септогелем. В опытную и контрольную группы входило по 15 животных. Спустя 8 месяцев после последнего введения препарата проводили морфологические исследования, в частности определяли наличие или отсутствие изъязвлений, опухолевидных образований или эрозий в репродуктивных органах животных. Введение в течение 1 месяца 30 тампонов, содержащих в сумме 3 г септогеля не вызвало спустя 8

месяцев каких-либо патоморфологических изменений в шейке и теле матки подопытных животных. На основании полученных результатов можно заключить, что септогель не обладает канцерогенным действием.

#### **2.1.2.3.4. Раздражающее действие септогеля и его аллергенное действие**

Аллергенные свойства септогеля испытывали на морских свинках массой 250-300г в количестве 10 голов, используя метод эпикутанных аппликаций на выстриженных участках кожи, размером 2х3 см. Для этого 2-3 г препарата наносили на марлевую прокладку и фиксировали ее на коже липкой лентой, выдерживали 4 часа, после удаляли. Такие манипуляции проводили в течение 2-х недель. Результат аппликаций учитывали ежедневно. При этом нами не зарегистрировано таких признаков нарушения состояния кожного покрова, как эритема, инфильтрация, изъязвление и некроз. На основании полученных данных можно заключить, что септогель лишен отрицательного действия на эпидермис кожи и не обладает аллергенными свойствами.

Сенсибилизирующее действие септогеля определяли аппликацией его на 15-й день со дня начала опыта и продолжали в течение 11 дней на участок кожи, расположенной симметрично на другой боковой поверхности туловища животных. При этом мы не обнаружили изменений, как в поведении животного, так и в проявлении местных реакций, в частности, раздражения кожи.

Для изучения капиллярной проницаемости кожи на 15-й день опыта морским свинкам на участке аппликации внутрикожно вводили 0,2 мл стерильного физиологического раствора. О состоянии капиллярной проницаемости судили по времени рассасывания полученного «солевого волдыря». Нами не установлено раздражающего действия септогеля, на участке аппликации у морских свинок воспалительных реакций не обнаружено. Рост волос на выстриженных участках был плотным, состояние шерстного покрова - нормальное, кожа - без образования корок, уплотнений и шелушений.

Кроме того, не выявлено воспалительных реакций при проведении эксперимента по определению сенсибилизирующего действия септогеля. «Солевой волдырь» рассасывался в течение 45-52 минут, что соответствовало нормальным величинам. Таким

образом, септогель не оказывает отрицательного влияния и на состояние капиллярной проницаемости у животных.

На основании экспериментальных данных, можно сделать заключение, что септогель не обладает раздражающим, сенсибилизирующим и аллергизирующими свойствами.

#### **2.1.2.3.5 Действие септогеля на слизистые оболочки**

Эксперименты проводились на 5 кроликах породы шиншилла (масса 3—4 кг). В правый глаз животных ежедневно в течение 3-х дней вносилось 0,1-0,2 г препарата. Во время инсталляции геля в конъюнктивальный мешок поведение животных оставалось спокойным. Через 10—15 минут у 3 кроликов из 5 появлялась легкая гиперемия конъюнктивы без признаков отека и гиперсекреции, роговица оставалась прозрачной. Эти явления исчезали к моменту следующей инсталляции. В течение недели признаков воспалительной реакции глаза у животных не обнаружено. Результаты исследований свидетельствуют, что септогель оказывает лишь незначительное раздражающее действие на слизистую оболочку глаза - у 60% животных отмечалась незначительная гиперемия конъюнктивы, исчезающая через 3—4 часа.

#### **2.1.2.3.6 Действие септогеля на паренхиму вымени коров и организм животного**

Исследование влияния препарата на слизистую оболочку молочной цистерны, паренхиму молочной железы и организм животного проводились на клинически здоровых животных в количестве 10 голов, подобранных по принципу аналогов: порода, возраст, условия кормления и содержания. Нами не выявлено изменений в общем состоянии животных при изучении влияния препарата на слизистую оболочку молочной цистерны и паренхиму молочной железы - показатели температуры тела, частоты сердечных сокращений, дыхательных движений и движений рубца, после применения препарата находились на исходном уровне, как и до применения препарата: температура тела оставалась в пределах  $38.1 \pm 0,3$  °C, частота сердечных сокращений равнялась  $63 \pm 3$  удара в минуту, движения рубца составляли  $5 \pm 1$  в 2 минуты.

При проведении местного осмотра было установлено: консистенция соска – упругая, пальпация безболезненна, цвет – бледно-розовый; пальпация молочных долей, в которые вводился септогель: безболезненная, консистенция их – упругая, не выявлено участков с повышенной температурой или уплотнением. Выдаиваемое молоко – белого цвета без включений и примесей, проба с 2% раствором мастидина и проба отстаивания - отрицательны. Результаты исследований показали, что:

- слабораздражающее действие септогеля, содержащего 0,3% активного йода, на слизистую оболочку молочной цистерны при повторном введении препарата, объясняется низким уровнем рН (3,3–3,5) опытного образца препарата, и, возможно, наличием пропиленгликоля. После совершенствования состава препарата, в частности, стабилизации рН на уровне 5,5 и замены в составе препарата пропиленгликоля на глицерин, никаких негативных последствий после двух –трех -кратного и более введений септогеля, содержащего 0,5% активного йода, не отмечено;

- установлено, что септогель, приготовленный по рецептуре, содержащий глицерин и 0,5% активного йода, не оказывает заметного негативного влияния на паренхиму здоровой молочной железы и организм животного в целом ни при первичном, ни при последующих введениях.

#### **2.1.2.3.7. Гистологическая оценка воздействия препарата септогель на паренхиму вымени коров**

Подопытным клинически здоровым коровам (в количестве 4 голов) вводили септогель в количестве 10,0 г (1 дозу) 6 раз через каждые 12 часов, в результате чего общая доза препарата на корову составила 60 г (6 доз).

Гистологическому исследованию подвергалась паренхима вымени до введения препарата, через 24 и 48 часов после последнего введения препарата. При гистологическом исследовании тканей молочной железы морфологических, изменений в строении паренхимы и стромы не выявлено. Таким образом, во всех случаях тинкториальные свойства клеток и тканей молочной железы сохранены. Границы клеток и ядер четко контурированы. Дистрофические, воспалительные и некротические изменения в представленных образцах не установлены, структура тканей

соответствует неизменной паренхиме вымени.

Анализ результатов гистологического исследования воздействия препарата на паренхиму вымени позволяет сделать заключение об отсутствии негативного влияния препарата на гистологические изменения в паренхиме вымени после шестикратного введения препарата в терапевтической дозе.

#### **2.1.2.4 Определение остаточных количеств йода в молоке, крови, моче и тканях животных**

Отбор проб биологических жидкостей, а так же тканей и органов для определения в них содержания йода проводили следующим образом: пробы молока отбирали до введения препарата, в 1 и 2 сутки – во время каждой дойки (2 раза в день), затем – 1 раз в день до убоя последнего животного, пробы крови и мочи – до введения, в первые сутки – каждые 6 часов, затем 1 раз в день до убоя животного, пробы паренхиматозных органов, и тканей отбирались до введения препарата, затем через сутки в течение 4 дней.

При органолептической оценке молока было установлено, что молоко из доли, куда вводился препарат, приобретает слегка сероватый цвет и слабый специфический запах йода, исчезающий через 10 – 12 часов. При исследовании проб крови, мочи, молока, органов и тканей, отобранных в различные сроки после введения препарата, было установлено: жир, мышцы, кожа и паренхиматозные органы не содержат йода, в моче через 24 часа после последнего введения препарата были обнаружены его следы. Основное количество йода выявляли в крови (3,5 – 4,5 мкг/100 мл) и молочной железе (до 8 – 9 мкг/100 г), из которых он полностью выводился на 2 сутки после последнего введения препарата. Следовательно, на 2 сутки йод полностью выводится из организма.

Согласно нашим данным, максимальное выделение йода с молоком происходит через 6 ч. после введения (до 0,16 мг/100 мл), в течение 1 суток сохраняется на максимуме, со 2 дня в молоке остаются только следы йода. Это принималось во внимание при написании наставления по применению септогеля, когда рекомендовались сроки браковки молока. Учитывая, что органолептические свойства молока не изменяются, а содержание в нем йода незначительно (максимум – до 0,00016%), в наставлении по применению препарата рекомендовано браковать молоко 24 часа по завершению лечения.

### 2.1.3. Антимикробное действие септогеля

Молекулярный йод обладает антимикробным действием вследствие своих окислительных и галогенизирующих свойств, поэтому спектр действия йод-ПВП охватывает вирусы, бактерии, грибы и некоторых простейших. Антимикробная активность йодповидона соответствует спектру молекулярного йода, поэтому устойчивых штаммов микроорганизмов к нему не обнаружено. Все вышесказанное относится и к септогелю, так как содержание в нем активного йода 0,5 %.

Для определения терапевтической дозы проводили определение минимальной ингибирующей концентрации активного йода в препарате. Для этого использовали *Staphylococcus aureus*, штамм 209-P, ГОСТ 28085 и изолят *Escherichia coli*, выделенный из пораженной маститом молочной железы. Выбор этих видов микроорганизмов объясняется тем, что *Staphylococcus aureus*, по литературным данным, является возбудителем мастита в абсолютном большинстве случаев. *Escherichia coli* - наиболее частый возбудитель мастита из группы грамотрицательных бактерий. Для исследований использовали суточные культуры микроорганизмов в виде 1 млрд. взвесей. Проведение эксперимента и учет результатов проводился по общепринятой методике.

При концентрации активного йода 5 мкг/мл не зависимо от времени экспозиции отмечали сплошной рост микроорганизмов. При концентрации 10 мкг/мл угнетение роста *Staphylococcus aureus* отмечалось даже при 15 минутной экспозиции, и отсутствие роста *Escherichia coli*. Концентрация активного йода 25 мкг/мл являлась бактерицидной для обоих видов микроорганизмов, независимо от времени экспозиции. Результаты исследований показали, что минимальная бактерицидная концентрация активного йода для *Staphylococcus aureus* равна 25 мкг/мл, а для *Escherichia coli* – 10 мкг/мл. Учитывая, что объем одной молочной цистерны - 150–200 мл, в молочную цистерну необходимо ввести 10 мл септогеля с содержанием активного йода 0,5%, что создаст концентрацию активного йода около 250 мкг/мл, то есть превысит минимальную бактерицидную концентрацию в 10 раз, это должно обеспечивать высокую терапевтическую эффективность препарата. Оптимальная терапевтическая доза септогеля составляет 10 мл (50 мг активного йода).

#### **2.1.4. Терапевтическая эффективность септогеля при лечении различных форм мастита у коров**

Эффективность применения препарата септогель исследовали на больных коровах с различными формами мастита. Препараты сравнения: мастисан-А и мастилекс. У животных опытных групп ежедневно проводили клиническое обследование. Критерии выздоровления: исчезновение симптомов заболевания, отрицательный результат пробы молока с 2% раствором мастидина и пробы отстаивания. Результаты изложены в таблице 3.

На основании проведенных исследований, установлено, что:

- для лечения скрытого мастита достаточно однократного введения препарата в дозе 10 мл, эффективность лечения – 95,4%, что практически соответствует эффективности от применения Мастисана-А для терапии скрытого мастита – 92,8%;

- терапевтическая эффективность септогеля при лечении серозного и катарального маститов превышает эффективность мастисана – А, также, следует отметить, что для лечения данной формы мастита у коров требуется меньшая доза препарата (10 мл в сутки) и нет необходимости браковать молоко после завершения лечения. Эффективность лечения при помощи септогеля составляет 93,4 и 91,9 %, при использовании мастисана-А эффективность составляет, соответственно 71,4 и 67,7%. мастилекс по эффективности превосходит мастисан-А, но уступает септогелю – эффективность мастилекса для терапии этих форм мастита составляет 77,4 и 72,5%;

- при лечении фибринозного мастита восстановление секреции отмечалось на 4 – 5 день от начала лечения, а выздоровление было зафиксировано на 6 – 7 день. Оптимальная кратность введения препарата и дозировка, соответственно, 10 мл 2 раза в день, после предварительного удаления из вымени патологического секрета, эффективность лечения – 85,8%. Эффективность мастисана-А – 69,6, а мастилекса – 72,3%;

- при лечении гнойно-катарального мастита восстановление секреции произошло на 6 – 8 сутки от начала лечения, а выздоровление животного было зафиксировано на 10 – 11 день. Кратность введения препарата и дозировка – такие же, как в предыдущем случае. Эффективность лечения – 76,2%, при использовании мастисана-А эффективность 61,2%, а при применении мастилекса – только 59,6%;

Таблица 3

## Сравнительная эффективность септогеля при воспалении молочной железы у коров

| Форма мастита | Подвергнуто лечению (количество) |       | Кратность введения | Удой молока до лечения, кг/сут | Срок выздоровления, дни | Число долей с потерей молочной продуктивности |     |        |      | Удой молока после лечения, кг/сут | Эффективность % |
|---------------|----------------------------------|-------|--------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------|-----|--------|------|-----------------------------------|-----------------|
|               | коров                            | долей |                    |                                |                         | Частичной                                     |     | Полной |      |                                   |                 |
|               |                                  |       |                    |                                |                         | число                                         | %   | число  | %    |                                   |                 |
| Септогель     |                                  |       |                    |                                |                         |                                               |     |        |      |                                   |                 |
| Серозный      | 45                               | 45    | 2,6                | 8,1 ± 0,05                     | 2,5                     | 3                                             | 6,7 | -      | -    | 10,8 ± 0,06                       | 93,4            |
| Катаральный   | 31                               | 37    | 3,1                | 7,8 ± 0,06                     | 3,7                     | 2                                             | 6,5 | 1      | 3,2  | 9,6 ± 0,07                        | 91,9            |
| Фибринозный   | 22                               | 28    | 3,7                | 6,6 ± 0,04                     | 4,2                     | 2                                             | 9,1 | 2      | 9,1  | 7,4 ± 0,05                        | 85,8            |
| Гнойный       | 15                               | 21    | 4,1                | 5,9 ± 0,03                     | 4,8                     | 2                                             | 9,5 | 4      | 19,1 | 6,9 ± 0,07                        | 76,2            |
| Скрытый       | 58                               | 87    | 1,5                | 7,3 ± 0,03                     | 2,1                     | 4                                             | 4,6 | -      | -    | 7,8 ± 0,06                        | 95,4            |

| Мастисан – А |    |    |     |                |     |   |      |   |      |                 |      |
|--------------|----|----|-----|----------------|-----|---|------|---|------|-----------------|------|
| Серозный     | 22 | 28 | 6,3 | $8,4 \pm 0,04$ | 3,2 | 3 | 10,7 | 5 | 17,9 | $9,6 \pm 0,05$  | 71,4 |
| Катаральный  | 25 | 31 | 7,1 | $7,8 \pm 0,05$ | 5,6 | 4 | 12,9 | 6 | 19,4 | $8,5 \pm 0,05$  | 67,7 |
| Фибринозные  | 17 | 23 | 7,7 | $6,5 \pm 0,03$ | 6,8 | 4 | 17,4 | 3 | 13,0 | $7,1 \pm 0,04$  | 69,6 |
| Гнойный      | 16 | 18 | 8,5 | $6,1 \pm 0,03$ | 9,0 | 3 | 16,7 | 4 | 22,2 | $6,5 \pm 0,03$  | 61,2 |
| Скрытый      | 46 | 69 | 2,2 | $7,5 \pm 0,05$ | 3,3 | 5 | 7,2  | - | -    | $8,1 \pm 0,06$  | 92,8 |
| Мастилекс    |    |    |     |                |     |   |      |   |      |                 |      |
| Серозный     | 31 | 31 | 5,1 | $8,6 \pm 0,1$  | 2,7 | 3 | 9,7  | 4 | 12,9 | $10,1 \pm 0,06$ | 77,4 |
| Катаральный  | 26 | 29 | 6,4 | $7,9 \pm 0,08$ | 4,3 | 3 | 10,3 | 5 | 17,2 | $8,4 \pm 0,07$  | 72,5 |
| Фибринозные  | 13 | 18 | 7,1 | $6,7 \pm 0,06$ | 6,1 | 3 | 16,7 | 2 | 11,1 | $7,3 \pm 0,04$  | 72,3 |
| Гнойный      | 14 | 17 | 7,5 | $6,5 \pm 0,05$ | 7,9 | 4 | 23,5 | 3 | 17,6 | $6,9 \pm 0,05$  | 59,1 |

У больных коров измеряли температуру, пульс, частоту дыхания и сокращений рубца. Проводили гематологические и биохимические исследования (вывод лейкоформулы, определение общего белка, кальция, фосфора, резервной щелочности и каротина).

Установлено что показатели крови в обеих групп - в пределах нормы. Количество эритроцитов в опытной группе до лечения -  $5,55 \pm 0,06$  млн., после выздоровления -  $6,91 \pm 0,08$  млн., лейкоцитов -  $10,84 \pm 0,12$  и  $6,62 \pm 0,07$  тыс. В контрольной - эритроцитов до лечения -  $5,61 \pm 0,06$  млн., после -  $6,74 \pm 0,08$ . Разница показателей гемостаза до и после лечения статистически достоверна ( $P < 0,05$ ), что позволяет использовать данные для характеристики терапевтической эффективности препарата. По лейкограмме и биохимическим параметрам крови статистически достоверной разницы нет (параметры неинформативны, исследования при разработке аналогичных препаратов нецелесообразны).

Данные об эффективности препарата септогель для лечения различных форм мастита были подтверждены во время проведения полномасштабных испытаний, проводившихся в хозяйствах Саратовской и Волгоградской области в период 1999–2000г.

При проведении испытаний терапевтической эффективности препарата были получены результаты, свидетельствующие о превосходстве септогеля над мастисаном–А, о большей его эффективности при терапии тяжелых форм маститов по сравнению с традиционными средствами. Кроме того, в пользу применения септогеля говорит то, что нет необходимости определять возбудителя и его чувствительность, ввиду высокой универсальной антимикробной активности йода - действующего вещества септогеля.

Ввиду высокой химической активности йода - действующего вещества септогеля, недопустимо его использование совместно с другими противовоспалительными препаратами, вводимыми интрацистернально - при этом происходит инактивация действующего вещества. Также не исключена возможность негативного действия продуктов реакции на паренхиму вымени и организм животного. По совместному применению септогеля и лекарственных средств общего действия, можно сказать: данных об антагонизме септогеля с какими-либо препаратами для симптоматической и патогенетической терапии маститов, в доступной научной литературе нами не выявлено. Вместе с тем, надо отметить, что комплексная терапия мастита является обязательным условием получения положительных результатов лечения.

### 3 Выводы

1. Разработана технология получения нового препарата септогель, включающая в себя подбор компонентов, их количественное содержание, последовательность введения в состав препарата, оптимизацию концентрации водородных ионов – pH. Комплекс технологических решений обеспечивает необходимое содержание активного йода в препарате в течение длительного времени и не оказывает вредного влияния на слизистые оболочки молочной железы;

2. Доказана высокая антибактериальная активность препарата, бактерицидная концентрация активного йода составляет 25 мкг/мл для *Staphylococcus aureus*, а для *Escherichia coli* – 10 мкг/мл.

3. Установлено, что в течение 18 месяцев хранения, при температуре от + 10 до + 20 °С, препарат не изменяет своих первоначальных свойств, в частности, бактерицидной активности, цвета, pH и содержания в нем активного йода.

4. Фармакотоксикологические исследования показали, что препарат малотоксичен - LD<sub>50</sub> септогеля составляет 85,9±14,1 г/кг живой массы и при длительном применении не вызывает изменений гематологических и физиологических показателей у коров.

5. Препарат септогель не обладает эмбриотоксическим, тератогенным, и мутагенным действием в дозе, превышающей терапевтическую в 100 раз, что составляет 10 мг активного йода на 1 килограмм живой массы, а также не обладает раздражающими и аллергизирующими свойствами.

6. При проведении гистологических исследований паренхимы вымени после введения септогеля установлено, что препарат не оказывает негативного воздействия на клетки паренхимы и стромы молочной железы, не обнаружено никаких отклонений от нормы в клеточном строении молочной железы.

7. Установлено, что терапевтическая эффективность применения септогеля при лечении скрытого мастита составляет 95,4 %, серозного и катарального, соответственно, 93,4 и 91,9 %, фибринозного мастита – 85,8%, гнойно-катарального – 76,2 %, что превосходит по своей эффективности широко используемые антибиотикосодержащие противомаститные препараты – мастисан-А и мастилекс.

8. При лечении фибринозного мастита препаратом септогель, восстановление секреции в пораженной доле молочной

железы отмечено на 4–5 день от начала лечения, при гнойно-катаральном – на 6–8 день, а полное клиническое выздоровление животных, соответственно, на 6–7 и 10–11 день.

9. Установлено, что в отличие от антибиотико-содержащих препаратов, через сутки после завершения курса лечения животных препаратом септогель, молоко можно использовать без ограничений.

#### **4. Практические предложения**

Для лечения различных форм мастита у коров предложен новый эффективный препарат септогель, который, не содержит антибиотики и молоко после его применения можно использовать для питания людей без ограничений.

Терапевтическая эффективность препарата при скрытом, серозном, катаральном мастите составляет 95,4–91,9 %, фибринозном и гнойно-катаральном – 85,8–76,2%.

Септогель внедрен в ветеринарную практику, ТУ № 9337-015-34214729-00 от 15.02.01, наставление по применению № 13-4-03/0011 от 15.02.01 г.

#### **5. Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Новикова С. В., Егунова А. В. «Разработка йодсодержащего противомаститного препарата», в кн. «Проблемы сельскохозяйственного производства в изменившихся экономических и экологических условиях», материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 25-летию Смоленского СХИ, Смоленск, 1999 г. часть IV, с. 97-99.

2. Гавриш В. Г., Егунова А. В., Семенов С. В., Новикова С. В. «Септогель для лечения коров при мастите», журнал «Ветеринария», № 6, 2000 г., с 33 – 36.

3. Патент № 2165261 на изобретение «Средство для лечения маститов у коров», Гавриш В. Г., Егунова А. В., Новикова С. В., Жуков О. И. Заявка № 2000104660 от 24.02.00 г. зарегистрирован в госреестре изобретений РФ 20.04.01г., с 5.

4. Новикова С. В. «Новый препарат для лечения маститов и хирургических заболеваний кожи и слизистых – «Септогель»», в кн. «Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики, как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельхоз животных», материалы I Международной научно-практической конференции, Ставрополь, 2001 г., с. 516–517.

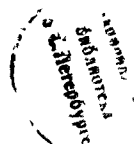
5. Новикова С. В. «Разработка гелевой основы йодсодержащего препарата», в кн. «Материалы 1-го Международного конгресса «Биотехнология – состояние и перспективы развития», 2002 г., с 165.

Подписано в печать 05.04.2004 г. Формат 60х84 1/16  
Усл. печ. л.-1,0. Тираж 100 экз.  
ООО «Макси-Принт», 2004 г.,  
410005, г. Саратов, ул. Б. Садовая, 239, оф. 412

РНБ Русский фонд

2007-4

4781



15 АПР 2004