

На правах рукописи



00345522 1

ЧЕРНОВ Виталий Владимирович

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ТЕТРАГОЛДА**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

05 ДЕК 2008

Воронеж – 2008

Работа выполнена в отделе фармакологии и токсикологии ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Шабунин Сергей Викторович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Слободяник Виктор Иванович

кандидат ветеринарных наук
Мартынова Алла Витальевна

Ведущая организация: ГНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт» РАСХН

Защита состоится « 19 » декабря 2008 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета ДМ 006.004.01 при ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии (ВНИВИПФиТ) по адресу: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВНИВИПФиТ

Автореферат разослан « 19 » ноября 200 8 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Ермакова Т.И.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Желудочно-кишечные заболевания телят наряду с респираторными инфекциями занимают основное место в структуре заболеваний молодняка крупного рогатого скота. При этом из года в год более 60,0% телят переболевают различными болезнями с общим синдромом нарушения функций органов пищеварения, из числа заболевших погибает 20-22% телят (А.Г. Шахов с соавт., 2000; А.Г. Шахов, 2002; В.С. Ларичев с соавт., 2007). Убытки, причиняемые желудочно-кишечными болезнями, и, в частности колибактериозом, складываются из отставания в росте, снижения привесов, затрат на лечение и профилактику заболевания, смертности животных. Высокая заболеваемость молодняка приводит к значительному вынужденному убою и падежу животных, недополучению живой массы. Для полноценного оборота стада важно не только получение приплода, но и его сохранность.

Успех борьбы с инфекционными заболеваниями, в т.ч. с колибактериозом, во многом зависит от правильно выбранной схемы лечения. Широкое внедрение в практику животноводческих хозяйств антибактериальных препаратов в начальный период их применения создало иллюзию решения проблемы бактериальных инфекций. Однако эффективность многих антибиотиков, как и других антибактериальных препаратов, резко снижается из-за широкого распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, особенно в семействе энтеробактерий.

Проблема резистентности микроорганизмов к различным антибактериальным препаратам проявилась вскоре после начала их широкого применения в клинической практике. Например, стафилококки, эшерихии, шигеллы крайне быстро приобретают лекарственную устойчивость, как в эксперименте, так и в производственных условиях. Аналогичное свойство выявлено у сальмонелл и стрептококков. В связи с чем, актуальность проблемы терапии инфекционных болезней, вызванных полирезистентными штаммами бактерий, не вызывает сомнения. Возможными путями ее решения может явиться либо синтез новых антибактериальных средств, либо оптимизация применения имеющихся на вооружении препаратов (П.Н.Синягин и др., 1990; Н.В. Душенин, 1991; Л.И. Ефанова, 1997; И.М. Карпуть, 1997; А.Г. Шахов, 1999; Э.П. Карева, Н.А. Солдатенко, В.Н. Зимина, 1999; П.А. Паршин, 1999, 2000; С.В.Шабунин, 1999; С.И. Джупина, 2001; А.Г.Шахов, 2003; Энрикез Б., 1999; LiPhD Jian et.al, 2006 и др.).

Комбинированная антибиотикотерапия в последние десятилетия является преобладающей в лекарственной терапии многих бактериальных инфекций. Широкое распространение в крупных животноводческих хозяйствах желудочно-кишечных болезней, вызываемых ассоциацией бактериальных возбудителей, делает целесообразным для лечения больных животных применять комплексные химиотерапевтические препараты, которые обладают широким спектром антимикробного действия (Г.Н. Ролинсон, 1971; С.В. Шабунин, 1999).

Учитывая, что применение научно-обоснованных комбинаций антибактериальных веществ является важным направлением современной химиотерапии бактериальных инфекций, позволяющим преодолеть проблему антибиотикорезистентности, 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 желудочно-кишечных заболеваний телят.

В этом отношении большой практический и научный интерес представляет тетраголд из группы препаратов, созданных на основе колистина, антимикробная активность которого значительно усиливается при сочетании с сульфаниламидами.

Колистин - антибиотик группы полипептидов, продуцируемых *Bacillus polymyxa*, и высокоактивных в отношении грамотрицательной микрофлоры *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. и других (Е.В. Щетинин, 2000; М.Е. Evans et.al, 1999; J.Li et al., 2005; М.Е. Falagas, S.K. Kasiakou, 2005; LiPhD Jian et.al, 2006). Учитывая, что этот антибиотик в последнее время применяется очень редко для лечения бактериальных инфекций и не обладает перекрестной резистентностью с большинством других антибактериальных препаратов, он был выбран в качестве одного из действующих веществ комплексного антибактериального препарата для лечения желудочно-кишечных заболеваний телят

Цель и задачи исследований. Разработка нового комплексного антибактериального препарата тетраголд, изучение его фармакологических, токсикологических свойств и показаний по его применению.

Для достижения общей цели решали следующие основные задачи:

- В опытах *in vitro* и *in vivo* экспериментально обосновать состав, изучить антимикробную активность и разработать лекарственную форму нового комплексного антибактериального препарата тетраголд;
- Провести токсикометрическую оценку препарата (острая, хроническая, субхроническая токсичность, раздражающее, алергизирующее действие, кумулятивные свойства);
- Изучить фармакокинетику и определить остаточные количества компонентов препарата тетраголд;
- Изучить терапевтическую эффективность тетраголда при лечении желудочно-кишечных заболеваний телят;
- Разработать показания к применению тетраголда при терапии желудочно-кишечных болезней телят.

Научная новизна. Впервые на основе изучения антимикробной активности в опытах *in vitro* и *in vivo* и фармакокинетических параметров экспериментально обоснован состав и разработан новый комплексный антибактериальный препарат на основе колистина с сульфаниламидами (сульфадимезин и триметоприм) - тетраголд. Изучены его фармакологические и ток-

сикологические свойства, определены параметры токсичности препарата, а так же установлено отсутствие возможных отдаленных последствий после его применения. Изучена эффективность применения тетраголда при терапии желудочно-кишечных болезней телят бактериальной этиологии. Получена приоритетная справка на изобретение «Препарат для лечения колибактериоза у молодняка сельскохозяйственных животных» №2008127112 от 03.07.2008 г.

Практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований послужили основанием для разработки нового комплексного антибактериального препарата для лечения желудочно-кишечных заболеваний телят, технологии его промышленного производства и контроля качества, которые в соответствии с широкими производственными испытаниями вошли в нормативно-техническую документацию на препарат (Инструкция по применению тетраголда от 17.11.2008 г. и Стандарт организации (технические условия) по изготовлению и контролю опытной партии тетраголда за номером СТО 10590965-0034-2008 от 17.11.2008 г.), согласованные с Главным государственным ветеринарным инспектором по Воронежской области.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на научно-практической конференции фармакологов РФ, посвященной 85-летию со дня рождения проф. Рабиновича М.И. (Троицк, 2007), межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых (Воронеж, 2007), международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА (Ульяновск, 2008), международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию ветеринарии Курской области (Курск, 2008), международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях» (Воронеж, 2008).

Публикации. Основные научные результаты, включенные в диссертацию, опубликованы в 8 печатных работах, в том числе 1 статья в журнале «Ветеринария и кормление», рекомендованном ВАК Минобробразования РФ.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Научное обоснование состава нового комплексного антибактериального препарата;
- Фармакотоксикология тетраголда;
- Терапевтическая эффективность тетраголда при желудочно-кишечных болезнях телят.

Внедрение результатов исследований. Результаты исследований внедрены в ООО "Содружество" Новоусманского района Воронежской области и СПК "Староникольское" Хохольского района Воронежской области.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 138 страницах и включает: введение, обзор литературы, материал, объем и методы исследований, результаты собственных исследований, их обсуждение, выводы, предложения, список литературы и приложения. Диссертационная работа проиллюстрирована 39 таблицами и 6 рисунками. Список литературы включает 284 источника, в том числе 114 на иностранных языках.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2005-2008 г.г. в отделе фармакологии и токсикологии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии РАСХН в соответствии с планом научно-исследовательских работ по заданию 08.04.01. «Разработать методы ранней диагностики, эффективные средства и способы профилактики и лечения массовых незаразных и вызываемых условно-патогенными микроорганизмами заболеваний у молодняка высокопродуктивных животных» (№ гос. рег. 15070.3666026906.06.8.001.2), программа фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации Россельхозакадемии на 2001-2005 и 2006-2010 г.г.

В проведении ряда исследований принимали участие сотрудники ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии Г.А. Востроилова, Л.В. Ческидова, А.В. Топольницкая, М.Ю. Нижегородов, А.А. Михайлов, А.П. Золототрубов, А.Г. Шахов, Ю.Н. Бригадиров, Л.Ю. Сашнина, С.М. Сулейманов, В.И. Шушлебин и другие, которым автор выражает искреннюю признательность за оказанную помощь и плодотворное сотрудничество.

Лабораторные и опытные образцы препарата тетраголд изготовлены в отделе фармакологии и токсикологии ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии.

Экспериментальные и научно-производственные опыты проведены в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов (И.Т. Фролов, 1965). Перед экспериментом животные выдерживались в течение 2 недель в карантинных условиях на стандартном пищевом рационе (И.П. Западнюк с соавт., 1983). Для опытов животных брали в эксперимент после внутригрупповой адаптации. Доступ к воде и корму был свободным, световой режим естественным.

При выполнении работы проводили токсикологические, физико-химические, гематологические, биохимические, иммунологические исследования с применением современных методов.

В опытах было использовано следующее количество животных: беспородные белые мыши обоего пола массой 18-22 г – 162 гол.; беспородные белые крысы обоего пола массой 160-220 г – 296 гол.; морские свинки обоего пола массой 270-310 г белого цвета или имеющих крупные белые пятна на боках туловища – 36 гол.; кролики массой 2,2-3,1 кг – 22 гол.; телята массой 45-50 кг – 25 гол. Клинические испытания препарата в производственных условиях проведены на 276 телятах массой тела 40-50 кг.

Изучение антимикробной активности и оптимального соотношения компонентов в препарате тетраголд проводились *in vitro* методом серийных разведений (Антонов В.И. с соавт., 1986, Ковалев В.Ф. с соавт., 1988, Сидоров М.А. с соавт., 1995). В качестве тест-культур использовали референтные и полевые (патогенные) штаммы микроорганизмов - возбудителей желудоч-

но-кишечных болезней телят, типированных по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам.

МБСК изучаемых препаратов определяли методом серийных разведений в мясопептонном бульоне (МПБ); МБцК – путем высева из пробирок с прозрачной средой на плотные питательные среды (МПА), не содержащие препарат.

Кроме того, был определен индекс специфической защиты тетраголда на моделях эшерихиозной и сальмонеллезной инфекций белых мышей с массой тела 18-20 г, которых предварительно проверяли на носительство сальмонелл. Перед заражением животных указанными возбудителями определяли минимальную 100%-ю летальную дозу (DLM) суточных культур микроорганизмов. Мышей заражали взвесью бактерий внутрибрюшинно. Тетраголд вводили per os. Для определения специфичности гибели лабораторных животных проводили бактериологическое исследование крови, взятой из камер сердца, а также легких, печени, селезенки и почек.

Острую и хроническую токсичность оценивали в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве», утвержденными ГУВ СССР (1991), аллергенную активность - в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке аллергенных свойств фармакологических средств» (1988), эмбриотоксическую и тератогенную активность - в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств» (1997).

Изучение острой токсичности препаратов проводили общепринятыми методами (М.П. Беленький, 1963; И.В. Саноцкий, 1970) на белых мышах (102 гол.) и белых крысах (102 гол.). Препарат применяли внутрижелудочно. После введения препарата за опытными животными вели постоянное наблюдение на протяжении первого дня. В последующие 14 дней состояние животных отмечали один раз в сутки. Регистрировали общий статус и поведение животных, состояние нервно-мышечных и вегетативных функций, шерстного покрова, поедание корма, потребление воды и времени наступления токсикоза и гибели.

Хроническую токсичность тетраголда изучали на белых крысах (80 гол.) в дозах 1/50, 1/20 и 1/10 от LD₅₀ и белых мышах (60 гол.) в дозах 1/50 и 1/10 от LD₅₀. Препарат вводили ежедневно в смеси с кормом в течение 20 суток. Наблюдение за клиническим состоянием животных вели на протяжении 30 дней от начала опыта. Определение массы тела у всех животных проводили до начала введения препарата и подекадно. На 10-е, 20-е и 30-е сутки от начала введения препаратов определяли относительную массу (коэффициенты) внутренних органов крыс – печени, почек, легких, сердца, селезенки, тимуса, надпочечников и семенников (В.М. Гацура, 1974).

Для выявления возможного токсического действия препарата на организм животных на 10, 20 и 30 сутки от начала опыта на 10 мышах каждой группы проводили определение детоксицирующей функции печени с помощью гексеналовой пробы (С.В. Сперанский, 1980). Гексенал вводили внут-

рибрюшинно в дозе 60,0 мг/кг массы тела в виде 0,2% водного раствора. Тест проводили в условиях тишины и теплового комфорта (23°C). Эффект гексена оценивали по длительности утраты гравитационного рефлекса (бокового положения головы). В эти же сроки на других 10 мышах каждой группы изучали общекомпенсаторные реакции организма с помощью функциональной пробы плаванием (В.И. Гацура, 1974).

Влияние тетраголда на моторно-эвакуаторные функции желудка и кишечника изучали на самцах белых крыс (160-210 г) - по 6 крыс на группу. Во всех экспериментах тетраголд вводили животным внутривентрикулярно в дозах 225,0 и 1125,0 мг/кг за 1 час до постановки тестов. Контрольным животным вводили физиологический раствор (В.С. Бузлама с соавт., 2007).

Тест на эвакуаторную функцию желудка проводили на крысах-самцах методом Brodie. Для этого крысам после 18-часового голодания (с исключением копрафагии) в желудок вводили по 1 мл 35% суспензии сульфата бария на 15% водном растворе ПВП. Через 18 минут после введения индикатора животных умерщвляли, извлекали желудок, его содержимое смывали на предварительно взвешенный фильтр и после высушивания его до постоянного веса определяли массу остатка. По разнице между введенным количеством индикатором и остатком оценивали моторно-эвакуаторную функцию желудка.

Тест проводили по той же методике. Индикатор вводили внутрь в дозе 1 мл. Убой животных проводили через 18 минут после введения индикатора. Извлекали кишечник. Измеряли расстояние от пилоруса до переднего фронта индикатора и длину всего кишечника. Величину транзита определяли по процентному соотношению первой длины ко второй. Кроме этого взвешивали содержимое слепой и толстой кишок.

Раздражающее действие тетраголда на кожу изучали в опытах на кроликах (при нанесении препарата в виде 1,0-10,0%-ного раствора). Площадь нанесения составляла 80-82 см² (5% от общей поверхности тела животных). За два дня до эксперимента тщательно выстригали шерсть на спине, избегая механических повреждений кожных покровов. Экспозиция препарата составляла 4 часа, после чего кожу аккуратно протирали ватным тампоном, смоченным дистиллированной водой. Реакцию кожи на воздействие препарата оценивали через 1 и 16 часов после однократного нанесения.

Учитывали функциональные нарушения кожи, характеризующиеся появлением различной степени выраженности эритемы, отека, трещин, изъязвлений, изменением температуры тела.

Для изучения влияния тетраголда на слизистую глаз кролика в конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали пипеткой по 2 капли подогретого до 40°C препарата в виде 0,5 и 1,0 %-ного раствора. Правый глаз у кроликов служил контролем, на него препарат не наносили. Через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 и 6 часов после инстилляций препарата учитывали клиническое состояние организма животных (температуру тела, частоту пульса, количество дыхательных движений), а также изменение кровенаполнения конъюнктивы, на-

личие лакримации и выделений, состояние роговицы и век, оценивая согласно схеме, приведенной в таблице 1.

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия проведено по методике А.П. Шицковой с соавт. (1977) на самках белых крыс массой 220,0±20,0 г. Фазу полового цикла устанавливали путем исследования вагинального содержимого. Первым днем беременности считали день обнаружения спермиев после подсадки самцов к самкам. На 19-20 день беременности

Таблица 1

Балльная система оценки раздражающего действия препарата
на конъюнктиву глаза кроликов

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Нет реакции	0	Отсутствует
Слабая реакция	2	Слабый
Выраженная реакция	4	Умеренный
Лакримация	6	Слабо выраженный
Наличие выделений	8	Выраженный
Отек век	10	Сильно выраженный

оценивали состояние матки, плацент и плодов, равномерность расположения плодов в рогах матки, подсчитывали количество желтых тел беременности. Раннюю и позднюю резорбцию, общую эмбриональную смертность, выживаемость рассчитывали по формулам, предложенным А.М. Малашенко и И.К. Егоровым (1977). В целях выявления патологии внутренних органов эмбрионов материал фиксировали в жидкости Боуэна и 70° спирте. Аномалии скелета выявляли по методу Даусона (1984). Критериями оценки эмбриотоксического и тератогенного действия препарата служили показатели гибели зародышей на пред- и постимплантационных стадиях развития (эмбриотоксический эффект), наличие аномалий развития внутренних органов и скелета (тератогенный эффект), уровень плодовитости, масса зародышей.

Аллергизирующие свойства тетраголда изучали согласно Методическим рекомендациям, разработанным в НИИ медицины труда АМН РФ по единой схеме постановки токсикоаллергических экспериментов.

Исследование аллергенных свойств препарата проведено на морских свинках-аналогах массой тела 270-310 г, обоего пола белого цвета или имеющих крупные белые пятна на боках туловища, с использованием реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) и реакции специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ). РСАЛ учитывается по величине отношения процента агломерации лейкоцитов в опытном мазке (АО) к проценту агломерации лейкоцитов в контрольном мазке (АК), при этом реакция считается положительной, если процент агломерированных лейкоцитов в опыте выше или ниже показателя агломерации в контроле в 1,5 раза.

Показатель РСЛЛ рассчитывали по формуле:

$$\text{РСЛЛ \%} = \frac{\text{Лк} - \text{Лоп}}{\text{Лк}} \times 100, \text{ где}$$

Влияние препарата на качество мясопродуктов проведено с использованием слепого метода по 9-ти бальной шкале для органолептической оценки качества вареного мяса и бульона разработанного ВНИИМП (1985).

С целью характеристики общего состояния животных при проведении модельных опытов общепринятыми методами, описанными в соответствующих руководствах (В.Г. Колб, В.С. Камышников, 1982; И.П. Кондрахин с соавт., 2004) в крови определяли количество эритроцитов ($10^{12}/л$); гемоглобина (г/л); СОЭ (мм/ч); лейкоцитов ($10^9/л$); тромбоцитов ($10^9/л$). Фракции белка определяли электрофорезом в агарозном геле, концентрацию общего белка, липидов и билирубина наборами фирмы «Vital Diagnostics», концентрацию мочевины, фосфора, холестерина, глюкозы, креатинина, кальция, активность аспартат- и аланинаминотрансфераз (АсАТ и АлАТ), щелочной фосфатазы и γ -глутамилтрансферазы – на биохимическом анализаторе «Hitachi-902».

Определение сульфадимезина в биологическом материале проводили спектрометрически. Метод основан на цветной реакции диазотированной сульфаниловой кислоты с α -нафтолом в сильнощелочной среде. Реакция специфична для сульфаниламидов. Гепаринизированную кровь, плазму или сыворотку крови в количестве 0,2-1 мл в зависимости от предполагаемого содержания препарата доводили дистиллированной водой до 3 мл. Пробы выдерживали до полного гемолиза, после чего осаждали белки трихлоруксусной кислотой. После осаждения белков пробы центрифугировали.

Мочу разводили водой в 20-100 раз в зависимости от предполагаемого содержания препарата и фильтровали. Навеску органов и тканей в количестве 0,1-0,5 г в зависимости от предполагаемого содержания препарата тщательно растирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком, добавляя небольшое количество дистиллированной воды, после чего всю массу количественно переносили в мерную центрифужную пробирку и объем дистиллированной водой доводили до 3 мл. Белки осаждали трихлоруксусной кислотой, перемешивали содержимое стеклянной палочкой, а затем пробы центрифугировали. Количественную концентрацию сульфадимезина в надосадочной жидкости определяли спектрофотометрически при длине волны 520 нм.

Определение триметоприма в биоматериале проводили микробиологическим методом диффузии в агар с тест-культурой *Bacillus pumillus* 8241 (стандарт ВГНКИ) с добавлением в среду ингибитора активности сульфаниламидов – пара-аминобензойной кислоты до концентрации 150,0 мкг/мл.

Определение колистина в биоматериале проводили микробиологическим методом диффузии в агар с тест-культурой *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617 (стандарт ВГНКИ) аналогично выполнению методики определения триметоприма в биоматериале.

При проведении исследований руководствовались «Методическими указаниями по определению остаточных количеств антибиотиков в продук-

тах животноводства» № 3049-84 от 29.06.84 г. И рекомендациями, содержащимися в литературе (В.Ф. Ковалев с соавт., 1988).

Клинические опыты по изучению химиотерапевтической активности тетраголда проводили на телятах 2-5 дневного возраста (276 гол.) в зимне-весенний период в условиях ООО «Содружество» Новоусманского района и СПК «Староникольское» Хохольского района Воронежской области. Для определения клинического статуса больных телят проводили измерение температуры, устанавливали частоту дыхания и пульс, макроскопически исследовали носовые истечения. Методами пальпации и перкуссии оценивали состояние печени, тонкого и толстого отделов кишечника, а также учитывали частоту дефекации, количество фекалий, выделяемое за одну дефекацию и за сутки, их консистенцию, форму, цвет, запах, наличие таких примесей, как кровь, слизь, гной и т.д.

Диагноз на заболевание колибактериозом устанавливали комплексно на основании данных клинического обследования животных, бактериологического исследования, патологоанатомического вскрытия, с учетом эпизотической ситуации в хозяйстве.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel», «Statistica 5,0» на PC «Pentium III». Достоверность отличий оценивали методом парных сравнений, используя t-критерий Стьюдента (Г.Ф. Лакин, 1990).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Антибактериальная активность колистина, сульфадимезина, триметоприма и их различных комбинаций

Было изучено 4 композиции препарата в сравнении с колистином, сульфадимезином и триметопримом.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, изученные композиции обладали высоким антибактериальным действием в отношении основных возбудителей желудочно-кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных. В зависимости от штамма минимальная ингибирующая концентрация (МИК) в отношении *S.dublin* составила для колистина 0,78 мкг/мл, для сульфадимезина – 50,0 мкг/мл, для триметоприма – 25,0 мкг/мл, в отношении *Escherichia coli* составила для колистина – 1,56 мкг/мл, для сульфадимезина и триметоприма – 50,0 мкг/мл.

При изучении антибактериального эффекта различных композиций установлено, что совместное применение колистина, сульфадимезина и триметоприма позволило снизить МИК для сульфадимезина до 2,15-38,1 мкг/мл, для триметоприма – до 0,43-7,63 мкг/мл, для колистина – до 0,54-4,24 мкг/мл в зависимости от комбинации и вида микроорганизма. В пересчете на абсолютную массу составляющих компонентов наиболее активной оказалась композиция 2 (тетраголд).

Таблица 2

Антимикробная активность колистина, сульфадимезина, триметоприма и различных композиций препарата (мкг/мл)

Композиция	К	С	Т	По Σ ДВ	В пересчете на		
					К	С	Т
Escherichia coli 57/853							
K1	1,56	50,0	50,0	12,5	1,52	9,15	1,83
K2				3,12	0,54	2,15	0,43
K3				12,5	2,08	8,33	2,08
K4				50,0	4,24	38,1	7,63
Salmonella dublin 593/75							
K1	0,78	50,0	50,0	12,5	1,52	9,15	1,83
K2				12,5	2,16	8,62	1,72
K3				25,0	4,17	16,7	4,17
K4				50,0	4,24	38,1	7,63
Обозначения: К – колистин; С - сульфадимезин; Т – триметоприм; K1 – композиция 1; K2 – композиция 2; K3 – композиция 3; K4 – композиция 4							

Антимикробная активность тетраголда по абсолютной массе в отношении *S.dublin* снизилась по сравнению с колистином в 16 раз, а по сравнению с сульфадимезином и триметопримом увеличилась в 4 раза. Совместное применение колистина, сульфадимезина и триметоприма позволило снизить МИК для сульфадимезина до 8,62 мкг/мл, для триметоприма – до 1,72 мкг/мл, для колистина – до 2,16 мкг/мл. В отношении эшерихий по абсолютной массе препарата активность композиции 2 снизилась по сравнению с колистином лишь в 2 раза, а по сравнению с сульфадимезином и триметопримом увеличилась в 8 раз. В то же время совместное применение колистина, сульфадимезина и триметоприма позволило снизить МИК для сульфадимезина до 2,15 мкг/мл (выше активности сульфадимезина в 23 раза), для триметоприма – до 0,43 мкг/мл (выше активности триметоприма в 116 раз), для колистина – до 0,54 мкг/мл, что выше активности колистина в 2,9 раза.

Более детальное изучение антимикробной активности показало, что тетраголд обладает выраженными антимикробными свойствами. Бактериостатическая концентрация для кокковой микрофлоры составила 3,12 – 6,25 мкг/мл. Активность препарата в отношении музейных штаммов эшерихий была достаточно высокой – 3,12 – 6,25 мкг/мл, однако, в отношении полевых снижалась до 25,0 мкг/мл. Минимальное ингибирующее действие тетраголда в отношении сальмонелл установлено в концентрации 25,0 мкг/мл. Бактерицидное действие препарата в отношении изученных культур превышало бактериостатическое соответственно в 2 раза.

Установленное взаимоусиливающее действие комбинации колистина, сульфадимезина и триметоприма в отношении изученных этиологически значимых в развитии желудочно-кишечных болезней телят микроорганизмов, а также расширение спектра антибактериальной активности при их со-

вместном применении позволили включить эти активные действующие вещества в состав комплексного препарата.

3.2. Токсикологическая характеристика тетраголда

3.2.1. Острая токсичность

В результате изучения острой токсичности комплексного антибактериального препарата тетраголд на лабораторных животных установлено (табл. 3), что по параметрам острой токсичности согласно ГОСТ 12.1.007-76 препарат относится к IV классу опасности – веществам малоопасным ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Таблица 3

Параметры острой токсичности тетраголда при однократном внутрижелудочном введении для лабораторных животных (мг/кг)

Вид животных	Параметры токсичности					SLD ₅₀
	МПД	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₁₀₀	
Белые мыши	8000,0	9206,2	10776,8 (9610-11900)	12284,4	14000,0	±551,1
Белые крысы	8500,0	8948,2	11231,2 9910-12600	13321,3	14500,0	±627,1

3.2.2. Хроническая токсичность

При изучении хронической токсичности препарата гибели белых крыс в опытных и контрольной группах на протяжении всего опыта не регистрировали. Препарат не вызывал существенных изменений в клиническом состоянии животных: поведение, груминг, аппетит, частота дыхания у всех животных опытных групп, как в период применения препарата, так и в течение 10 дней после окончания применения тетраголда оставались в пределах физиологической нормы.

Установлено, что тетраголд оказывает влияние на интенсивность роста животных (рис. 1). Так в дозе 225,0 и 560,0 мг/кг препарат стимулирует рост животных в среднем на 16,3 и 9,7% соответственно. В течение первой декады

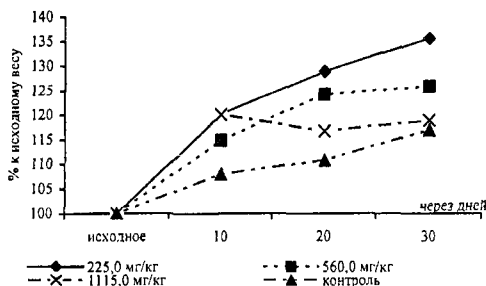


Рис. 1. Динамика изменения массы тела белых крыс при многократном пероральном введении тетраголда

подопытные животные, которым вводили препарат в дозе 1115,0 мг/кг, не отличались от животных 1-ой и 2-ой групп по приросту массы тела. На протяжении второй декады отмечено стабильное снижение прироста массы тела животных по сравнению с 1-ой и 2-ой группой, хотя до конца опыта этот показатель был выше по сравнению с контролем, и к концу эксперимента ста-

статистически достоверных различий по этому показателю не было обнаружено.

Коэффициенты массы внутренних органов, гематологические и биохимические показатели крови крыс, которым применяли препарат в дозах 225,0 (1/50 ЛД₅₀) и 560,0 мг/кг (1/20 ЛД₅₀), существенно не отличались от контроля.

В группе животных, которым вводили препарат в дозе 1115,0 мг/кг массы тела, была отмечена инъекция сосудов внутренних органов и их большее, по сравнению с контрольной группой кровенаполнение. На 20 день применения тетраголда была отмечена тенденция к увеличению коэффициента массы печени по сравнению с контрольными животными на 14,3%. В то же время среднее значение данного показателя у крыс опытной группы не выходило за верхние границы нормы для данного вида и возраста животных.

Следует отметить тот факт, что при применении тетраголда в дозе 1115,0 мг/кг массы тела происходит увеличение массы почек во все сроки изучения, хотя и в разной степени. Так относительная массы почек опытных крыс по сравнению с контролем на 10 день опыта были выше на 6,94%. Через 20 дней это увеличение было более значительным – на 32,1%. В то же время, среднее значение этого показателя у крыс опытных групп не выходило за верхние границы нормы для данного вида и возраста животных. Таким образом, полученные данные говорят о том, что основным органом-мишенью являются почки.

На фоне применения препарата в максимальной дозе (1/10 от LD₅₀) наблюдается изменение и ряда биохимических показателей крови (табл. 4), характеризующих в основном функциональное состояние почек и печени. Так, к 10 дню от начала опыта, у крыс данной группы повысился уровень мочевины на 15,9%, креатинина – на 9,6%, содержание билирубина – на 31,6% и активности щелочной фосфатазы – на 31,6%. Через 20 дней это увеличение было более значительным: мочевины – на 38,7%, креатинина – на 51,3%. Повышение в эти же сроки до верхних границ нормы в сыворотке крови содержания билирубина (на 77,0%) и активности щелочной фосфатазы в 1,7 раза, АсАТ – на 34,6% и АлАТ – на 34,2% свидетельствуют о возросшей нагрузке на печень.

Тетраголд способствует повышению выносливости животных при комплексной эмоционально-физической нагрузке (табл. 5). При его применении в этих дозах длительность плавания мышей до полного утомления увеличилась через 10 дней на 29,8 % и 34,0 % соответственно по сравнению с контролем, через 21 день – на 27,0 и 9,1 %, но, в то же время по сравнению с 10 днем опыта, произошло снижение выносливости белых мышей в группе животных, которым применяли препарат в дозе 1078,0 мг/кг, на 12,7%, что можно интерпретировать как незначительное проявление токсического эффекта препарата. Через 10 дней после отмены тетраголда в изучаемых дозах сопровождалось незначительным повышением выносливости мышей (на 28,7 и 12,6%).

Таблица 4

Биохимические показатели крови белых крыс
при многократном (20 дней) применении тетраголда

Показатели		Контроль	Дозы тетраголда, мг/кг		
			225,0	560,0	1115,0
Общий белок, г/л		60,7±4,31	70,6±1,47	73,7±1,92	65,6±2,16
Альбумины, г/л		33,2±1,39	39,2±0,41	42,5±1,53	36,3±1,91
Глобулины, г/л	-α	5,09±0,20	3,98±0,54	4,55±0,41	4,83±0,52
	-β	12,3±0,70	14,2±1,24	13,7±0,49	13,1±0,59
	-γ	10,1±0,40	13,3±1,80	13,0±1,45	11,3±1,55
Мочевина, мм/л		4,21±0,24	4,42±0,40	4,71±0,25	5,84±0,30*
Глюкоза, мм/л		8,14±1,43	8,65±0,80	8,12±1,00	12,4±1,15*
Холестерин, мм/л		1,72±0,21	1,99±0,09	1,84±0,20	1,89±0,02
АсАТ, Ед/л		147,9±4,24	137,9±8,15	158,9±23,8	199,1±10,8*
АлАТ, Ед/л		26,9±2,77	35,2±1,20	32,0±2,79	36,1±7,85
Креатинин, мкм/л		47,8±5,00	51,9±4,36	60,7±7,19	72,3±3,95*
ЩФ, Ед/л		202,3±23,9	220,7±25,4	232,3±7,54	342,5±6,53*
Билирубин, мкм/л		4,42±0,36	2,19±0,73	2,32±0,16	7,83±0,57
β-липопротеиды, г/л		4,06±0,58	3,89±0,46	3,86±0,10	4,99±0,31

* - $P < 0,05 - 0,001$ по сравнению с контролем

Результаты проведения гексеналовой пробы (табл. 5) показали, что введения тетраголда в дозе 215,5 мг/кг на протяжении 20 дней не оказывает существенного влияния на обезвреживающую функцию печени, продолжительность медикаментозного сна животных не отличалась от контрольной группы во все сроки исследования.

Таблица 5

Результаты гексеналовой пробы у мышей после
многократного введения тетраголда

Доза, мг/кг	Средняя продолжительность сна,			Среднее время плавания,		
	мин			сек		
	10	20	30	10	20	30
Контроль	6,50±0,48	6,41±0,29	6,48±0,36	286,5±27,0	307,1±63,8	301,7±36,1
215,5	6,44±0,33	6,56±0,71	6,45±0,54	372,0±33,1	390,0±60,7	388,2±40,3
1078,0	7,82±0,37	9,07±0,68*	6,62±0,43	383,8±37,9	335,0±68,1	339,6±47,9

* - $P < 0,05 - 0,001$ по сравнению с контролем

Введение препарата в дозе 1078,0 мг/кг оказало существенное влияние на антитоксическую функцию печени. На 10 день опыта продолжительность медикаментозного сна была в 1,2 раза больше по сравнению с контролем, на 20 день – в 1,4 раза. На 30 день опыта показатели данного теста не отличались достоверно от животных контрольной группы, т.е. изменения в антитоксической функции печени были обратимыми.

Как однократное, так и длительное введение тетраголда в течение 20 дней не приводит к нарушениям моторно-эвакуаторной функции желудка, не влияет на перистальтическую активность тонкого кишечника и не изменяет распределение содержимого в компартаментах пищеварительного тракта.

Все изменения в организме лабораторных животных, вызванные двадцатидневным введением комплексного антибактериального препарата в высоких дозах (1/10 ЛД₅₀), носили обратимый характер, о чем свидетельствует восстановление функций организма животных до нормы через 10 суток после отмены препарата.

При изучении кумулятивных свойств по методу Р. Лиме суммарно введенные дозы тетраголда – 141636 мг/кг для белых крыс не вызвали гибели животных. Это не позволило рассчитать коэффициент кумуляции по показателю смертельный эффект, но, учитывая, что полученные дозы составляют 12,8 ЛД₅₀, то возможный коэффициент кумуляции превышает 12,6 и тетраголд относится к веществам не обладающим кумулятивными свойствами.

3.2.3. Изучение субхронической токсичности на телятах

В опыте по изучению субхронической токсичности на телятах тетраголд в изученных дозах не оказывал существенного влияния на клинический статус, скорость роста, поведение и аппетит телят. Показатели клинического состояния телят всех групп в течение всего опыта находились в пределах физиологической нормы. В период всего опыта телята контрольной и опытных групп были подвижны, аппетит выражен, рефлексы сохранены. Нарушений функций пищеварения и мочеотделения не установлено. Препарат в различных дозах не снижал скорости роста телят.

Результаты опыта представлены в таблице 6.

Таблица 6

Показатели крови клинически здоровых телят при применении тетраголда (через сутки после отмены препарата)

Показатели		Контроль	Дозы тетраголда, мг/кг	
			200,0	1000,0
Эритроциты, 10 ¹² /л		6,4±0,31	6,6±0,16	6,1±0,52
Лейкоциты, 10 ⁹ /л		11,1±5,01	10,8±4,13	11,0±4,56
Гемоглобин, г/л		103,1±7,12	110,0±6,04	101,1±9,17
Общий белок, г/л		65,0±0,08	66,7±1,54	63,1±3,32
Альбумины, г/л		34,1±5,17	33,9±6,27	33,1±2,98
Глобулины, г/л	α	9,8±1,08	10,0±2,31	9,7±1,83
	β	11,0±2,15	10,8±1,06	10,5±2,11
	γ	9,1±3,31	9,1±2,64	9,3±1,03
Мочевина, мм/л		4,37±0,11	4,99±0,57	5,04±0,36
Глюкоза, мм/л		4,03±0,09	3,97±0,21	4,22±0,11
Общие липиды, г/л		2,16±0,17	1,87±0,08	1,93±0,16
Холестерин, мм/л		1,18±0,21	1,21±0,16	1,14±0,12
АсАТ, ЕД/л		36,1±5,04	40,2±4,09	51,8±4,84
АлАТ, ЕД/л		76,1±5,99	79,6±7,81	85,0±6,68
Креатинин, мкм/л		109,4±5,54	106,6±4,48	130,3±5,86
Билирубин, мкм/л		2,42±0,24	2,23±0,09	3,26±0,36

Многokратное применение его в условно-терапевтической и в 5 раз ее превышающей дозах существенно не влияло на морфологические и биохимические показатели крови (табл. 6).

Была отмечена лишь тенденция повышения в пределах нормы уровня мочевины, креатинина, билирубина и активности АсАТ, но данные изменения были статистически недостоверны.

3.2.4. Местнораздражающее действие

В результате проведенных исследований местнораздражающего действия тетраголда установлено, что при однократной аппликации на кожные покровы кроликам при плотности нанесения от 0,020 до 0,10 мл/см² препарат не вызывает повреждение кожи в виде эритемы или ее отеков.

Изучение раздражающих свойств препарата на слизистые оболочки, проведенное на кроликах, показало, что через 60, 180 минут и 4 часа раздражающее действие препарата в концентрациях 0,5 и 1,0% отсутствовало.

3.2.5. Аллергенные свойства

Опыты по изучению аллергенных свойств тетраголда проведены на белых беспородных крысах и морских свинках при наружном, конъюнктивальном и внутрикожном способах применения препарата.

Результаты оценки сенсибилизирующего действия тетраголда показали отсутствие выраженной реакции иммунной системы подопытных животных на введение препарата. Препарат не вызывал контактного дерматита после многократных накожных аппликаций, при этом реакции специфического лизиса, специфической агломерации лейкоцитов и не прямой дегрануляции тучных клеток были отрицательны. Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии аллергенного действия у изучаемого препарата.

3.2.7. Влияние тетраголда на качество мясoпродуктов

Гигиеническую оценку влияния тетраголда на качество мясoпродуктов проводили на кроликах с массой тела 2,3-2,5 кг. Животным опытной группы вводили тетраголд в дозе 1115,0 мг/кг массы тела один раз в сутки в смеси с кормом групповым способом в течение 14 дней.

В результате проведенных органолептических исследований не установлено существенных различий между качеством проб бульона и мяса кроликов контрольной и опытной групп.

Пробы мяса имели хороший, свойственный продукту цвет и вид на разрезе, ароматный запах, приятный вкус, нежную консистенцию и достаточную сочность. Бульоны были прозрачные, слегка золотистого цвета с капельками жира, приятные на вкус и достаточно ароматные. Общая органолептическая оценка проб мяса и бульона – хорошая.

3.3. Фармакокинетика тетраголда

Изучение фармакокинетики тетраголда проведено по определению содержания колистина, сульфадимезина и триметоприма в крови телят с массой тела 40-45 кг.

Телятам вводили тетраголд однократно перорально (индивидуально выпаивали с водой) в дозе 0,1 г/кг. Для определения содержания активно де-

йствующих веществ у телят брали кровь из яремной вены через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12 и 24 часа после введения препарата.

Фармакокинетические исследования показали, что уже через 30 минут после введения препарата сульфадимезин, триметоприм и колистин обнаруживаются в крови телят (рис. 2). Установлено, что максимальное содержание сульфадимезина и триметоприма в сыворотке крови телят наблюдается через 3 часа в концентрациях 20,38 и 3,46 мкг/мл соответственно, после чего их концентрация плавно снижалась в течение 9 часов, оставаясь на уровне в 4,5-3,0 раза превышающем терапевтическую концентрацию.

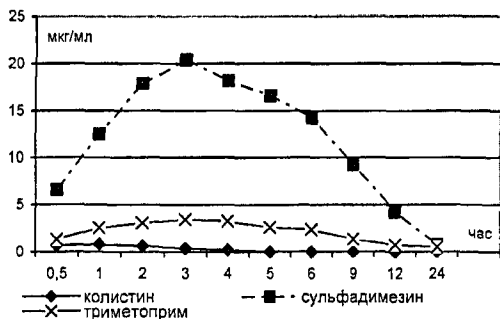


Рис. 2. Содержание сульфадимезина, триметоприма и колистина в сыворотке крови телят после однократного перорального введения тетраголда в дозе 0,1 г/кг массы тела

Минимальная концентрация сульфадимезина и триметоприма через 12 часов продолжает оставаться на уровне минимальной подавляющей концентрации для многих микроорганизмов (4,62 и 0,75 мкг/мл). Эти данные позволяют назначать тетраголд 2 раза в сутки, при этом на всем протяжении интервала дозирования, поддерживающая концентрации сульфадимезина и триметоприма, превышает МПК для

основных возбудителей желудочно-кишечных заболеваний.

Согласно литературным данным и данным, полученным в эксперименте, колистин практически не всасывается из желудочно-кишечного тракта. Его максимальная концентрация 1,01 мкг/мл в сыворотке крови телят наблюдается через 2 часа после применения препарата, что составляет 2-3% от введенной дозы. Но в тоже время изучение антимикробной активности тетраголда показало наличие синергидного эффекта у компонентов препарата, который способствует снижению МПК для изученных культур микроорганизмов.

3.4. Определение остаточных количеств тетраголда в биологическом материале

При изучении сроков выведения колистина, сульфадимезина и триметоприма после курсового 7 дневного применения тетраголда в дозе 0,1 г/кг массы тела с интервалом 12 часов было установлено, что колистин не накапливается и быстро выводится из организма животных. Содержание колистина во всех исследованных биосубстратах через сутки после окончания курсового применения препарата было ниже предела количественного определения метода (0,05 мкг/г). Через трое суток колистин отсутствует во всех объектах исследования.

Через 24 часа после последнего введения препарата остаточные количества сульфадимезина определяются во всех исследуемых органах и биологических жидкостях, наиболее высокое его содержание определяется в крови ($8,32 \pm 1,18$ мкг/мл), печени ($8,79 \pm 2,01$ мкг/г) и почках ($14,3 \pm 3,57$ мкг/г). На 5 сутки после окончания применения тетраголда сульфадимезин обнаруживается в незначительных количествах в крови ($0,24 \pm 0,07$ мкг/мл), печени ($0,31 \pm 0,09$ мкг/г) и почках ($0,47 \pm 0,11$ мкг/г).

Через 5 суток после окончания применения препарата в печени и почках обнаруживали следовые количества триметоприма (ниже предела количественного определения метода - $< 0,05$ мкг/г).

Через 7 суток сульфадимезин, триметоприм и колистин отсутствуют во всех объектах исследования.

Таким образом, срок возможного убоя животных на мясо после применения тетраголда должен быть не менее 7 суток.

3.5. Терапевтическая эффективность тетраголда при колибактериозе телят

Научно-производственные опыты были проведены в хозяйствах Воронежской области: ООО «Содружество» Новоусманского района, СПК «Староникольское» Хохольского района Воронежской области.

Терапевтическую эффективность тетраголда изучали на больных колибактериозом телятах 2-5 дневного возраста. Препарат применяли внутрь два раза в сутки в дозе $0,1$ г/кг массы тела в течение 5 дней. Перед использованием препарат растворяли в небольшом количестве теплой воды (или молока) и выпаивали индивидуально. В качестве препарата сравнения использовали сульф гранулят в соответствии с инструкцией по применению.

Проведенные исследования показали (табл. 7), что тетраголд обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении колибактериоза у телят (в среднем она составила $88,3\%$), что на $10,5\%$ выше эффективности препарата сульф гранулят. По сравнению с контрольными группами при применении препарата тетраголд снизился процент животных, которые остались больными в среднем $10,6\%$, уменьшился срок выздоровления в среднем на $16,0\%$.

Таким образом, результаты изучения терапевтической эффективности тетраголда в производственных условиях позволяют считать, что разработанное нами комплексное антибактериальное лекарственное средство на основе колистина, сульфадимезина и триметоприма при введении внутрь два раза в сутки с интервалом 12 часов в дозе $0,1$ г/кг массы тела в течение 4-5 дней может быть использовано для лечения желудочно-кишечных заболеваний телят бактериальной этиологии.

Результаты проведенных нами исследований по разработке лекарственной формы, изучению антибактериальных, фармако-токсикологических свойств и терапевтической эффективности комплексного антибактериального лекарственного средства на основе колистина, сульфадимезина и тримето-

прима были использованы при разработке технических условий и инструкции по применению лекарственного средства в ветеринарии.

Таблица 7

Эффективность применения тетраголда для лечения колибактериоза у телят

Показатели	Группа животных			
	ООО		СПК	
	«Содружество»		«Староникольское»	
	Сульф гранулят	Тетра- голд	Сульф гранулят	Тетраголд
Количество животных, гол.	78	96	25	34
Выздоровело, гол.	62	85	19	30
%	79,5	88,5	76,0	88,2
Пало, гол.	-	-	-	-
%				
Остались больными, гол.				
%	16 20,5	11 11,5	6 24,0	4 11,8
Сроки выздоровления, дн.				
	5,4±0,3	4,3±0,5	5,2±0,5	4,6±0,3
Терапевтическая эффек- тивность, %	79,5	88,5	76,0	88,2

ВЫВОДЫ

1. Тетраголд – комплексный антибактериальный препарат, состоящий из колистина, сульфадимезина, триметоприма в соотношении 1:4:0,8 и глюкозы в качестве наполнителя.

2. Компоненты тетраголда - колистин, тиметоприм, сульфадимезин обладают взаимоусиливающим антимикробным действием в отношении микроорганизмов вызывающих желудочно-кишечные заболевания телят. Бактериостатическая концентрация для кокковой микрофлоры составляет 3,12 – 6,25 мкг/мл. Активность препарата в отношении музейных штаммов эшерихий достаточно высокая – 3,12 – 6,25 мкг/мл, в отношении полевых штаммов снижена до 25,0 мкг/мл. Минимальное ингибирующее действие тетраголда в отношении сальмонелл установлено в концентрации 25,0 мкг/мл. Бактерицидное действие препарата в отношении изученных культур превышало бактериостатическое соответственно в 2 раза.

3. Тетраголд является малотоксичным препаратом (4 класс опасности). ЛД₅₀ тетраголда при внутрижелудочном введении для белых мышей составляет 10776,8мг/кг, для белых крыс - 11134,7 мг/кг.

4. При многократном пероральном введении тетраголда белым крысам в дозах 1/50 от ЛД₅₀ (225,0 мг/кг) и 1/20 от ЛД₅₀ (560,0 мг/кг) в течение 21 дня не выявлено функциональных изменений в организме животных. Применение препарата в максимальной дозе 1/10 от ЛД₅₀(1115,0 мг/кг) повышает на-

грузку на печень и, главным образом, на почки при отсутствии клинических признаков интоксикации.

5. Тетраголд не обладает раздражающим и кожно-резорбтивным действием. У препарата отсутствуют кумулятивные и аллергенные свойства.

6. При пероральном введении в дозах 100,0 и 500,0 мг/кг в течение 14 дней телятам тетраголд не оказывает существенного влияния на их клинический статус, скорость роста, поведение и аппетит. Многократное применение препарата в дозах 100,0 и 500,0 мг/кг существенно не влияет на морфологические и биохимические показатели крови.

7. При пероральном введении тетраголда сульфадимезин и триметоприм быстро всасываются в кровь и проникают во многие органы и ткани. Максимальное содержание сульфадимезина и триметоприма в сыворотке крови телят наблюдается через 3 часа в концентрациях 20,38 и 3,46 мкг/мл соответственно. Минимальная концентрация сульфадимезина и триметоприма перед введением следующей дозы препарата (через 12 часов) составляет в среднем 4,62 и 0,75 мкг/мл, что позволяет на всем протяжении интервала дозирования поддерживать концентрации сульфадимезина и триметоприма, превышающие МПК для основных возбудителей заболеваний желудочно-кишечной патологии. Колистин практически не всасывается из желудочно-кишечного тракта и его максимальная концентрация - 1,01 мкг/мл в сыворотке крови телят наблюдается через 0,5-1 час и составляет 2-3% от введенной дозы.

8. Терапевтическая эффективность препарата тетраголд при лечении колибактериоза у телят составляет 88,3-92,5 %.

9. Препарат при длительном применении не оказывает отрицательного влияния на качество мяса и бульона, срок возможного использования продуктов убоя составляет – 7 дней после окончания применения препарата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Предприятиям, производящим ветеринарные лекарственные средства, предлагается выпускать препарат тетраголд в соответствии со стандартом организации, согласованным с Главным государственным ветеринарным инспектором по Воронежской области в соответствии с широкими производственными испытаниями.

2. Ветеринарным специалистам животноводческих хозяйств и клиник применять тетраголд в соответствии с инструкцией по применению препарата для лечения колибактериоза у телят.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Чернов В.В. Параметры токсичности комплексного препарата на основе колистина / В.В. Чернов, Л.В. Ческидова // Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины: Матер. науч.-практ. конф. Фармакологов РФ, посвящ. 85-летию со дня рождения проф. Рабиновича М.И. - Троицк, 2007.- С.351-354.

2. Чернов В.В. Терапевтическая эффективность нового комплексного препарата при лечении желудочно-кишечных болезней у поросят / В.В. Чер-

нов //Достижения молодых ученых – будущее в развитии АПК: Матер. меж-региональной науч.-практ. конф.молодых ученых – Воронеж, 2007. – С. 186-188.

3. Комплексные лекарственные препараты на основе гентамицина и колистина при бактериальных инфекциях телят / С.В. Шабунин, Г.А. Востроилова, В.В. Чернов и др.// Ветеринария и кормление, 2007.- ноябрь-декабрь. - С. 12-13.

4. Ческидова Л.В. Лечение желудочно-кишечных болезней бактериальной этиологии у молодняка свиней препаратами колистина /Л.В. Ческидова, В.В. Чернов, М.Ю. Нижегородов// Актуальные вопросы аграрной науки и образования: Матер.междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию Ульяновской ГСХА – Ульяновск, 2008. – Т.3. – С. 151-153.

5. Чернов В.В. Лечебная эффективность тетраголда при респираторной патологии телят /В.В. Чернов, С.В. Шабунин // Актуальные проблемы повышения эффективности агропромышленного комплекса: Матер.междунар. науч.-практ. конф. – Курск, 2008. – Ч.2. – С. 21-23.

6. Востроилова Г.А. Фармако-токсикологические свойства тетраголда /Г.А. Востроилова, В.В. Чернов, О.В. Казимиров// Актуальные вопросы аграрной науки и образования: Матер.междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию Ульяновской ГСХА – Ульяновск, 2008. – Т.3. – С. 24-27.

7. Чернов В.В. Общее действие препарата тетраголд и его влияние на качество мяса / В.В. Чернов, О.В. Казимиров// Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Матер.междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 125-летию ветеринарии Курской области – Курск, 2008. – С. 412-413.

8. Шахов А.Г. Антимикробная активность препарата на основе колистина и сульфаниламидов / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Г.А. Востроилова, В.В. Чернов// Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Матер.междунар. науч.- практ. конф. – Воронеж, 2008. – С. 335-339.

Подписано в печать 18.11.2008

Формат 60 x 84/16 . Бумага офсетная.

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 3286

Отпечатано в типографии

Воронежский ЦНТИ – филиал ФГУ «Объединение

«Росинформресурс» Минпромэнерго России

394730, г. Воронеж, пр. Революции, 30