

На правах рукописи



ЛАТЫПОВА ГУЛЬШАТ МАСГУТОВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАЗИ ЙОДИЛИН -
МАСТИ И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
МАСТИТОВ У КОРОВ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

03.00.07 - микробиология

A handwritten signature in black ink is positioned to the right of the author's name and the degree information.

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2007

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань).

Научные руководители: Доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич
Доктор биологических наук
Малик Нина Ивановна

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Гильмутдинов Рустам Якубович
Доктор биологических наук, профессор
Сунгатуллин Фарух Ахмадуллович

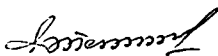
Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН (г. Москва)

Защита состоится «3» мая 2007 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д – 220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г.Казань, Научный городок – 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань)

Автореферат разослан «29» марта 2007 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. Одной из важнейших задач отечественного животноводства, независимо от форм собственности, является увеличение объемов производства молока, и самое главное – повышение его санитарного качества. Основным источником загрязнения молока на первом этапе его получения являются больные маститом коровы (Юрков В.М. и соавт., 1997; Загаевский И.С. и соавт., 1999; Багманов М.А, Никульшина Ю.Б., 2003; Карликова Т.В., 2005).

В возникновении мастита рассматривают причины как инфекционного, так и неинфекционного характера. Установлено большое количество видов микробов, грибов, вирусов, микоплазм, проникающих в вымя гематогенным, лимфогенным и лактогенным путями. Однако в этиологии маститов очень мало внимания уделяется микотоксинам, которые оказывают влияние на половые органы самок животных (Gedek B., 1984; Bauer J., Gareis M., 1989), подавляют иммунную активность организма, повышая восприимчивость к инфекционным болезням, нередко осложняющимся стафило-, стрептококковой и кандидозной инфекциями. Микотоксины обладают антибиотическими свойствами, что отрицательно сказывается на эффективности лечения животных с использованием антибиотиков и химиотерапевтических средств (А.Ф. Кузнецов, 2001).

В настоящее время для лечения и профилактики мастита у коров в основном используют антимикробные препараты. Но ни один из них не обладает универсальной способностью подавлять все виды микробов, вызывающих развитие воспалительных процессов в половых органах и молочной железе. Кроме того, к некоторым из этих препаратов появляются устойчивые формы микроорганизмов, особенно дрожжеподобных грибов и развивается так называемый дрожжевой мастит (Рубцов В.И., 1999). Лекарственные средства, в состав которых входят антибиотики, длительное время задерживаются в организме и выделяются с молоком здоровых долей вымени, отрицательно действуют на процессы иммуногенеза, могут вызывать аллергию у молодняка

животных и человека, развитие дисбактериоза и др. (Копытин В.К., Новиков О.Г., 1999; Слободяник В.И., Кузмин Г.Н., 2004).

В связи с вышеизложенным, разработка экологически безопасных, обладающих высокой профилактической и терапевтической эффективностью средств и способов борьбы с маститами продолжает оставаться актуальной.

Поэтому, в отделе токсикологии ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» на основе йода и ментола создан отечественный препарат йодилин-масти (Тремасов М.Я., Сергейчев А.И., Титова В.Ю., 2001).

1.2. Цель и задачи исследований. Целью исследования явилось изучение этиологической роли микотоксинов в развитии мастита у коров, оценка фармакологических и токсикологических свойств мази йодилин – масти, её профилактической и лечебной эффективности при трещинах кожи сосков вымени и маститах у коров.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

- Изучить показатели токсичности и безвредности препарата йодилин - масти, разработать дозы его применения при лечении и профилактике маститов у коров;
- изучить этиологию маститов у коров и установить роль микотоксинов в развитии данной болезни;
- оценить профилактическую и терапевтическую эффективность мази при трещинах кожи сосков вымени и маститах коров в производственных условиях;
- разработать методы контроля качества препарата, определить его стабильность;
- внедрить препарат в клиническую практику ветеринарной медицины.

Исследования проводились в соответствии с тематическим планом НИР ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» «Экотоксикологический мониторинг» (№ гос. регистрации 01200202603).

1.3. Научная новизна работы. Установлена роль микроскопических грибов и микотоксинов в возникновении маститов. Впервые проведена комплексная работа по изучению безвредности нового, разработанного в ФГУ «ФЦТРБ-

ВНИВИ» препарата йодилин-масти, обоснованы дозы, профилактическая и терапевтическая эффективность его при маститах коров. Лабораторными и производственными опытами доказано, что йодилин-масти не обладает токсичностью, кумулятивными, раздражающими, аллергизирующими свойствами, обладает бактерицидным и фунгицидным действиями, способствует заживлению различного рода ран на коже сосков вымени и выздоровлению большинства больных маститом животных, в зависимости от тяжести воспалительного процесса и этиологии болезни. Разработаны методы контроля качества препарата.

1.4. Практическая ценность работы. На основании проведенных исследований предложено для ветеринарной практики новое лекарственное средство, действующими веществами которого являются соединения йода и ментол – мазь йодилин-масти. Результаты исследований использованы при составлении инструкции по применению йодилин-масти для профилактики и лечения трещин сосков и маститов животных, технических условий йодилин-масти ТУ 9337-006-00492374-05, рекомендаций по борьбе со смешанными микотоксикозами животных, утвержденные в установленном порядке.

1.5. Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных сессиях ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2003-2006 гг., ежегодных всероссийских, международных научно-практических конференциях и симпозиумах: «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга», посвященная 45-летию ФГНУ ВНИВИ (Казань, 2005); «Международная научно – практическая конференция, посвященная 75-летию образования зооинженерного факультета» (Казань, 2005); «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний» (Казань, 2005); «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных, посвященная 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.» (Воронеж, 2006); «Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка» (Казань, 2006).

1.6. Публикации. По результатам исследований опубликовано 7 научных работ.

1.7. Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Фармако-токсикологическая оценка мази йодилин – масти;
- Антибактериальное, фунгистатическое и фунгицидное действия йодилин – масти;
- Эффективность препарата при лечении и профилактике трещин сосков вымени и маститов у коров.

1.8. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты и их обсуждение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Список использованной литературы включает 245 источника, в том числе 61 зарубежных авторов. Диссертация содержит 32 таблицы и 2 рисунка.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа проводилась в 2003-2006 гг. в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», лаборатории качества и стандартизации пробиотических препаратов ФГУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», а также в хозяйствах Высокогорского и Кукморского районов Республики Татарстан.

Йодилин-масти представляет собой однородную коричневого цвета мазь со слабым запахом ментола, содержащая в качестве активнoдействующих веществ соединения йода (калия йодид и йод кристаллический) и ментол, растворенные в этиловом спирте, и мазевую основу (ланолин, вазелин).

Острую токсичность мази йодилин-масти оценивали на белых крысах и мышах обоего пола при однократном внутрижелудочном применении в дозах 5000, 10000, 20000, 25000 мг/кг массы животного и накожном нанесении в дозах - 10, 20 и 30 мг/см².

Изучение кумулятивного действия йодилин-масти проводили с использованием теста «субхронической токсичности», предложенного Lim R.K. et al. (1961) на белых крысах. После окончания опыта животные подвергались патологоанатомическому исследованию по методике Жарова А.В, Шишкова В.П. (1995).

Изучение безвредности препарата при длительном (30 сут) поступлении проводилось на белых крысах массой 50-60 г.

Оценку местно - раздражающего действия мази проводили на белых крысах, кроликах и овцах. Аллергизирующее действие препарата изучали в соответствии с Методическими указаниями МУ 1.1.578-96 «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы». Канцерогенные свойства препарата определяли согласно «Методическим рекомендациям по исследованию канцерогенных свойств фармакологических и лекарственных средств» (М., 1988). Эмбриотоксическое и тератогенное действия мази оценивали в соответствии с методическими указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию.

В ходе экспериментов определялись гематологические и биохимические показатели крови, регистрировался прирост массы тела животных. Количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, СОЭ определяли общепринятыми методами. Определение в сыворотке крови общего белка проводили рефрактометрическим методом на рефрактометре RL-3 (Польша), белковых фракций - нефелометрическим, глюкозы - ортотолуидиновым методами (Кудрявцев А.А. и соавт., 1974; Антонов Б.И. и соавт., 1991).

Исследования проведены на 206 белых крысах, 40 белых мышах, 18 кроликах, 3 овцах, содержавшихся в условиях вивария, и 820 коровах.

Количество йода в сыворотке крови и молоке после применения препарата изучали роданидно-нитритным методом (Аброськина Л.С., 1985), йода в мази - методом сжигания навески исследуемого вещества в присутствии кислорода

(Кондрахин И.П., 2004).

Стабильность препарата изучали в соответствии с «Временной инструкцией по определению сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре».

Бактериостатическое и фунгистатическое действия препарата *in vitro* изучали на музейных штаммах патогенных микроорганизмов: *E. coli* 0126, *Sal. thyphimurium* 371, *Staph. aureus* 209-P, *Str. agalactiae*, *Candida albicans*, методом диффузии в агар, бактерицидную и фунгицидную активность – путем заражения тест-объектов используя методику, описанную Першиным Г.Н. (1971).

Профилактическую и терапевтическую эффективность мази изучали на коровах черно-пестрой, голштинской и холмогорской пород 5-7 летнего возраста в лактационный период. При постановке диагноза на мастит учитывали эпизоотическую обстановку в обследованных хозяйствах. Диагноз ставили на основании клинических признаков; результатов пробы с 2%-ным раствором мастидина, лактотестом (Бельгия), пробы отстаивания и определения соматических клеток в молоке по ГОСТ 23453 – 90 и в лаборатории племзавода Высокогорского района РТ на вискозиметрическом анализаторе молока «СОМАТОС». Также проводили бактериологические исследования проб молока от больных маститом коров (Байрак В.А. и соавт., 1980; Сидоров М.А. и соавт., 1995).

В агрофирме «НУР» и СХП «им. Вахитова» Кукморского района РТ проводили микотоксикологический, микологический анализ кормов на степень их загрязнения микроскопическими грибами и микотоксинами. Микроскопические грибы выделяли согласно методике, описанной Курасовой В.В. и соавт. (1971). Токсичность грибов определяли по методике описанной Спесивцевой Н.А. (1969), кормов – по Курманову И.А., Таланову Г.А. (1977), анализ микотоксинов в кормах осуществляли методами тонкослойной хроматографии, биоавтографии (Антонов Б.И. и соавт., 1991) и хроматомасс-спектрометрии.

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьуденту.

При выполнении отдельных этапов работ принимали участие с.н.с., к.в.н. Сергейчев А.И. и н.с., к.б.н. Матросова Л.Е., за что им выражаем искреннюю благодарность.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Определение безвредности йодилин - масти

3.1.1. Изучение острой токсичности йодилин - масти на белых крысах и мышях

Безвредность препарата изучили на белых крысах массой 190-220 г и мышях массой 18-20 г, разделенных по принципу аналогов на 4 - опытные и 1 - контрольную группы.

Установлено, что препарат в дозах 5000-20000 мг/кг массы тела видимых изменений в поведении и общем состоянии животных не вызвал. Непосредственно после введения максимальной дозы мази (25000 мг/кг) отмечалось угнетение общего состояния крыс и мышей: они были вялыми, отказывались от приема корма и воды, эти признаки исчезали через 40-45 мин. Других изменений со стороны клинического статуса животных не наблюдалось.

Наружное применение препарата белым крысам (n=10) и мышам (n=10) в дозах 10, 20 и 30 мг/см² не вызвало гибели животных и существенных отклонений от нормального физиологического состояния. При диагностическом вскрытии белых крыс и мышей в конце опытов видимых патологоанатомических изменений со стороны внутренних органов не обнаружили.

Таким образом, йодилин-масти, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относятся к 4 классу опасности (малоопасные вещества).

3.1.2. Изучение субхронической токсичности препарата йодилин – масти в опытах на белых крысах

Опытной группе животных перорально вводили 1/10 часть максимальной однократной дозы (25000 мг/кг) йодилин – масти, контрольной – смесь вазелина с ланолином (3:1). Дозу увеличивали через каждые 4 сут в 1,5 раза. Продолжительность опыта составила 24 суток.

За исследованный период отрицательного действия препарата на организм подопытных крыс не установлено. При диагностическом вскрытии через 20 сут после начала опыта 2-х животных из каждой группы видимых патологоанатомических изменений не выявили.

Поскольку максимально вводимая доза препарата не привела к гибели крыс, то определить ЛД₅₀ и рассчитать коэффициент кумуляции по показателю смертельный эффект не представилось возможным. Однако, отношение максимально вводимой дозы при многократном введении на максимально вводимую дозу при однократном введении равнялось 8,3 и по классификации Медведя Л.И. (1986) йодилин-масти можно отнести к веществам, обладающим слабовыраженным кумулятивным действием.

3.1.3. Изучение безвредности препарата на белых крысах при многократном поступлении в организм

Для опыта были сформированы 4 группы животных по 10 голов в каждой. Крысам первой группы ежедневно один раз в сутки вводили внутривентрикулярно в дозе 2500 мг/кг массы тела, второй (20 мг/см²) - накожно мазь йодилин-масти, третья и четвертая группы служили контролем, им задавали в тех же дозах - смесь вазелина с ланолином (3:1).

Наблюдение за животными вели на протяжении 6 месяцев.

В результате исследований установили, что у опытных крыс гематологические показатели крови, содержание общего белка и глюкозы не выходили за пределы физиологических норм. Внутривентрикулярное и накожное использование йодилин-масти не оказывало отрицательного влияния на прирост массы тела крыс. При диагностическом вскрытии животных патологических изменений в органах сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта и мочевыводящих путях обнаружено не было.

3.1.4. Изучение раздражающего и аллергизирующего действия йодилин-масти

Белым крысам и кроликам йодилин-масти наносили на предварительно выстриженную кожу правой стороны спины из расчета 20 мг/см², участок кожи

левого бока служил контролем – наносили смесь вазелина с ланолином (5:1). Овцам на переднюю и заднюю правые четверти вымени втирали йодилин-масти. Доли левой четверти служили контролем. После удаления препарата и в течение всего периода наблюдений (14 сут), каких - либо функциональных нарушений кожи (эритема, отек, изъязвления, изменение местной температуры) на месте нанесения препарата не отмечалось.

Кроликам вносили 50 мг препарата в конъюнктивальный мешок правого глаза. В левый глаз, служившим контролем, в том же объеме вносили смесь вазелина с ланолином (5:1). В последующие двое суток у всех кроликов отмечалась слабовыраженная гиперемия слизистой правого глаза, которая на третьи сутки исчезала. В дальнейшем каких-либо признаков раздражения слизистой оболочки глаз не отмечалось.

Аллергизирующие свойства мази выявляли на кроликах. На выстриженный участок кожи уха животным опытной группы наносили мазь йодилин-масти в дозе 20 мг/см², а контрольной – в том же объеме смесь вазелина с ланолином (5:1). На протяжении всего опыта видимых кожных изменений на месте введения препарата не отмечалось. Показатель реакции специфического лизиса лейкоцитов у животных опытной группы составил $7,9 \pm 0,05\%$, у контрольной – $7,4 \pm 0,03\%$.

Следовательно, мазь йодилин-масти не обладает аллергизирующими свойствами, а также раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки животных.

3.1.5. Изучение канцерогенных свойств йодилин-масти

Канцерогенные свойства йодилин-масти исследовали на белых мышах и кроликах. Подопытным животным 3 раза в неделю в течение 6 мес. на выстриженный участок кожи (кроликам на - ухо) наносили йодилин-масти 20 мг/см². Контрольным животным по аналогичной схеме наносили смесь вазелина с ланолином (5:1).

За рассмотренный период исследования у подопытных животных заметных изменений кожи и общего состояния не обнаружено. Разница в показателях прироста массы тела мышей опытных и контрольных групп была незначительной.

Гематологические и биохимические показатели крови кроликов как контрольной, так и опытной групп находились в пределах физиологической нормы.

Таким образом, йодилин-масти при длительном накожном нанесении животным не оказывает канцерогенного действия, о чем свидетельствует отсутствие опухолевидных образований на коже и внутренних органах, а также изменения массы тела и основных гематологических показателей.

3.1.6. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия йодилин-масти

Опыты были проведены на 40 самках белых крыс, разделенных на 4 группы: 1-ой группе вводили внутривентрикулярно 0,1 г/кг массы животного мазь йодилин-масти; 2-ой группе ежедневно в кожу нижней стенки живота (в области пакетов молочной железы) втирали мазь по 0,1 г/см²; группы 3 и 4 служили контролем – им внутривентрикулярно и накожно в тех же дозах, что и опытным животным, применяли смесь вазелина с ланолином в соотношении 5:1 и 3:1, соответственно.

Введение исследуемого препарата хорошо переносилось беременными крысами. Он не оказывал отрицательного влияния на массу тела и продолжительность беременности. Существенной разницы в показателях эмбриотоксической и тератогенной активностей между группами не отмечалось. При этом количество желтых тел, мест имплантации, плодов на 1 самку, нормальных эмбрионов в опытных и контрольных группах не отличались более чем на 1,5%. Показатели предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов, общей эмбриональной смертности у подопытных и контрольных животных практически не отличались.

3.2. Изучение антибактериальной, фунгистатической и фунгицидной активности йодилин - масти

Испытано действие мази в дозах 100 мг, 200 мг и 400 мг на патогенные микроорганизмы. Установлено, что *Staph. aureus* 309-P и *Str. agalactiae* оказались высоко чувствительными к йодилин-масти в дозе от 400 мг с зоной задержки роста 28±0,3 мм и 26±1,0 мм, соответственно. *Candida albicans* и *Sal. typhimurium* 371 чувствительны к препарату в дозе от 200 мг с зоной задержки роста равной

$20 \pm 0,8$ мм и $17 \pm 0,5$ мм, соответственно. *E. coli* 0126 чувствительна к препарату в дозе от 400 мг с зоной задержки роста равной $18 \pm 0,6$ мм.

Контактирование тестовых культур в течение 30 мин. с мазью, содержащей 25% йода (от исходного показателя) приводит к полному отсутствию роста *Staph. aureus* 209-P, *Str. agalactiae*, *Sal. typhimurium* 371, 50% йода - *Candida albicans* и 100% - *E. coli* 0126.

3.3. Изучение этиологии маститов крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Республики Татарстан

Для выяснения степени распространения клинических и субклинических маститов у коров в мясо-молочных комплексах СХП «им. Вахитова», агрофирме «Нур» Кукморского района и ОАО Племязавод «Бирюлинский» Высокогорского района Республики Татарстан провели исследования поголовья молочного скота.

Ежегодно, с 2004 по 2006 годы в подопытных хозяйствах регистрировали коров, имеющих воспаление молочной железы: в 2004 году они составили $22,5 \pm 0,4\%$, в 2005 году – $20,2 \pm 0,6\%$ и в 2006 году – $13,8 \pm 0,5\%$. Так, среди больных коров клинически выраженный мастит выявляли в 2004 году у $42,8 \pm 1,6\%$, субклинический у $57,2 \pm 1,5\%$ животных, в 2005 году – $43,3 \pm 2,5\%$ и $56,7 \pm 1,2\%$, в 2006 году – $42,6 \pm 1,7\%$ и $57,4 \pm 2,3\%$, соответственно. Чаще наблюдали серозную, катаральную и серозно-катаральную, в меньшей степени - гнойно-катаральную, гнойную, фибринозную и геморрагическую формы мастита.

В исследованных хозяйствах отмечали нарушение зоогигиенических правил содержания, кормления и технологии доения.

При исследовании секрета из пораженных четвертей вымени в 93% случаев был установлен бактериальный характер воспаления молочной железы. В большинстве проб выявили от 32,4 до 43,7% стрептококков и от 36,7 до 40,5% стафилококков. Микроорганизмы в различных ассоциациях были выделены из проб в 7 – 13% случаев. Из выделенных кокковых культур в исследованных пробах 88,1% составили *Streptococcus agalactiae* и 91,4% - *Staphylococcus aureus*.

Из антибиотиков стафилококки оказались слабочувствительными к пенициллину (34,6%) и стрептомицину (26,5%), стрептококки – стрептомицину и

тетрациклину (20%).

При микологическом исследовании образцов проб кормов установили, что в подопытных хозяйствах, корма нового урожая и хранившиеся, были контаминированы грибами рода *Fusarium* -57%, *Aspergillus* - 65%, *Penicillium* - 75%.

В СХП «им. Вахитова» Кукморского района РТ регистрировали массовые эндометриты крупного рогатого скота с охватом значительного поголовья (до 35-40%). Было установлено возникновение эндометритов коров на фоне нарушения условий содержания и скармливания кормов, содержащих микотоксины.

При оценке микологического состояния животноводческих помещений до и после плановых дезинфекций в 33,3% проб, отобранных из кормушек, в 55,6% соскобах с полов коровника и смывах со стен выделены грибы рода *Candida*.

Во всех видах кормов выделено от 70 до 95% грибов рода *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*. Также обнаруживались микотоксины: Т-2 токсин, зеараленон, афлатоксин В₁, патулин. Результаты наших исследований по выявлению микроскопических грибов и микотоксинов совпадали с полученными ранее данными Садзаглишвили В.А. (2003).

Содержание в кормах зеараленона и афлатоксина В₁ превышало уровень ПДК. Так, количество зеараленона в овсе и ячмене превышало 2,0 мг/кг; афлатоксина В₁- в комбикормах, ячмене и силосе – 0,4 мг/кг.

В образцах выделений из влагалища коров с признаками эндометрита были выделены кишечная палочка, стрепто-, дипло-, стафилококки. Микологическим анализом выявили в 92,7% пробах грибов рода *Candida* и в 4,1% - *Aspergillus* и *Mucor*.

На основании клинических признаков, пробы с маститом и подсчета соматических клеток в молоке (более 500 тыс/мл) установили у каждой второй коровы, больной эндометритом, серозный и катаральный мастит. Микрофлора молока больных маститом коров была представлена стрептококками, стафилококками, энтеробактериями.

Пораженные микотоксинами корма заменили на доброкачественные. Для лечения эндометрита использовали препарат эндометрин, мастита - мазь йодилин-масти, изготовленные в ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». В результате проведенных мероприятий у 87% коров наблюдали полное выздоровление.

3.4. Изыскание оптимальной профилактической и терапевтической дозы мази йодилин-масти

Исследование проводили в хозяйстве Высокогорского района Республики Татарстан. Для определения профилактической и терапевтической доз мази были сформированы 3 группы животных (n=8) без признаков мастита и 3 группы (n=8) с подтвержденным диагнозом серозного и катарального маститов. Коровам двукратно после доения наносили на четверти вымени йодилин – масти первой группе по 1 г, второй - 2 г и третьей – 3 г.

У коров первой группы не происходило полного охватывания пораженных четвертей вымени препаратом, и профилактическая эффективность мази составила 37,5%, терапевтическая эффективность её через 7 сут применения - 25%, а через 14 сут – 37,5%. Во второй и третьей группах были одинаковые результаты – у всех здоровых коров признаков мастита и трещин кожи сосков вымени не обнаружили, у 87,5% больных животных - клинические признаки мастита исчезали на 6-7 дни лечения.

Установлено, что количество йода в сыворотке крови и молоке коров после применения йодилин-масти было в пределах физиологической нормы.

Следовательно, оптимальная терапевтическая и профилактическая дозы мази йодилин-масти равны 2 г на животное.

3.5. Изучение профилактического и лечебного действий мази йодилин - масти в производственных условиях

3.5.1. Оценка эффективности йодилин - масти при профилактике трещин сосков вымени и мастита у коров

Опыты проводили на 300 коровах разделенных на 2 группы. Опытной группе соски и нижние доли вымени после машинного доения (2 раза в сутки) обрабатывали мазью йодилин-масти в дозе 2 г на животное, контрольной -

вазелином. У животных, взятых для опыта, признаков мастита и трещин сосков не наблюдалось. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Профилактическая эффективность йодилин-масти

Группа животных	Препарат	Срок наблюдения (мес.) / Кол-во животных, имеющих трещины сосков вымени и признаки мастита							Кол-во животных	Эффективность (%)
		1	2	3	4	5	6	7		
Контроль	Вазелин	1	2	6	6	13	20	18	150	44
Опыт	Йодилин - масти	1	0	0	1	0	4	0	150	96

Наиболее выраженным профилактическим действием при трещинах сосков вымени и маститах у коров обладала мазь йодилин-масти, обеспечившая до 96% эффекта.

3.5.2. Клинические и гематологические показатели коров при профилактическом применении йодилин-масти

У коров, для лечения которых применяли мазь йодилин-масти, температура тела, пульс и дыхание в течение всего периода исследования находились в пределах физиологической нормы. Динамика изменения количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и общего белка крови коров в данной группе носила волнообразный характер.

В течение первого месяца количество лейкоцитов и эритроцитов составляло $5,6 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$ и $5,8 \pm 0,9 \times 10^{12}/\text{л}$ ($p < 0,05$), соответственно. Затем происходило снижение первого показателя до $5,0 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) и повышение второго показателя до $6,0 \pm 0,3 \times 10^{12}/\text{л}$. В последующие два месяца наблюдали постепенное увеличение содержания лейкоцитов в крови до $6,2 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$), количество эритроцитов, напротив, уменьшалось до $6,0 \pm 0,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ($p < 0,05$), но в последующем происходило их повышение - $6,5 \pm 1,0 \times 10^{12}/\text{л}$ ($p < 0,01$). Количество гемоглобина постепенно возрастало, так если в первый месяц лактации оно составило $99,1 \pm 0,5$ г/л, то к 7-му месяцу достигло $113,2 \pm 0,8$ г/л ($p < 0,01$).

3.5.3. Оценка эффективности йодилин – масти при лечении трещин сосков вымени

В опыт было взято 50 коров, разделенных на две группы, с трещинами и ранками на коже сосков вымени. Трещины и ранки были от 0,5 до 1,0 см, с утолщенными твердыми краями, покрытые корочкой высохшего экссудата, в которых обнаруживались гнойные выделения. Коровам 2 раза в сутки после доения на соски и нижние доли вымени, проводя легкий массаж, наносили опытной группе йодилин-масти по 2 г на животное, контрольной - смесь вазелина с ланолином (5:1).

На 6-7 сутки у 95% животных опытной группы ранки затягивались полностью, болезненность исчезала. Заживление ран и трещин у 100% животных отмечалось на 9-10 сутки. В контрольной группе к 9-10 сут. выздоровление наблюдалось только у 32% животных, у некоторых наблюдались осложнения в виде кровоточащих язвочек (6 голов), у остальных (88%) трещины на коже вымени затягивались к 14-18 суткам.

Следовательно, применение мази йодилин-масти более эффективно (на 18%) и сокращает сроки выздоровления (в среднем на 6 суток) по сравнению с традиционными методами лечения, применяемыми в хозяйствах.

3.5.4. Оценка эффективности йодилин – масти при лечении клинически выраженных и субклинического маститов

Для исследования терапевтической эффективности мази при серозном, катаральном, серозно-катаральном маститах были сформированы 2 группы коров: контрольная (n=30) и опытная (n=30). Все больные животные были переведены с машинного на ручное доение. Животным контрольной группы ежедневно после утреннего и вечернего доений внутрицистернально вводили по 5 мл мастисана - А в каждую пораженную долю и делали короткую новокаиновую блокаду нервов вымени по Д.Д. Логвинову. Опытным группам ежедневно после утреннего и вечернего доений втирали в пораженные четверти вымени по 2 г мази йодилин-масти, производя при этом легкий массаж вымени, и также делали короткую новокаиновую блокаду.

Об эффективности лечения судили по исчезновению клинических признаков воспаления вымени и получению отрицательных результатов исследований на субклинический мастит.

В контрольной группе в течение 6-7 сут выздоровление наступило у 80,0% коров, излечено 82,1% пораженных долей вымени. В опытной группе полное выздоровление в течение 5-6 сут отмечали у 86,7% коров (на 6,7% больше, чем в контрольной), излечено 90,2% пораженных четвертей вымени (на 8,1% больше, чем в контрольной). После завершения курса лечения суточные удои в контрольной и опытной группах возрастали на 16,0% и 21,8%, соответственно.

Следующий опыт был проведен на 60 коровах, у которых лабораторными исследованиями диагностировали мастит, но он не был выраженным.

Были сформированы опытная группа, которую лечили йодилин-масти в сочетании с короткой новокаиновой блокадой и контрольная - мастисаном -А в сочетании с короткой новокаиновой блокадой. При исследовании молока на содержание соматических клеток было выявлено, что в первой группе оно составило $784,9 \pm 12,5$ тыс/мл, во второй - $848,3 \pm 11,7$ тыс/мл.

На 5-6 сутки лечения в контрольной группе выздоровело 83,3% коров, излечено 87,5% четвертей вымени. В опытной группе на 5-6 сут выздоровело 93,3% коров, излечено 94,9% четвертей вымени (на 7,4% больше, чем в контрольной). Суточный удой у опытных коров был на 3,2% больше, чем у контрольных. Количество соматических клеток в секрете молочной железы опытной группы снижалось до $279,5 \pm 10,7$ тыс/мл (на 64,4%) в контрольной - до $375,6 \pm 9,8$ тыс/мл (на 52,1%).

У всех выздоровевших животных опытной группы молоко соответствовало требованиям ГОСТа Р 52054-2003.

3.5.5. Клинические, гематологические и биохимические показатели коров, больных клинической формой мастита, при лечении их йодилин-масти

При клиническом исследовании коров опытной и контрольной групп, отмечалась гиперемия, болезненность, отечность пораженных долей вымени, сужение соскового канала, плохая поедаемость корма. Молоко имело водянистую

консистенцию, серо-белого цвета с примесью мелких хлопьев, сгустков казеина. Температура тела, пульс и дыхание животных были в пределах верхних границ нормы. У коров опытной группы количество лейкоцитов составило $14,6 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, наблюдалось пониженное содержание эритроцитов – $5,04 \pm 0,03 \times 10^{12}/\text{л}$ и гемоглобина – $89,0 \pm 1,0 \text{ г/л}$.

В процессе лечения отмечались понижение местной температуры, отечности, гиперемии и болезненности сосков вымени, молоко приобретало нормальную консистенцию. Происходило уменьшение лейкоцитов на 17,1% ($p < 0,01$) от первоначальных показателей, увеличение количества эритроцитов, гемоглобина на 24,0% ($p < 0,01$) и на 14,6% ($p < 0,01$), соответственно. При биохимическом исследовании сыворотки крови у коров установлено увеличение количества общего белка на 6,6% ($p < 0,05$), кальция – на 8,9% ($p < 0,05$), фосфора – на 6,9% ($p < 0,01$) и каротина – на 11,9% ($p < 0,01$).

3.6. Методы контроля качества йодилин-масти

Качество препарата оценивали по внешнему виду, однородности, цвету, наличию посторонних примесей, содержанию йода, ментола и безвредности для животных (табл. 2).

Таблица 2 – Показатели качества йодилин-масти

Показатель	Норма
Цвет	Коричневый
Запах	Специфический со слабым запахом ментола
Однородность	Однородна
Наличие посторонних примесей	Не допускается
Консистенция	Мазеобразная
Плотность, г/см^3	0,84-0,90
Массовая доля йода, %	Не менее 1
Массовая доля ментола, %	Не менее 1
Безвредность	Безвреден

3.7. Определение стабильности йодилин-масти

Определение стабильности мази проводили при хранении её в термостате при температурах 37 и 50 °С в закрытой темной таре, через промежутки времени, соответствующие 6, 12, 18 и 24 месяцам хранения. Одновременно изучали стабильность йодилин-масти в условиях естественного хранения при комнатной температуре в течение 24 месяцев.

Установили, что в период наблюдения не происходило качественных и количественных изменений составных частей препарата.

Таким образом, минимальный срок годности мази йодилин-масти при хранении её в закрытой темной таре составляет 2 года.

ВЫВОДЫ

1. Новое лекарственное средство йодилин-масти, основными действующими веществами которого являются соединения йода и ментол, мазовой основой – вазелин и ланолин, по ГОСТу 12.1.007.76 относится к 4 классу опасности – вещества малоопасные (для белых крыс и мышей $LD_{50} > 25000$ мг/кг), со слабо выраженными кумулятивными свойствами.

2. При местном применении препарат не оказывает раздражающего, аллергизирующего, не проявляет канцерогенного, эмбриотоксического и тератогенного действий.

3. При длительном внутрижелудочном (2500 мг/кг массы тела) и накожном (20 мг/см²) применении лабораторным животным йодилин-масти не оказывает отрицательного влияния на гематологические показатели крови, на содержание общего белка и его фракций, а также на прирост массы тела животных.

4. Йодилин-масти проявляет бактерицидную и фунгицидную активности в отношении *E. coli* 0126, *Sal. typhimurium* 371. *Staph. aureus* 209-P, *Str. agalactiae* и *Candida albicans*.

5. Основными предрасполагающими факторами возникновения маститов у коров в подопытных хозяйствах являлось неудовлетворительное содержание

животных, не соблюдение правил доения, гематогенное инфицирование вымени при эндометритах, кормление кормами, загрязненными микотоксинами.

6. Экспериментально определены оптимальные лечебная и профилактическая дозы (2 г на животное) препарата, подтвержденные в производственных условиях. Применение мази йодилин-масти оказывает противовоспалительное действие, восстанавливает гематологические и биохимические показатели крови у коров.

7. Применение йодилин - масти с профилактической целью позволяет снизить случаи возникновения маститов и трещин сосков вымени у коров до 96 %.

8. Терапевтическое применение йодилин-масти при трещинах на коже сосков вымени приводит к 95-100%-му восстановлению её целостности, а использование мази в сочетании с короткой новокаиновой блокадой при маститах обеспечивает выздоровление до 93,3% животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для внедрения в ветеринарию рекомендована мазь йодилин-масти для профилактики и лечения трещин сосков вымени, серозной, катаральной и субклинической форм мастита у коров.

2. Разработаны: - «Инструкция по применению йодилин-масти для профилактики и лечения трещин сосков и маститов животных», - «Рекомендация по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в Республике Татарстан», утвержденные в установленном порядке.

3. Подготовлены технические условия на йодилин-масти (ТУ 9337-006-00492374-05), которые направлены на регистрацию в Россельхознадзор.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Латыпова, Г.М. Новое в профилактике и лечении маститов у коров / Г.М. Латыпова, М.Я. Тремасов // Матер. Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотического мониторинга», посвященной 45-летию ФГНУ «ВНИВИ» – Казань, 2005. - С.105-109;
2. Иванов, А. В. К изучению некоторых отдаленных последствий действия мази «Йодилин-масти» / А.В.Иванов, Г.М. Латыпова // Матер. Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию образования зооинженерного факультета. – Казань, 2005. - С. 297-299;
3. Латыпова, Г.М. Препарат для профилактики мастита у животных / Г.М. Латыпова, А.И. Сергейчев // Матер. Международного симпозиума «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний». - Казань, 2005. – Ч. 1. – С. 499-501;
4. Латыпова, Г.М. Новый противомаститный препарат «Йодилин - масти» / Г. М. Латыпова // Матер. Международной научно-производственной конференции «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.». - Воронеж, 2006. – С. 922-924;
5. Латыпова, Г.М. «Йодилин – масти» при терапии мастита у коров / Г.М. Латыпова, Н.И. Малик // Матер. Международной научной конференции «Токсикозы животных и актуальные проблемы молодняка животных». – Казань, 2006. – С. 174-177;
6. Латыпова, Г.М. Оценка эффективности мази «Йодилин-масти» при профилактике мастита и трещин сосков вымени у коров / Г.М. Латыпова, М.Я. Тремасов // Ветеринарный врач. – 2006. - № 3. - С. 34-36;
7. Латыпова, Г.М. Изучение изменения показателей крови у коров при лечении мастита мазью «Йодилин-масти» / Г.М. Латыпова // Ученые записки КГАВМ. – Казань. – 2006. – Т. 187. – С. 11-16.

ЛАТЫПОВА ГУЛЬШАТ МАСГУТОВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАЗИ «ЙОДИЛИН -
МАЗИ» И ПРИМЕНЕНИЕ ЕЁ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
МАСТИТОВ У КОРОВ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

03.00.07. - микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

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

Казань – 2007

Подписано в печать 28.03.07 г. Заказ № 43.

Формат 60x84 1/16. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань)

Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок – 2.