



003484480

На правах рукописи

*Кос*

**КОСЕНКО ЮРИЙ МИХАЙЛОВИЧ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ  
ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИМИНАЛЯ**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией  
03.00.04 – биохимия

**26 НОЯ 2009**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Воронеж - 2009

Работа выполнена в отделе клинической биохимии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии РАСХН.

**Научные консультанты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
**Шабунин Сергей Викторович**  
доктор биологических наук  
**Востроилова Галина Анатольевна**

**Официальные оппоненты:** Заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, профессор  
**Бузлама Виталий Соломонович**  
доктор ветеринарных наук, профессор  
**Мерзленко Ольга Валерьевна**  
доктор биологических наук, профессор  
**Шапошников Андрей Александрович**

**Ведущая организация:** ФГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

Защита состоится «10» декабря 2009 года в 10 часов на заседании диссертационного совета ДМ 006.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии РАСХН (394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 1146).

Автореферат разослан «10» ноября 2009 г.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВНИВИПФиТ.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.биол.н., доцент



Т.И. Ермакова

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Снижение эффективности химиотерапии и химиопрофилактики, наблюдаемое в различных областях инфекционной патологии человека и животных, объясняется, прежде всего, селекцией лекарственно-устойчивых, полирезистентных форм возбудителей, обусловленной более чем полувековым применением антибиотиков, нарастающими явлениями иммунодепрессии и иммунодефицитов у восприимчивых организмов (Г.И. Истомина с соавт., 1990; А.А. Адарченко с соавт., 1991; А.А. Бужков, 1993; Ю.Н. Федоров с соавт., 1996; А.Г. Шахов с соавт., 2000, 2003; Л.Е. Бояринцев, 2003). Сложившаяся ситуация усугубляется резко возросшей ролью ассоциированных инфекций, L-трансформацией многих видов бактерий, отсутствием средств и методов иммунопрофилактики и иммунотерапии при ряде заболеваний (В.А. Мищенко с соавт., 2002; О.П. Татарчук, 2004; О.В. Распутина, 2007). Следствием этого стало преобладание в этиологии многих болезней более устойчивых форм и видов возбудителей (Н.А. Шкиль с соавт., 2003; Ю.Г. Попов, 2004; Г.Н. Кузьмин, 2006; А.Г. Шахов, 2008).

Развивающиеся патологические процессы характеризуются нарушением обмена веществ, снижением локального и общего иммунного статуса животных, активацией свободнорадикальных механизмов и перекисного окисления липидов, развитием интоксикационных процессов (А.Г. Нежданов, 2005; Н.И. Полянец с соавт., 2006; М.И. Рецкий с соавт., 2008).

Актуальность проблемы терапии инфекционных болезней, вызванных полирезистентными штаммами бактерий, не вызывает сомнения. Возможными путями решения этой проблемы может явиться либо синтез новых антибактериальных средств, либо оптимизация применения уже имеющихся препаратов. Обусловленным является поиск новых фармакологических субстанций, обладающих антимикробными свойствами широкого спектра действия против микроорганизмов с минимальными побочными эффектами и выгодными токсикогенными характеристиками. Кроме этого лекарственные средства необходимо разрабатывать с учетом механизмов патогенеза болезни. Компоненты препарата должны сочетать многосторонний фармакологический эффект и этиопатогенетическую направленность.

Относительно новым и перспективным направлением в разработке новых препаратов для терапии инфекционных болезней являются препараты неантибиотической природы, как, например, соли четвертичных аммониевых соединений, гуанидиновой кислоты и др. (В.И. Стручков с соавт., 1991; М.И. Кузин, 1990; М.М. Астраханова, 1997; С.Ф. Антонов, 1999; К.В. Алексеев с соавт., 2000; В.В. Бобкин, 1999; А.Г. Милановский, 2000; Ю.Г. Попов, 2003; D.R. Harris, 1994).

Несмотря на значительные успехи ветеринарной фармации, выбор субстанций с указанными свойствами ограничен, а их применение не обеспечивает должный лечебно-профилактический эффект.

Указанными свойствами, в частности, обладает циминаль – пара-нитро- $\alpha$ -хлоркоричный альдегид, используемый в медицине в составе препаратов цимезоль и цидипол для лечения и профилактики гнойных осложнений при

повреждении мягких тканей, для профилактики и лечения болезней мочеполовых путей, вызванных трепонемами, гонококками, трихомонадами. В ветеринарии указанная субстанция имеет ограниченное применение (М.Д. Машковский, 1994-2008).

В тоже время производители сельскохозяйственной продукции, использующие в соответствии со своим технологическим регламентом антибиотики, пестициды и стимуляторы роста, должны гарантировать безопасность продукции для здоровья человека. Для этого остаточное содержание этих потенциально опасных химических соединений в готовой продукции должно быть ниже предельно допустимых уровней, определенных законодательством.

Разработка и утверждение гигиенических критериев для лекарственных веществ, применяемых в ветеринарной практике, должно сопровождаться разработкой соответствующей правовой базы для обеспечения контроля за качеством продукции животноводства. Контроль за остаточными количествами действующих веществ в продуктах животноводства является специфической задачей ветеринарной службы, требующей для своего решения значительных материальных затрат и высококвалифицированных кадров (О.И. Кальницкая, 2005; I.Я. Коцюмбас с соавт., 2007).

Новый технологический подход расширяет перечень лекарственных препаратов с использованием в качестве исходного сырья циминая (пара-нитро- $\alpha$ -хлоркоричного альдегида). Однако практически нет сведений по экспериментальной и клинической фармакологии препаратов, получаемых с использованием циминая и эффективности применения таких препаратов в ветеринарной медицине.

С учетом выше изложенного, были определены направленность исследований, их методическое и материальное обеспечение, объем, разнообразие, широта и глубина экспериментальных разработок и клинической апробации новых препаратов.

**Цель и задачи исследований.** Разработать, провести экспериментальную оценку и клинико-биохимическое изучение препаратов на основе циминая. Сформулировать теоретические и методологические принципы получения ветеринарных лекарственных средств на основе циминая и внедрить их в ветеринарную практику

В соответствии с поставленной целью решены следующие задачи:

- научно обосновать необходимость применения субстанции циминая в различных областях ветеринарии;
- разработать новые химиотерапевтические средства на основе циминая;
- дать фармако-токсикологическую характеристику разработанных препаратов;
- обосновать безопасность применения препаратов циминая;
- разработать показания к применению новых препаратов и провести их клинические испытания;

- подготовить нормативно-техническую документацию на новые препараты.

**Научная новизна.** Теоретически и экспериментально обоснованно использование циминаля в качестве субстанции для разработки новых ветеринарных лекарственных средств. Изучены фармакологические свойства и определены параметры токсичности циминаля. Установлено, что субстанция относится к IV классу опасности, имеет слабо выраженные кумулятивные свойства, эмбриотоксическое, тератогенное, мутагенное, раздражающее и аллергенное действия отсутствуют.

Впервые на основе циминаля разработан ряд лекарственных форм, представляющих собой сложные многокомпонентные системы, состоящие из активных и дополнительных ингредиентов, обеспечивающих, в совокупности, высокую терапевтическую эффективность и изучены основные фармако-токсикологические свойства разработанных лекарственных средств. Установлено, что новые препараты относятся к малотоксичным соединениям, не обладают кумулятивным эффектом, аллергенными и сенсибилизирующими свойствами, не оказывают отрицательного влияния на воспроизводительную функцию животных.

Показано, что препараты циминаля при применении их большим животным оказывают нормализующее влияние на морфологические и иммунологические показатели крови, интенсивность течения процессов свободнорадикального окисления липидов, состояние антиоксидантной системы и иммунного статуса.

Даны фармакокинетические характеристики и оценено влияние разработанных лекарственных средств на морфологические и биохимические показатели крови, неспецифическую резистентность организма животных. Научно аргументировано, экспериментально и клинически доказана перспективность использования этих препаратов в ветеринарной медицине. Разработаны максимально допустимые уровни содержания циминаля в продукции животного происхождения и определены сроки ожидания. Научная новизна исследований подтверждена патентом.

**Практическая значимость и реализация результатов исследований.** Обоснована перспективность использования циминаля в качестве субстанции. На основании результатов исследований разработаны технические условия и ТР, регламентирующие технологический процесс производства препаратов: циминаль (ТУ У «24.4.31293151.035-03»); палочки внутриматочные с циминалем (ТУ У 24.4-31293151-042-2004); цидисепт раствор для инъекций (ТУ У 24.4.31293151.041:2005); цидисепт-аэро (ТУ У 24.4.31293151.029:2005) и цидисепт-гель (ТУ У 24.4.31293151.030:2005, СТО 10590965-0004-2006). Департаментом ветеринарной медицины Министерства аграрной политики Украины утверждены временное наставление по применению – циминаля и палочек внутриматочных с циминалем (протокол № 8 от 1.09.2003). Департаментом ветеринарной медицины Министерства аграрной политики Украины зарегистрированы препараты - цидисепт раствор для инъекций (№ 1863-02-672-06 от 31.05.2006.), цидисепт-аэро (№ 2033-02-719-06 от 06.10.2006) и цидисепт-

гель (№ 1743-02-640-06 от 04.05.2006). Инструкция по применению цидисепт-геля, утверждена заместителем руководителя Россельхознадзора РФ за № ПВР-2-1.6/01688 от 11.12.2006 г.

Широкие производственные испытания цидисепта-о разрешены Главным государственным ветеринарным инспектором Воронежской области (Временное наставление на цидисепт-о от 11.01.2005). Нормативно-техническая документация на препарат цидисепт-о представлена на регистрацию в Федеральную службу ветеринарного и фитосанитарного надзора РФ.

Материалы диссертации вошли в Методические рекомендации: «Токсикологический контроль кормов и кормовых добавок» (Львов, 1999), «Установление мутагенности средств защиты животных» (Киев, 2003) и Отраслевой стандарт Украины. «Препараты ветеринарные. Методы изучения безвредности» (Киев, 2003).

**Апробация работы.** Основные результаты исследований представлены на заседаниях Ветфармсовета Украины (Львов, 2003, 2006); методической комиссии ФГУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (Москва, протокол №1 от 25.01.2006 года); международных научно-практических конференциях «Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных» (Воронеж, 2004); «Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных» (Воронеж, 2005); «Актуальные проблемы токсикологии. Безопасность жизнедеятельности людей» (Киев, 2005); международной научно-производственной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.(Воронеж, 2006); междунар. науч.- практ. конф., посвящ. 65-летию Ульяновской ГСХА (Ульяновск, 2008); «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» (Курск, 2008); «Современное состояние и перспективы исследований по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел» (Москва, 2008); «Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных» (Воронеж, 2009), II международном конгрессе специалистов ветеринарной медицины (Киев, 2004), VI Национальном съезде фармацевтов Украины (Харьков, 2005) и V национальном съезде фармацевтов Украины (Харьков, 1999), на I съезде фармакологов России (Воронеж, 2007).

**Публикации.** Основные материалы диссертации изложены в 40 статьях, опубликованных в различных изданиях, в том числе 7 в журналах, рекомендованных ВАК РФ («Ветеринария и кормление», «Ветеринария», «Ветеринарный врач», «Аграрный вестник Урала»), 2 Методических рекомендациях, 1 Отраслевом стандарте Украины, 1 монографии.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

- теоретическое и экспериментальное обоснование использования субстанции цимиаль в составе новых ветеринарных лекарственных средств;
- разработка новых химиотерапевтических средств на основе цимиаля;
- фармако-токсикологические свойства цимиаля и лекарственных средств на его основе;

- влияние разработанных препаратов на клиническое состояние, морфологические и биохимические показатели крови и неспецифическую резистентность организма больных животных, полученных на основе циминаля;
- изучение остаточных количеств препаратов на основе циминаля в продуктах животноводства и установление периодов их выведения;
- эффективность применения ветеринарных лекарственных средств на основе циминаля в клинической практике.

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 330 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 86 таблицами и 46 рисунками. Список литературы включает 510 источников, в том числе 154 на иностранных языках.

## **2. МАТЕРИАЛ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Работа выполнена в 1995-2008 г.г. в отделе клинической биохимии 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 Л.В. Ческидова, А.В. Тополицкая, М.Ю. Нижегородов, А.А. Михайлов, А.Л. Индюков, А.Г. Шахов, Ю.Н. Бригадиров, Л.Ю. Сашнина, С.М. Сулейманов, В.И. Шушлебин, Ю.Н. Алёхин, сотрудники «Зооветеринарного центра» Курило Н.Ф., Гребенщиков В.Е., Галкин А.В. и другие, которым автор выражает искреннюю признательность за оказанную помощь и плодотворное сотрудничество.

Лабораторные и опытные образцы препаратов на основе циминаля изготовлены в ГНУ ВНИВИФит Россельхозакадемии и «Зооветеринарном центре» (г.Харькова, Украина).

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 (Фролов И.Т., 1965). Перед экспериментом животные выдерживались в течение 2 недель в карантинных условиях на стандартном пищевом рационе (И.П. Западнюк с соавт., 1983). Для опыта животных брали в эксперимент после внутригрупповой адаптации. Доступ к воде и корму был свободным, световой режим естественным.

В проведении экспериментальных и научно-производственных работ использовали: самцов и самок мышей белых беспородных и линейных СВА с массой тела  $20,0 \pm 3,0$  г ( $n=3500$ ); самцов и самок белых крыс беспородных и линии Wistar с массой тела  $180,0 \pm 25,0$  г ( $n=750$ ); 4 – морские свинки ( $n=340$ ); кроликов разного пола породы шиншилла с массой тела от 1,1 до 2,5 кг ( $n=120$ ); телят черно-пестрой породы ( $n=180$ ); коров симментальской породы ( $n=100$ ); свиной крупной белой породы и помесей разного возраста и пола ( $n=800$ ); 8 – цыплят-бройлеров кросса Арбор Айкерс ( $n>60000$ ). Подробнее схемы опытов и дозировки препаратов представлены в соответствующих разделах диссертации.

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 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), мутагенную активность препаратов оценивали в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке мутагенности новых лекарственных средств» (1994) и иммунотоксические свойства в соответствии с «Методическими рекомендациями по изучению иммуномодулирующих свойств фармакологических средств» (1992).

Изучение антимикробной активности циминаля и препаратов на его основе в опытах *in vitro* проводились 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 желудочно-кишечных и респираторных болезней телят и поросят, типированных по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам.

Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБСК) изучаемых препаратов определяли методом серийных разведений в мясо-пептонном бульоне (МПБ); минимальную бактерицидную концентрацию (МБЦК) – путем высева из пробирок с прозрачной средой на плотные питательные среды (МПА), не содержащие препарат. В качестве жидкой питательной среды применяли мясо-пептонный бульон. При определении чувствительности стрептококков к среде добавляли 1% глюкозы. Содержание микробных клеток в одном мл среды составляло 500 тысяч. Посевы инкубировали при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 18-24 часов. По истечении срока инкубации учитывали результат.

Изучение острой токсичности препаратов проводили общепринятыми методами (М.П. Беленький, 1963; И.В. Саноцкий, 1970; О.Н. Елизарова, 1971) на белых мышах и белых крысах. Препараты применяли внутрь, внутримышечно, подкожно. Группы животных формировали по принципу парных аналогов по массе тела, развития и клинического состояния. Перед началом опытов животных выдерживали на карантине в течение 12 дней, а перед

введением препарата не кормили в течение 12 часов. После введения препаратов за опытными животными вели непрерывное наблюдение на протяжении первого дня. В последующем состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней. Регистрировали общий статус и поведение животных, состояние нервно-мышечных и вегетативных функций, шерстного покрова, поедание корма, потребление воды и времени наступления токсикоза и гибели. Среднелетальную дозу -  $LD_{50}$  - определяли аналитическим способом Спирмена-Кербера (Лакин Г.Ф., 1990) и с помощью пробит-анализа с использованием прикладной программы «Статистика+2003». Величины  $LD_{16}$  и  $LD_{84}$  препаратов для белых мышей и белых крыс определяли графически на основании соответствующих пробитов и доз в мг/кг массы тела, показатель ошибки средней дозы эффекта -  $SLD_{50}$  - аналитически и графически.

Хроническую токсичность препаратов на основе циминаля изучали на белых крысах и мышах при длительном накожном, парентеральном и аэрозольном введении. Общетоксическое действие препарата оценивали по динамике массы тела животных при взвешивании 1 раз в неделю, гематологическим показателям крови и состоянию системы гемостаза – при исследовании крови у крыс 1 раз в 10 дней и через неделю восстановительного периода. Для исследования внутренних органов животных (тимус, печень, почки, легкие, сердце, селезенка, надпочечники) часть грызунов из каждой группы подвергали эвтаназии в те же сроки исследования (В.М. Гацура, 1974).

Вегетативный статус оценивали по состоянию слизистых, шерстного покрова, ширины глазных щелей, наличию саливации, диареи, опрятности животных.

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 внутривенно в дозе 60,0 мг/кг массы тела в виде 0,2% водного раствора. Тест проводили в условиях тишины и теплового комфорта (23<sup>0</sup>С). Эффект гексенала 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 препаратов на моторно-эвакуаторные функции желудка и кишечника изучали на самцах белых крыс (160-210 г) - по 6 крыс на группу. Во всех экспериментах препараты вводили животным интравентрикулярно 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 копрагагии) 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 индикатора 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 изученных препаратов на кожу изучали в опытах на кроликах. Площадь нанесения составляла для кроликов 80-82 см<sup>2</sup> (5% от общей поверхности тела животных). За два дня до эксперимента тщательно выстригали шерсть на спине, избегая механических повреждений кожных покровов. Экспозиция препаратов составляла 4 часа, после чего кожу аккуратно протирали ватным тампоном, смоченным дистиллированной водой. Реакцию кожи на воздействие препаратов оценивали через 1 и 16 часов после однократного нанесения.

Учитывали функциональные нарушения кожи, характеризующиеся появлением различной степени выраженности эритемы, отека, трещин, изъязвлений, изменением температуры. Оценку раздражающего действия препарата проводили по балльной системе.

Для изучения влияния циминаля и препаратов на его основе на глаз кролика в конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали пипеткой по 2 капли подогретого до 37°C препарата. Правый глаз у кроликов служил контролем, на него препарат не наносили.

Через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часов после инстилляций препаратов учитывали клиническое состояние организма животных (температуру тела, частоту пульса, количество дыхательных движений), а также изменение кровенаполнения конъюнктивы, наличие лагримации и выделений, состояние роговицы и век.

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 оценивали состояние матки, плацент и плодов, подсчитывали количество желтых тел беременности, оценивали равномерность расположения плодов в рогах матки. Раннюю и позднюю резорбцию, общую эмбриональную смертность, выживаемость подсчитывали 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.

Исследование аллергенных свойств препаратов проводили путем постановки кожных реакций, конъюнктивальной пробы у сенсибилизированных морских свинок-аналогов массой тела 270-310 г, обоего пола, белого цвета или имеющих крупные белые пятна на боках туловища, а также путем постановки реакции дегрануляции тучных клеток (РДТК), используя белых крыс в соответствии с Методическими рекомендациями, разработанными в НИИ медицины труда АМН РФ по единой схеме постановки токсикоаллергических экспериментов.

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

Репаративные свойства препаратов изучены на моделях лоскутных кожных ран и ожогов. Нанесение ожоговой травмы, взятие биологического материала от экспериментальных животных проводили в соответствии с существующими требованиями проведения экспериментов на животных. Исследования проводили на белых беспородных крысах массой от 180 до 200 г. Для воспроизведения лоскутной раны на боковой поверхности тела крысы удалялся шерстный покров и участок кожи площадью  $10 \times 10 \text{ мм}^2$ .

Два дозированных симметричных ожога III степени площадью по  $300 \text{ мм}^2$  наносили под хлороформным ингаляционным наркозом на обе стороны предварительно выбритой заднебоковой части тела с помощью специального приспособления при  $t = 100^\circ\text{C}$  в течении 10 секунд. Общая площадь ожогов при этом составляла около 5% поверхности тела. Спустя 5, 10, 15, 20, 25, 30 дней рассчитывают индекс заживления раны (ожога).

Физическую нагрузку создавали методом плавания мышей в обезвоздушенной водопроводной воде при  $20^\circ\text{C}$ . Мышам на корень хвоста закрепляли груз в 5 % от массы тела. Учитывали продолжительность плавания до полного утомления. Не допуская гибели, мышей извлекали из воды, высушивали, отогревали и при необходимости использовали для повторных нагрузок.

С целью характеристики общего состояния животных при проведении модельных опытов общепринятыми методами, описанными в соответствующих руководствах (В.Г. Предтеченский, 1964; И.П. Кондрахин с соавт., 1983; И.М. Карпуть, 1986) в крови определяли количество эритроцитов ( $10^{12}/\text{л}$ ); гемоглобина (г/л); СОЭ (мм/ч); лейкоцитов ( $10^9/\text{л}$ ); тромбоцитов ( $10^9/\text{л}$ ); концентрацию мочевины (мМ/л), фосфора (мМ/л), холестерина (мМ/л), глюкозы (мМ/л), креатинина (мМ/л), кальция (мМ/л), активность аспаргат- и аланинаминотрансфераз (Ед/л), щелочной фосфатазы (Ед/л) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (Ед/л) – на биохимическом анализаторе «Hitachi-902»; концентрацию общего белка (г/л), липидов (г/л) и билирубина (мкМ/л) наборами фирмы «Витал» (Санкт-Петербург);  $\beta$ -липопротеидов (мг%) турбодиметрическим методом (М. Ледвина, 1960); белковые фракции электрофорезом на агарозе (Ю.Б. Филиппович с соавт., 1975); содержание каротина и витамина А в яйце (Л.И. Войтов с соавт., 1989). Определение содержания средних молекул, сорбционную способность эритроцитов проводили по Ю.Н. Алехину и др. (2000-2007).

Характеристику системы пероксидное окисление липидов - антиоксидантная защита (ПОЛ-АОЗ) у животных проводили по показателям: содержание в крови конъюгированных диенов ( $D_{233}$  /мг липидов) и кетодиенов ( $D_{278}$  /мг липидов) определяли спектрофотометрически в гептановой фазе липидного экстракта крови, содержание (мкМ/л) малонового диальдегида – по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (В.С. Бузлама с соавт., 1997); содержание в сыворотке крови флуоресцирующих оснований Шиффа в усл.ед./мл сыворотки на спектроколориметре «Спекол-10» с флуоресцентной приставкой при длине волны возбуждения 365 нм и испускания – 435-440 нм. За 1 условную единицу принимали интенсивность флуоресценции раствора хинин-сульфата с концентрацией 1 мкг/мл в 0,1 Н серной кислоте (W.R. Bidlack, A.L. Tappel, 1973; V.G. Malsbet, A.L. Tappel, 1973); содержание в сыворотке крови витамина Е в мкМ/л (Р.Ш. Кисилевич, С.И. Скварко, 1972). Для повышения чувствительности метода вместо 2,2-дипиридила использовали батофенантролин (I.D. Desai, F.E. Martinez, 1986); активность глутатионпероксидазы (К.Ф. 1.11.1.9.) в крови с использованием в качестве субстрата гидроперекиси изопропилбензола (Г.О. Кругликова, И.М. Штутман, 1976). Активность фермента выражали в мМ восстановленного глутатиона/л.мин; активность глутатионредуктазы (К.Ф. 1.6.4.2.) в крови в мМ окисленного глутатиона/л.мин; (Г.О. Кругликова, И.М. Штутман, 1976); активность каталазы по способности перекиси водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм (М.А. Королук, 1988).

Для характеристики состояния гуморального звена неспецифической иммунологической резистентности организма определяли: бактерицидную активность (%) сыворотки крови (О.В. Смирнова, Т.А. Кузьмина, 1966); лизоцимную активность (мкг/мл) сыворотки крови (О.В. Бухарин, Н.В. Васильев, 1974); комплементарную активность (% гемолиза) сыворотки крови (Г.Ф. Вагнер, 1966); содержание суммарных иммуноглобулинов (отн.ед.) в сыворотке крови с помощью цинк-сульфатного теста (М.А. Воловенко, 1975).

Определение остаточного содержания циминаля в органах, тканях и биологических жидкостях проводили спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность полученных растворов при длине волны 313 нм.

Терапевтическую эффективность применения препаратов на основе циминаля определяли по снижению заболеваемости и падежа, повышению сохранности животных, их продуктивности, воспроизводительных показателей и качества животноводческой продукции. Клиническое наблюдение за опытными животными и диагностические исследования проведены совместно с ветеринарными специалистами.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel», «Statistica 5.0» на РС «Pentium III». Достоверность отличий оценивали методом парных сравнений, используя t-критерий Стьюдента (Г.Ф. Лакин, 1990).

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Антимикробная активность циминаля

Изучение антимикробной активности циминаля в опытах *in vitro* показало, что соединение обладает выраженными антимикробными свойствами. Бактериостатическая концентрация для кокковой микрофлоры составила 3,9 - 15,6 мкг/мл. Активность препарата в отношении как музейных, так и полевых штаммов эшерихий была достаточно высокой – 7,8 – 32,25 мкг/мл. Минимальное ингибирующее действие циминаля в отношении музейных и полевых штаммов сальмонелл установлено в концентрации 6,25-15,6 мкг/мл. Активность препарата в отношении пастерелл также была высокой – 7,8-15,6 мкг/мл, *proteus vulgaris* и *borderella bronchiseptica* – 15,6 мкг/мл. Бактерицидное действие циминаля в отношении изученных культур превышало бактериостатическое - в 2 раза.

#### 3.2. Острая токсичность циминаля

При определении острой токсичности установлено, что ЛД<sub>50</sub> циминаля при пероральном способе введения белым мышам и белым крысам равна соответственно 12280,2 и 12417,7 мг/кг массы тела, а при подкожном введении соответственно – 3188,6 и 4055,1 мг/кг (табл. 1). Эти данные позволяют отнести циминаль к IV классу опасности – малоопасным веществам (ГОСТ 12.1.007-76).

Таблица 1

Параметры острой токсичности циминаля при однократном внутрижелудочном и подкожном введении для лабораторных животных (мг/кг)

Вид животных	Параметры токсичности					SLD <sub>50</sub>
	МПД	LD <sub>16</sub>	LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub>	LD <sub>100</sub>	
внутрижелудочное введение						
Белые мыши	9000,0	10168,0	12280,2 (11400-13100)	14513,3	15599,6	±424,5
Белые крысы	8500,0	10552,3	12417,7 (11400-13400)	14329,3	15273,6	±479,6
подкожное введение						
Белые мыши	1500,0	1913,0	3188,6 (2780-3600)	4449,7	5083,9	±204,0
Белые крысы	2000,0	2862,4	4055,1 (3670-4430)	5247,8	5844,1	±190,6

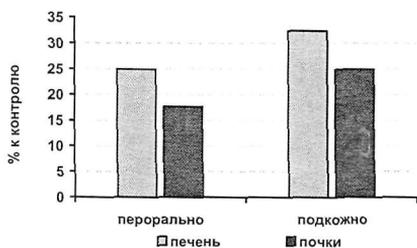
#### 3.3. Хроническая токсичность циминаля

Многokратное пероральное введение циминаля в дозах 248,0 мг/кг (1/50 ЛД<sub>50</sub>), 621,0 мг/кг (1/20 ЛД<sub>50</sub>) и 1242,0 мг/кг (1/10 ЛД<sub>50</sub>) и подкожное – в дозах 81,0 мг/кг (1/50 ЛД<sub>50</sub>), 203,0 мг/кг (1/20 ЛД<sub>50</sub>) и 406,0 мг/кг (1/10 ЛД<sub>50</sub>) не вызывало существенных изменений в клиническом состоянии животных:

поведение, груминг, аппетит, частота дыхания крыс. Случаев гибели подопытных животных не было установлено.

Результаты изучения хронической токсичности циминая при разных способах введения в опытах на лабораторных животных показали, что неблагоприятное влияние циминая на организм крыс носит дозозависимый характер. Двадцатидневное введение циминая в дозах 248,0 мг/кг (пероральное) и 81,0 мг/кг (подкожное) не вызывает функциональных изменений в организме крыс, следовательно, эти дозы можно считать недействующими. Опытные крысы, которым применяли циминая в дозах 621,0 и 203,0 мг/кг не отличались от контрольных по приросту массы тела и относительной массе внутренних органов, но у них отмечена тенденция повышения в сыворотке крови активности ферментов печени, а также повышения количества лейкоцитов, что указывает на первые признаки токсического действия циминая. Следовательно, данные дозы можно считать пороговыми.

Хроническая интоксикация в максимальных дозах 1242,0 и 406,0 мг/кг (1/10 от ЛД<sub>50</sub>) сопровождается снижением массы тела, увеличением относительной массы почек и, главным образом, печени. Относительная масса почек через 21 день при подкожном



*Рис. 1. Влияние циминая на относительную массу печени и почек в дозах 1242,0 (внутрь) и 406,0 мг/кг (подкожно)*

чечек через 21 день при подкожном введении увеличивается на 24,9%, а при пероральном - на 17,7%. Относительная масса печени на 21 день при пероральном введении была увеличена на 24,8%, а при подкожном - это увеличение было более значительным - 32,4%. Дозы 1242,0 и 406,0 мг/кг способствовали снижению количества эритроцитов на 9,4 и 18,7%, гемоглобина на 7,2 и 18,7%, тромбоцитов на 13,7 и 24,5% и увеличению лейкоцитов на 9,3 и 13,2% по отношению к контролю.

На фоне применения препарата в максимальных дозах (1/10 от LD<sub>50</sub>) наиболее характерные изменения произошли в биохимических показателях крови, характеризующих функциональное состояние печени и почек (табл. 2 и 3).

К окончанию опыта (21 день), у крыс данной группы повысился уровень альбуминов на 10,2 и 37,3%, мочевины - на 18,8 и 45,4%, креатинина - на 33,8 и 34,1%, активность ЩФ, АЛАТ, АсАТ - на 33,9 и 44,7; 16,9 и 24,1, 24,6 и 36,2 % соответственно и уровень билирубина на 31,6 и 44,7%. Однако среднее значение этих показателей у крыс опытной группы не выходило за верхние границы нормы для данного вида животных.

Через 10 дней после последнего введения препарата, данные показатели у опытных животных практически восстанавливались до физиологических значений.

Таблица 2

Биохимические показатели крови белых крыс при многократном (21 день) пероральном применении циминала

Показатели	Контроль	Дозы циминала, мг/кг		
		248,0	621,0	1242,0
Общий белок, г/л	68,7±1,50	68,5±1,26	69,4±1,90	71,5±1,58
Альбумины, г/л	32,4±2,11	29,9±1,31	31,1±1,63	35,7±1,08
Мочевина, мМ/л	5,05±0,25	4,92±0,39	5,71±0,41	6,00±0,24*
Глюкоза, мМ/л	5,02±0,37	4,65±0,41	5,12±0,99	5,40±0,32
Холестерин, мМ/л	3,08±0,40	2,99±0,18	2,84±0,31	2,81±0,12
АсАТ, Ед/л	77,9±3,06	79,9±5,15	87,6±7,18	97,1±7,83*
АлАТ, Ед/л	46,7±2,66	45,7±2,27	51,0±3,17	54,6±2,19*
Креатинин, мкМ/л	40,±5,02	41,9±3,39	44,7±4,07	53,5±3,16*
ЩФ, Ед/л	88,0±7,11	90,7±5,48	110,9±10,6	122,6±7,26*
Билирубин, мкМ/л	3,67±0,36	3,12±0,24	3,32±0,19	4,83±0,31*

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

Таблица 3

Биохимические показатели крови белых крыс при многократном (21 день) подкожном введении циминала

Показатели	Контроль	Дозы циминала, мг/кг		
		81,0	203,0	406,0
Общий белок, г/л	69,5±1,76	70,4±1,17	71,3±0,85	75,5±1,79*
Альбумины, г/л	29,2±1,17	29,7±1,98	31,9±0,78	40,1±2,18*
Мочевина, мМ/л	4,76±0,25	4,69±0,38	4,70±0,20	6,92±0,65*
Глюкоза, мМ/л	3,86±0,23	3,75±0,23	3,80±0,51	4,40±0,18
Холестерин, мМ/л	1,38±0,21	1,32±0,09	1,43±0,12	1,51±0,15
АсАТ, Ед/л	106,9±3,54	109,1±9,21	121,2±10,2	145,6±5,19*
АлАТ, Ед/л	26,5±2,05	25,9±1,19	30,9±6,10	32,9±3,65
Креатинин, мкМ/л	32,0±1,08	31,2±1,20	34,2±2,11	42,9±4,52*
ЩФ, Ед/л	107,3±9,05	109,0±7,15	133,0±10,1	155,3±11,1*
Билирубин, мкМ/л	2,19±0,18	2,31±0,30	2,51±0,22	3,17±0,20*

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

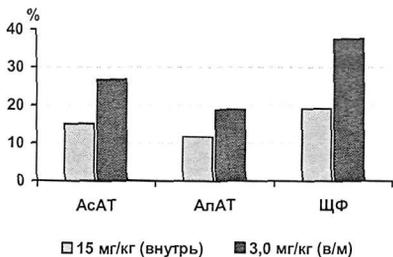
Результаты проведения гексеналовой пробы показали, что введение циминала в наивысших дозах на протяжении 21 дня не оказывало существенного влияния на обезвреживающую функцию печени, продолжительность медикаментозного сна животных не отличалась от контрольной группы во все сроки исследования.

### 3.4. Изучение субхронической токсичности на сельскохозяйственных животных

При изучении субхронической токсичности циминала в опыте на поросятах при пероральном введении в смеси с кормом в условно-терапевтической дозе 1,5 мг/кг, в пять и десять раз ее превышающей (7,5 и

15,0 мг/кг) и при подкожном введении в условно-терапевтической дозе 0,3 мг/кг, в пять и десять раз ее превышающей (1,5 и 3,0 мг/кг) в течение 20 дней не оказывало существенного влияния на клинический статус, поведение и аппетит поросят. В период всего опыта поросята 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 поросят.

Изменения гематологических и биохимических показателей, хотя и отмечались в изучаемые периоды времени, но находились в пределах физиологической нормы, не носили дозозависимый характер. Более выраженные изменения регистрировались в биохимических показателях крови поросят, которым вводили циминаль в наивысших дозах.



*Рис. 2. Влияние циминаля на биохимические показатели крови поросят в дозах 15,0 (внутри) и 3,0 мг/кг (внутримышечно), в % к контролю*

Повышение до верхних границ нормы в сыворотке крови показателей, характеризующие функциональное состояние печени (рис.2), а именно, АсАТ (на 15,1 и 26,8%), АлАТ (на 11,7 и 18,8%), а также увеличение активности щелочной фосфатазы (на 19,1 и 37,5%) свидетельствуют о возросшей нагрузке на эти органы. Эти изменения носили обратимый характер и приходили в норму после отмены препарата. Содержание билирубина в сыворотке крови поросят во все

сроки исследования соответствовало физиологической норме и не отличалось от контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии влияния циминаля на экскреторную функцию печени.

Таким образом, результаты изучения субхронической токсичности показали, что циминаль, как при пероральном, так и при внутримышечном введении в дозах 10 раз превышающих возможные терапевтические дозы препаратов на его основе не оказывает токсического действия на организм животных даже при сроке применения в 2-3 раза превышающем рекомендуемый курс лечения. Учитывая, что наиболее чувствительными органами при передозировке препарата являются печень и почки, в случае патологии этих органов препараты на основе циминаля следует назначать с осторожностью.

### 3.5. Местнораздражающее действие циминаля

В результате проведенных исследований местнораздражающего действия циминаля установлено, что при однократной аппликации на кожные покровы кроликам при плотности нанесения от 0,020 до 0,10 мл/см<sup>2</sup> раствор препарата в концентрациях 0,1; 0,5 и 1,0% 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 0,1 и 0,5% отсутствовало. Раствор циминая в концентрации 1% вызывает слабое раздражение конъюнктивы спустя 30 минут после закапывания, которое проходило уже к 1-му часу.

### 3.6. Аллергенные свойства циминая

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

Результаты оценки сенсибилизирующего действия циминая показали отсутствие выраженной реакции иммунной системы подопытных животных на введение препарата. При постановке конъюнктивальной пробы морским свинкам, предварительно сенсибилизированных циминалом, не было отмечено гиперчувствительности животных к препарату, как через 15 минут (быстрая реакция), так и через 24-48 часов (гиперчувствительность замедленного типа) после нанесения препарата на конъюнктиву глаз.

Препарат не вызывал контактного дерматита после многократных кожных аппликаций, при этом реакции не прямой и неперямой дегрануляции тучных клеток и гиперчувствительности замедленного типа, индуцированной эритроцитами барана были отрицательны. Однако показатель реакции активной кожной анафилаксии (АКА) позволяет сделать вывод о возможности слабовыраженного сенсибилизирующего действия циминая на отдельных животных (табл. 4), обусловленное, вероятно, их индивидуальной чувствительностью к данному соединению.

Таблица 4

Реакция активной кожной анафилаксии у морских свинок на введение циминая

Количество животных в группе (n)	Доза, мг/кг	Индекс реакции АКА, мм
10	Контроль	2,11±0,19
10	0,3 мг/кг (в/м)	2,67±0,12
10	3,0 мг/кг (в/м)	3,97±0,69*
10	1,5 мг/кг (внутри)	2,43±0,16
10	15,0 мг/кг (внутри)	3,76±0,56*

Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии аллергенного действия у циминая.

### 3.7. Мутагенное действие циминая

Данные, характеризующие индукцию клеток с хромосомными aberrациями представлены в таблице 5, из которой видно, что как при однократном пероральном введении циминая в дозе 15,0 мг/кг, а при внутримышечном – 3,0 мг/кг, так и при 4-х кратном в тех же дозах не обнаружено достоверного увеличения хромосомных aberrаций при разных экспозициях. Качественный спектр хромосомных нарушений в контрольных и опытных группах включа-

ли гены и одиночные фрагменты. Сходные результаты получены при многократном введении препаратов в тех же дозах.

Таблица 5

Мутагенная активность циминаля							
Группа	Кол-во исслед. клеток	Аберрации			Гены	Кол-во клеток с множеств. аберрац.	Доля аберрантных клеток
		Фрагменты		Обмены			
		Одиночные	Парные				
Контроль (однократно)							
1	100	0,98±0,41	0	0	0,87±0,31	0	0,98±0,41
Контроль (четырёхкратно)							
2	100	1,13±0,29	0,11±0,11	0	0,74±0,36	0	1,13±0,29
Циминаль (однократно, внутримышечно)							
3	100	1,23±0,56	0	0	1,01±0,45	0	1,23±0,56
Циминаль (четырёхкратно, внутримышечно)							
4	100	1,83±0,54	0,25±0,14	0	0,68±0,51	0	1,83±0,54
Циминаль (однократно, перорально)							
5	100	1,10±0,60	0	0	0,71±0,44	0	1,10±0,60
Циминаль (четырёхкратно, перорально)							
6	100	1,70±0,50	0	0	1,10±0,40	0	1,70±0,50

Обобщая результаты цитогенетических исследований можно заключить, что циминаль в изученных дозах и способах введения не проявляет мутагенную активность в тесте индукции хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей.

### 3.8. Эмбриотоксическое и тератогенное действие циминаля

В опытах по изучению эмбриотоксического и тератогенного действия циминаля на крысах, которым его вводили внутримышечно и перорально в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> соответственно 406,0 и 1242,0 мг/кг на пятый день беременности (период имплантации) и десятый день беременности (период органогенеза) установлено отсутствие эффекта действия. Циминаль не оказывает отрицательного влияния на овуляторные процессы.

Существенных различий в плодовитости крыс опытных и контрольной группы не установлено. Среднее количество плодов на самку в контрольной группе составило 9,97±0,43, а у крыс, получавших циминаль в дозе 406,0 и 1242,0 мг/кг массы тела на 5 и 10 дни беременности 10,0±0,39 и 9,95±0,41 – 9,94±0,41 и 9,90±0,52 соответственно.

Крысята, рожденные от самок опытных групп, не отличались от крысят контрольных самок. Проведенные морфологические исследования показали отсутствие аномалий развития внутренних органов и скелета плодов, рожденных от крыс опытных групп.

Таким образом, циминаль в изученных дозах и способах введения не оказывает эмбриотоксического и тератогенного действия.

### 3.9. Фармакокинетика циминаля в организме поросят

Изучение фармакокинетики циминаля при внутримышечном и пероральном введении и оценка его биологической доступности проведено в двух сериях опытов на кроликах.

В первой серии опытов циминаль вводили внутримышечно в виде раствора, приготовленного на 1,2-пропиленгликоле, в дозе 0,3 мг/кг, вызывающей терапевтический эффект. Во второй серии опытов циминаль вводили перорально в дозе 1,5 мг/кг массы тела в виде пропиленгликолевого раствора. Данная доза была выбрана в ходе предварительных экспериментов. Животным контрольной группы вводили стерильный 1,2-пропиленгликоль внутримышечно или перорально в эквивалентном количестве.

Фармакокинетическими исследованиями установлено, циминаль хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта, достигая терапевтических концентраций в крови в течение 30 минут и максимальных концентраций ( $12,41 \pm 0,23$  мкг/мл) через 2-3 часа после введения (рис. 3). Фармакокинетический профиль при внутримышечном введении циминаля был аналогичен: достижение терапевтических концентраций в крови в течение 30 минут и максимальных концентраций ( $6,70 \pm 0,15$  мкг/мл) через 2-3 часа после введения.

На основании полученных результатов были рассчитаны основные фармакокинетические параметры циминаля с использованием двукамерной модели со всасыванием. Период полуабсорбции препарата при обоих путях введения составил в среднем 0,82 часа. Таким образом, циминаль характеризуется достаточно длительной фазой всасывания, которая сменялась также достаточно длительной фазой элиминации. Объем распределения циминаля, как при внутримышечном, так и при пероральном введении в организме кроликов поддерживается на достаточно высоком уровне (1025 и 5208 мл соответственно), что говорит о способности циминаля накапливаться в тканях в более высоких концентрациях, чем в крови. Период полувыведения ( $T_{1/2}$ ) препарата из организма был достаточно продолжительным - 3,51 ч и 5,50 ч соответственно, что скорее всего обусловлено липофильными свойствами циминаля. Большая площадь под фармакокинетической кривой (51,9 и 136,3 мкг/мл $\times$ ч) также говорит о постепенном всасывании и длительном нахождении циминаля в организме животных.

При сравнении полученных данных установлено, что величины  $Cl_r$  (0,09 и 0,33 л/ч) и  $V_d$  (1025 и 5208 мл) описывающие модель фармакокинетики исследуемой субстанции, при внутримышечном введении меньше таковых

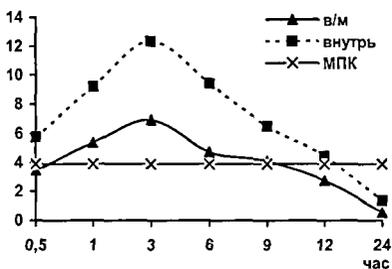


Рис. 3. Динамика содержания циминаля в крови при пероральном и внутримышечном введении препарата (мкг/мл)

при пероральном введении, что свидетельствует о более медленной элиминации циминаля из крови при пероральном введении. Что в свою очередь обусловлено более длительным периодом полувыведения (в 1,6 раза) циминаля при пероральном введении по сравнению с внутримышечным.

Исследуемая субстанция длительное время способна циркулировать в крови ( $MRT_{в/м} - 4,93$  ч;  $MRT_{перорально} - 9,15$  ч).

### 3.10. Разработка максимально допустимого уровня циминаля в продуктах питания

Отечественные производители сельскохозяйственной продукции, использующие в соответствии со своим технологическим регламентом антибиотики, пестициды и стимуляторы роста, должны гарантировать безопасность продукции для здоровья человека. То есть остаточное содержание этих потенциально опасных химических соединений в готовой продукции должно быть ниже предельно допустимых уровней, определенных законодательством.

Риск загрязнения продовольственного сырья потенциально опасными химическими соединениями может быть снижен только при эффективной системе контроля на всех стадиях – от производства до реализации.

С целью изучения безопасности применения препаратов на основе циминаля нами были разработаны максимально допустимые уровни (МДУ) циминаля в продукции животного происхождения (табл. 6).

Таблица 6

Максимально допустимые уровни циминаля (MRLs)

Фармакологически активная субстанция	Контрольное вещество	Вид животных	MRLs	Контрольная ткань
Циминаль	Циминаль	Все виды животных	140 мкг/кг	мышцы почки жир
			50 мкг/кг	печень
			35 мкг/кг	молоко

### 3.11. Конструирование препаративных форм антимикробных композиций на основе циминаля

Обобщив разносторонний фармакологический и токсикологический материал, с учетом перспективности широкого использования циминаля в качестве субстанции было сконструировано 6 антибактериальных препаратов.

Жидкая инъекционная форма – цидисепт - представляет собой композицию из циминаля и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, %: циминаль – 0,3; сорбит – 0,3; полиэтиленоксид-400 – 12,5; 1,2-пропиленгликоль – до 100,0.

Жидкая лекарственная форма для орального применения – **цидисепт-о** – представляет собой композицию из циминая и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, %: циминаль – 0,3; метилцеллюлоза – 0,8%; полиэтиленоксид-400 – 4,6; стабилизатор – 0,3; вода дистиллированная до 100,0.

Жидкая аэрозольная форма – **цидисепт-аэро** – представляет собой композицию из циминая и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, %: циминаль – 0,1; сорбит – 1,0; полиэтиленоксид-400 – 78,9; 1,2-пропиленгликоль – до 100,0.

Мягкая форма – **цидисепт-гель** – представляет собой композицию из циминая и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, %: циминаль – 0,3; этиловый спирт – 2,0; глицерин – 2,0; аристофлекс – 0,9; полиэтиленоксид-400 – 5,0; 1,2-пропиленгликоль – 20,0; масло кукурузное – 5,0%; ЛПФП – 0,07%; вода дистиллированная до 100,0.

Твердая форма – суппозитории – **палочки внутриматочные с циминалем** – представляет собой композицию из циминая и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, г на одну палочку: циминаль – 0,1; полиэтиленоксид-1500 – 7,5; полиэтиленоксид-400 – 1,5; масло кукурузное – 0,5 г; ЛПФП – 7,5 мг; диметилсульфоксид – 0,4 г.

**Цидисепт-присыпка** – представляет собой композицию из циминая и вспомогательных веществ, взятых в следующих соотношениях, %: циминаль – 0,5; метилурацил – 5,0%; тальк – 94,5.

### **3.12. Токсикологическая характеристика лекарственных форм на основе циминая**

*Оценку острой и хронической токсичности* изучаемых препаратов проводили на белых мышах, крысах и цыплятах в соответствии с требованиями к доклиническому изучению новых лекарственных средств.

Препараты оказались не токсичными в остром опыте во всех испытанных дозах. Не отмечено и видовой чувствительности. Препараты по степени токсичности относятся к IV классу опасности – малоопасные вещества (ГОСТ 12.1.007-76).

*Хроническую токсичность* препаратов на основе циминая изучали при применении в течение 21 дня по следующим схемам:

- цидисепт-гель и цидисепт-порошок равномерно наносили на поверхность выстриженного участка кожи крыс по 0,5 г на площадь 5 см<sup>2</sup>, то есть плотность нанесения препарата составляла 0,1 г/см<sup>2</sup> в течение 14 дней.

- цидисепт вводили внутримышечно в дозах 0,1, 0,5 и 1,0 мл/кг массы тела (терапевтическая, в 5 и 10 раз превышающие терапевтическую дозу) в течение 21 дня.

- цидисепт-о вводили перорально в смеси с кормом в дозах 0,5, 1,5 и 2,5 мл/кг массы тела (терапевтическая, в 3 и 5 раз превышающие терапевтическую дозу) в течение 21 дня.

- цидисепт-аэро применяли аэрозольно в течение 14 дней в дозах 1 см<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>; 3 см<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> и 5 см<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>, время распыления 5 минут, экспозиция после распыления – 30 минут.

- палочки внутриматочные с циминалем вводили подкожно в дозах 0,1, 0,3 и 0,6 г/кг массы тела в течение 14 дней.

Наблюдение за животными вели на протяжении всего опыта.

Применение препаратов в ранее указанных дозах не вызывало видимых изменений в поведении, клиническом состоянии животных. Препараты не вызывали изменений в поведенческих реакциях, реакции на внешние раздражители, а также нарушений в двигательной активности животных.

За период наблюдения у животных опытных групп не было отмечено нарушений функций пищеварения и мочеотделения. Подопытные животные потребляли обычное количество корма и воды. Случаев гибели животных опытных и контрольных групп не отмечалось. В течение курса применения препаратов подопытные животные не отличались от контрольных животных по приросту массы тела. По окончании эксперимента статистически достоверных различий по относительным массам внутренних органов крыс между контрольной и опытными группами не обнаружено и находились в пределах физиологической нормы. Длительное применение препаратов на основе циминаля не оказывало отрицательного влияния на морфологические и биохимические показатели крови лабораторных животных.

Местное раздражающее действие оценивали на кроликах и морских свинках. Изучаемые препараты не оказывали заметного влияния на клиническое состояние кроликов и морских свинок, их поведение, аппетит, температуру тела. Препараты не влияли как при однократном, так и при длительном нанесении на слизистую оболочку глаз и на температуру кожи обрабатываемых участков. Обработка кожи растворами препаратов не вызывала изменений цвета, упругости. Не было отёков, изъязвлений, возникновения пузырчатости.

Аллергенные свойства. Исследования по изучению аллергенных свойств препаратов на основе циминаля, в зависимости от путей введения, проводили при наружном и парентеральном способах применения. Опыты по изучению аллергенных свойств проведены на белых беспородных крысах и на морских свинках.

Результаты оценки сенсibiliзирующего действия препаратов на основе циминаля показали отсутствие выраженной реакции иммунной системы подопытных животных на введение препаратов. Препараты не вызывали контактного дерматита после многократных кожных аппликаций, а реакции специфического лизиса и специфической агломерации лейкоцитов были отрицательны. Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии аллергенного действия изучаемых препаратов.

Эмбриотропное действие. В опытах по исследованию эмбриотоксического и тератогенного действия препаратов на основе циминаля (цидисепт, цидисепт-о, цидисепт-аэро) установлено отсутствие эффекта действия. Так, основные показатели, характеризующие эмбриотропное действие препаратов

– предимплантационная смертность зигот, постимплантационная гибель эмбрионов и общая эмбриональная смертность у опытных животных в исследуемых дозах не отличались от контрольных. При исследовании эмбрионального материала по Даусону и Вильсону не выявило каких-либо нарушений во время инкубации. Основные показатели: масса эмбрионов, печени и сердца, длина конечностей и кранио-каудальный размер на 19 день развития были в близких пределах с контрольными, что указывает на отсутствие у них эмбриотоксического и тератогенного действия.

Установлено, что роды у опытных самок, получавших препараты на основе циминаля, наступали, как правило, на 23-24 дни беременности. В те же дни наступали роды и у контрольных самок. Численность помета у опытных самок была такой же как и в контроле. Крысята рождались живые без внешних аномалий. Масса и длина опытных крысят мало отличались от контроля на протяжении всего периода исследований. Постнатальная гибель крысят наблюдалась в единичных случаях и была сравнима с контролем, что свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния препаратов на основе циминаля, вводимых в различные дни эмбриогенеза на постнатальное развитие животных.

### **3.13. Терапевтическая эффективность лекарственных форм на основе циминаля и их влияние на клиническое состояние, гематологический и биохимический профиль, естественную резистентность животных**

#### **3.13.1. Эффективность применения цидисепта инъекционного при респираторной патологии телят**

Научно-производственный опыт был проведен в СПК «Староникольское» Хохольского района Воронежской области на телятах 2-2,5-месячного возраста весом 65-80 кг.

При клиническом исследовании у больных телят отмечали повышение температуры тела до 40-40,5<sup>0</sup>С, признаки бронхопневмонии, кашель, одышку, учащенное дыхание, хрипы, серозные и серозно-слизистые выделения из носовых отверстий, слезотечение. Животные были угнетены, аппетит у них был понижен.

При бактериологическом исследовании патологического материала от павшего теленка выделены культура стафилококка, *Salmonella typhimurium*, диплострептококка.

Препарат применяли внутримышечно один раз в сутки в дозе 0,1 мл/кг массы тела в течение 7 дней. В качестве препарата сравнения использовали энроксил 5% в соответствии с инструкцией по применению.

Исследования выявили у больных животных низкое содержание гемоглобина – 94,1±3,15 г/л, гематокрита – 29,6±1,97%, лимфоцитов – 52,1±2,41%, увеличение лейкоцитов на 21,5% по отношению к клинически здоровым животным (табл. 7).

Помимо этого у больных телят наблюдали нарушение белкового обмена сопровождающееся снижением содержания общего белка на 7,7% и повышением количества мочевины – на 39,5%. Нарушение липидного обмена

проявлялось низким содержанием общих липидов ( $1,96 \pm 0,05$ ), а углеводного – сниженным уровнем глюкозы на 20,6%.

При развитии респираторной патологии у телят происходит активизация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствует увеличение на 45,9% уровня малонового диальдегида (МДА) в крови (табл. 8). При этом отмечается повышение активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ). Активность каталазы повышается на 19,9%, глутатионпероксидазы (ГПО) – на 33,3%. Увеличение на 57,5% оксидов азота свидетельствует о развитии воспалительного процесса в легких и активации макрофагальной NO-синтазы в ответ на повышенный уровень воспалительных цитокинов.

Таблица 7

Гематологические и биохимические показатели у телят в опыте

Показатели	Клинически здоровые телята	Больные телята (до лечения)	После лечения	
			Цидисепт	Энроксил 5%
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,61 \pm 0,27$	$6,34 \pm 0,15$	$6,57 \pm 0,24$	$6,56 \pm 0,31$
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,81 \pm 0,54$	$10,7 \pm 0,22^*$	$8,98 \pm 0,31^*$	$9,11 \pm 0,30^*$
Гемоглобин, г/л	$112,3 \pm 3,42$	$94,1 \pm 3,15^*$	$110,2 \pm 2,64^*$	$110,9 \pm 4,31^*$
Гематокрит, %	$38,7 \pm 1,12$	$29,6 \pm 1,97^*$	$35,2 \pm 1,43^*$	$34,7 \pm 1,25^*$
Лейкоформула: нейтрофилы, %				
- юные	-	-	-	-
- палочкоядерные	$1,28 \pm 0,44$	$3,63 \pm 1,27$	$1,87 \pm 1,15$	$1,80 \pm 1,21$
- сегментоядерные	$26,3 \pm 4,16$	$37,0 \pm 5,67$	$27,9 \pm 3,12$	$28,9 \pm 2,76$
Эозинофилы, %	$3,27 \pm 0,33$	$5,45 \pm 0,46^*$	$3,50 \pm 0,30^*$	$3,55 \pm 0,45^*$
Базофилы, %	-	-	-	-
Моноциты, %	$5,21 \pm 1,00$	$2,76 \pm 0,87$	$5,11 \pm 0,45^*$	$5,09 \pm 0,90$
Лимфоциты, %	$64,8 \pm 3,12$	$52,1 \pm 2,41^*$	$61,6 \pm 1,87^*$	$60,7 \pm 4,15$
Общий белок, г/л	$67,5 \pm 1,08$	$63,3 \pm 1,24^*$	$67,9 \pm 2,11$	$66,6 \pm 1,38$
Альбумины, г/л	$32,6 \pm 0,96$	$23,3 \pm 0,26^*$	$31,8 \pm 0,21^*$	$30,2 \pm 0,64$
Глобулины, г/л	- $\alpha$	$9,32 \pm 0,45$	$10,38 \pm 0,32$	$9,76 \pm 0,40$
	- $\beta$	$9,00 \pm 0,51$	$9,12 \pm 0,28$	$8,98 \pm 0,29$
	- $\gamma$	$16,6 \pm 0,17$	$20,5 \pm 0,24^*$	$17,4 \pm 0,23^*$
Общие липиды, г/л	$3,17 \pm 0,12$	$1,96 \pm 0,09^*$	$2,36 \pm 0,18^*$	$2,40 \pm 0,41$
Холестерол, мМ/л	$1,89 \pm 0,06$	$1,78 \pm 0,05$	$1,90 \pm 0,10$	$1,85 \pm 0,09$
Мочевина, мМ/л	$3,09 \pm 0,12$	$4,31 \pm 0,20^*$	$3,27 \pm 0,09^*$	$3,30 \pm 0,17^*$
Глюкоза, мМ/л	$2,43 \pm 0,16$	$1,93 \pm 0,14^*$	$2,30 \pm 0,26$	$2,27 \pm 0,45$

\* -  $P < 0,05-0,001$  по сравнению со здоровыми; \* -  $P < 0,05-0,001$  по сравнению с больными

При этом явления эндогенной интоксикации достаточно выражены (увеличение на 23,4%).

Анализ результатов, полученных при изучении иммунологического профиля опытных животных показал, что у большинства животных отмечается снижение лизоцимной (ЛАСК), бактерицидной (БАСК), фагоцитарной (ФАЛ) и комплементарной (КАСК) активности сыворотки крови.

У телят, больных бронхопневмонией по сравнению с клинически здоровыми животными, ЛАСК понижена на 62,5%, БАСК – на 9,2%, ФАЛ – на 17,9%, КАСК – на 22,1% (рис. 4).

Применение цидисепта способствовало выздоровлению 91,5% животных, при 83,8% в группе сравнения. Телята опытной и группы сравнения выздоравливали в среднем на 7 день лечения. Выздоровление животных сопровождалось увеличением содержания гемоглобина на 17,1-17,8%, снижением лейкоцитов – на 16,1-14,9%.

Отмечалась нормализация в лейкограмме (табл. 8) – уменьшался процент палочкоядерных (практически в 2 раза) и сегментоядерных (на 24,6-21,9%) нейтрофилов, увеличивался процент моноцитов и лимфоцитов соответственно в 1,9-1,8 раза и на 18,2-16,5%.

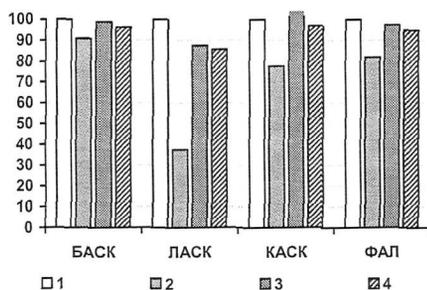


Рис. 4. Показатели естественной резистентности у здоровых и больных телят (1 – клин. здоровые; 2 – больные; 3 – цидисепт; 4 – энроксил 5%), % к клинически здоровым

У выздоровевших телят повышалась неспецифическая резистентность как за счет гуморального, так и клеточного звена: увеличивалась фагоцитарная активность нейтрофилов (18,5-15,5%), бактерицидная (8,6-5,8%), лизоцимная (в 2,3 раза) и комплементарная (40,7-24,4%) активность сыворотки крови. Причем у телят, для лечения которых применяли цидисепт, это повышение было выражено более значительно.

Таблица 8

Показатели ПОЛ и АОЗ у здоровых и больных телят

Показатели	Клинически здоровые телята	Больные телята (до лечения)	После лечения	
			Цидисепт	Энроксил 5%
МДА, мкМ/л	1,48±0,05	2,16±0,05*	1,56±0,04*	1,70±0,06*
Каталаза, мМ Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /л×мин	31,79±1,73	38,12±1,13*	33,16±0,78*	36,08±1,65
ГПО	14,82±0,96	19,75±1,98	17,10±0,65	17,67±1,08
мМ ВГ/ л×мин×10 <sup>3</sup>				
НОх, мкМ/л	49,2±7,31	77,5±4,56*	53,1±3,69*	55,6±4,51*
ССМ	12,54±0,96	15,48±1,04	12,74±0,61*	13,17±1,11

\* - P < 0,05-0,001 по сравнению со здоровыми; \* - P < 0,05-0,001 по сравнению с больными

Применение цидисепта и энроксила 5%, купируя воспалительный процесс, способствует снижению интенсивности свободнорадикального окисления липидов, что выражается в уменьшении уровня МДА (по сравнению с таковым у больных животных до лечения) на 27,8 и 21,3%. После лечения цидисептом активность каталазы снижается до уровня у здоровых животных, а при применении энроксила 5% остается практически на таком же уровне, как и у больных. При этом активность ГПО, разлагающей и органические и неорганические гидроперекиси после лечения обоими препаратами, снижается примерно в одинаковой степени (на 13,4-10,5%). При лечении цидисептом

практически исчезают явления эндогенной интоксикации, при лечении энроксилом они становятся менее выражены, чем до лечения.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что цидисепт, являясь препаратом с широким спектром антимикробного действия, обладает выраженной лечебной эффективностью при респираторных болезнях телят бактериальной этиологии, оказывает нормализующее влияние на организм животных.

### 3.13.2. Эффективность применения цидисепта-аэро при респираторной патологии поросят

Опыт по изучению эффективности применения цидисепта-аэро при респираторных болезнях поросят был проведен в ВСАТ АК «Слобожанский» Чугуевского района Харьковской области.

При изучении среды обитания животных установлено: общая бактериальная обсемененность помещений превышала норму (60-80 тыс. микробных клеток) 3,9 раза. При этом из воздушной среды были выделены эшерихии различных серовариантов и сальмонеллы.

Заболевание у поросят проявлялось потерей аппетита, слабостью, повышением температуры на 0,5-1,5<sup>0</sup>С, сухим кашлем, серозным и серозно-слизистым истечением из носовых отверстий.

При патологоанатомическом вскрытии павших и вынужденно убитых с диагностической целью поросят обнаруживали катаральное воспаление слизистой оболочки трахеи и бронхов, отечность и гиперемию паренхимы легких, лобулярное катаральное воспаление легочной ткани. При бактериологическом исследовании патматериала от убитых с диагностической целью поросят, больных пневмонией, выделены *Pasteurella multocida* и *Haemophilus paragassuis*.

Цидисепт-аэро распыляли в дозе 1,0 мл/м<sup>3</sup> в течение 5 минут, дальнейшая экспозиция после распыления составила 30 минут. В качестве препарата сравнения применяли раствор йодиола, в соответствии с инструкцией по применению.

Таблица 9

Сравнительная терапевтическая эффективность цидисепта-аэро при респираторной патологии поросят

Показатели	Группа животных	
	0,1% иодиол	Цидисепт-аэро
Количество животных, гол.	210	230
Выздоровело, гол./%	180/85,7	218/94,8
Пало, гол./%	16/7,6	7/5,6
Осталось больных, гол./%	14/6,7	3/2,4
Сроки выздоровления, дней	9,6±0,5	7,6±0,4
Среднесуточный прирост массы тела, кг	0,174	0,224
Терапевтическая эффективность, %	85,7	94,8

Установлено, что терапевтическая эффективность составила 94,8%, что на 9,1% выше, чем в контроле (табл. 9). Падеж животных снизился в 1,4 раза, а сроки выздоровления животных сократились на 20,8%.

При исследовании сыворотки крови у поросят с респираторной патологией отмечены нарушение белкового обмена, проявляющееся снижением белка до  $64,5 \pm 1,52$  г/л, альбуминов до  $21,5 \pm 1,14$  г/л, при достаточно высоком уровне  $\alpha$ -глобулинов ( $14,3 \pm 0,91$  г/л), интенсификация процессов пероксидного окисления липидов, сопровождающаяся повышением в крови уровня наиболее токсического продукта – МДА в 1,7 раза. При этом активное образование АФК может приводить к окислительной модификации белков, нарушению их специфической функции и усилению процессов их деградации под действием кислых протеаз. Это, как правило, сопровождается повышением уровня в сыворотке крови молекул средней массы (до  $18,22 \pm 0,47$ ), что рассматривается как явление эндогенной интоксикации.

Аэрозольная обработка цидисептом-аэро способствовала снижению общей бактериальной обсемененности помещений практически до нормы (85-90 тыс. микробных клеток).

Выздоровление поросят характеризовалось нормализацией в лейкограмме – снижалось количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов соответственно в 1,6 раза и на 34,3%, эозинофилов (на 33,9%), увеличивалось количество моноцитов (47,1%) и лимфоцитов (на 12,6%), что свидетельствовало об уменьшении воспалительного процесса в организме. Повышался уровень белка до нормы (75-85 г/л), значительно увеличивалась комплементарная активность (в 3 раза), что указывает на улучшение общего гомеостаза.

Применение цидисепта-аэро, купируя воспалительный процесс, способствует снижению интенсивности свободнорадикального окисления липидов, что выражается в уменьшении уровня МДА на 39,8%. Уменьшилось и явление эндогенной интоксикации, о чем свидетельствовало снижение на 16,3% уровня молекул средней массы.

Таким образом, цидисепт-аэро обладает выраженной лечебной эффективностью при респираторных болезнях поросят бактериальной этиологии.

### **3.13.3. Эффективность применения палочек внутриматочных с циминалем при эндометрите у коров**

Исследования выполнены на 68 коровах красно-пестрой породы в возрасте 4-8 лет, массой тела 600-650 кг, принадлежащих ОАО «Воронежпищепродукт» Воронежской области.

На основании акушерско-гинекологических исследований животные были разделены на 3 группы. Первую группу составили клинически здоровые коровы (n=20), вторую – с острым послеродовым эндометритом, который лечили суппозиториями с фуразолидоном (n=21) и третью – с острым послеродовым эндометритом, который лечили палочками внутриматочными с циминалем (n=27). Применение препарата осуществляли путем внутрима-

точного введения трех суппозиториев с циминалем и липотоном один раз в сутки в течение 3-5 дней. В качестве отрицательного контроля использовали суппозитории, содержащие фуразолидон, которые вводили с той же кратностью и том же количестве.

Результаты бактериологических исследований показали, что в содержимом матки коров, больных послеродовым эндометритом, выделялись микроорганизмы разных видов: из группы коли (24,1%), стафилококков (22%), стрептококков (12,2%), протей (14,3%), диплококков (5,4%), синегнойной палочки (2,8%), сапрофитов (2,6%) как в виде монокультур, так и в различных сочетаниях.

Микрофлора, выделенная из экссудата матки коров, была чувствительной и высокочувствительной к циминалю и имела зону задержки роста от 19,8 до 27,9 мм, то есть, циминаль, входящий в состав предлагаемых суппозиториев, проявляет хорошо выраженные антимикробные свойства.

Установлено, что у коров с послеродовым эндометритом содержание МДА – промежуточного продукта ПОЛ, было выше на 85,7% по сравнению с клинически здоровыми (табл.10). Также наблюдается активация ферментативного звена антиоксидантной системы. Активность селензависимой ГПО увеличивается на 76,4%, а глутатионредуктазы – на 12,1%. В этот же период времени наблюдается и максимальная активность каталазы, которая превосходила активность данного фермента у клинически здоровых животных на 33,7%.

Таблица 10

Показатели системы ПОЛ-АОЗ у коров при лечении послеродового эндометрита

Показатели системы ПОЛ-АОЗ	Группы животных			
	Клинически здоровые животные	До лечения	После лечения	
			Палочки с фуразолидоном	Палочки с циминалем
МДА, (мкМ/л)	1,12±0,128	2,08±0,167*	1,76±0,17	1,54±0,060*
Каталаза, (мМ Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /л×мин)	27,9±1,84	37,3±0,29*	34,9±0,41**	33,8±0,36**
ГПО, (мМ G-SH/л×мин)	8,9±0,32	15,7±0,81*	13,9±0,90*	12,4±0,71**
ГР, (мкМ G-SS-G/л×мин)	300,7±9,15	337,1±9,82*	365,2±9,82*	320,0±8,71

\* - P < 0,05-0,001 по сравнению со здоровыми; \* - P < 0,05-0,001 по сравнению с больными

Лечение коров, больных послеродовым эндометритом, суппозиториями с циминалем сопровождается снижением МДА на 26,0%, а в группе с препаратом сравнения – на 15,4%. Аналогичная динамика в активности была выявлена для ферментов глутатионного звена антиоксидантной системы защиты организма. Внутриматочное введение палочек с циминалем, вызывало некоторое снижение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы на 21,0 и 5,1%, соответственно, в то время как в группе с препаратом сравнения

активность ГПО снизилась на 11,5%, глутатионредуктазы возросла на 8,3%. Статистически достоверные различия между данными показателями у животных опытной и группы сравнения отсутствовали.

Лечение коров, больных послеродовым эндометритом, суппозиториями с циминалем ликвидировало клиническое проявление болезни к 10-му дню, восстановление эпителия происходило к 14-му дню, рассасывание инфильтратов и утилизация продуктов воспаления в эндометрии к 17-му дню.

Анализ полученных данных показал, что клиническое выздоровление животных, которым внутриматочно вводили палочки с циминалем, наступало у 88,9% против 85,7% в группе сравнения (табл. 11).

Таблица 11

Лечебная эффективность палочек внутриматочных с циминалем при эндометрите у коров

Показатели	Палочки внутриматочные с циминалем	Палочки внутриматочные с фуразолидоном
Количество животных, гол	27	21
Срок выздоровления, дней	10,83±0,64	12,74±1,14
Количество введенный препарата	3,63±0,54	4,10±0,44
Выздоровело, гол/%	24/88,9	18/85,7
Период от отела до оплодотворения, дней	48,1±1,62	57,7±2,98
Оплодотворилось при 1-м осеменении, гол./%	15/62,5	10/55,6
Индекс оплодотворения	1,54±0,21	1,71±0,36

Продолжительность бесплодия и индекс оплодотворения были ниже соответственно на 16,6 и 9,9% по сравнению с группой животных, которым применяли палочки внутриматочные с фуразолидоном.

Таким образом, применение палочек внутриматочных с циминалем обеспечивает высокий терапевтический эффект за счет санации эндометрия, снижения выраженности воспалительных процессов и стимуляции регенерации тканей.

### 3.13.4. Эффективность применения цидисепта-о для лечения колибактериоза у цыплят

Две серии опытов по изучению эффективности цидисепта-о при колибактериозе проводили на цыплятах-бройлерах в условиях птицеводческого хозяйства «Курганский бройлер», специализирующемся на откорме бройлеров. Срок откорма 42 дня.

В первой серии опытов были сформированы 2 группы: опытная (19480 гол.) и контрольная (19480 гол.). В суточном возрасте масса тела одного цыпленка в среднем составляла 41 г.

В возрасте с 3 по 7 день и с 27 по 30 день опытная группа цыплят получала цидисепт-о с питьевой водой в дозе 1,0 мл/кг массы тела, а контроль-

ная в эти же сроки получала энроксил 5% в соответствии с инструкцией по применению.

Установлено, что цидисепта-о является высокоэффективным препаратом против возбудителей кишечных инфекций птицы, благодаря чему повышается ее сохранность до 94,9% (табл.12). В опытной группе прирост массы тела цыплят превысил прирост в контрольной группе на 7,68%. При этом за период опыта падеж в контрольной группе составил 10,8%, а в опытной – 5,1%.

Таблица 12

Терапевтическая эффективность цидисепта-о

Показатели	Контроль	Опыт
Количество цыплят в группе на начало опыта	19480	19480
Количество цыплят в группе в конце опыта	17376	18487
Падеж, гол.	2104	993
%	10,8	5,10
% к контролю	100	47,2
Масса 1 цыпленка в начале опыта, г	41,4±0,52	41,2±0,36
Масса 1 цыпленка в конце опыта, г	1847,0±54,1	1985,4±47,9
Сохранность, %	89,2	94,9

Во второй серии опытов цидисепт-о применяли при колибактериозе цыплят-бройлеров 25-28 дневного возраста. В течение 5-ти дней препарат выпаивали птице в суточной дозе 1,0 мл/кг массы тела. В качестве препарата сравнения использовали энроксил 5% в соответствии с инструкцией по применению.

Установлено, что терапевтическая эффективность цидисепт-о составила 91,4%, что на 5,3% выше, чем в контроле (табл. 13). Падеж животных снизился в 1,6 раза, а сроки выздоровления животных сократились на 25,0%.

Таблица 13

Терапевтическая эффективность цидисепта-о

Показатели	Контроль	Опыт
Количество цыплят в группе на начало опыта	20000	20000
Количество цыплят в группе в конце опыта	17220	18280
Падеж, гол.	2104	993
%	13,9	8,6
Длительность лечения, дней	5,2±0,4	3,9±0,2
Сохранность, %	86,1	91,4

Таким образом, проведенные исследования показали, что препарат обеспечивает высокую сохранность птицы и оказывает положительное влияние на рост и развитие цыплят-бройлеров.

### 3.13.5. Применение цидисепт-геля в качестве средства для лечения ран у животных и профилактики мастита у коров

Результаты микробиологического исследования показали, что цидисепт-гель обладает широким спектром антимикробной активности в отношении культур микроорганизмов, выделенных при развитии раневой инфекции и маститов у коров. Минимальная ингибирующая концентрация цидисепт-геля в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов составляла 3,9-62,5 мкг/мл. Наиболее устойчивой к препарату оказалась синегнойная палочка. Минимальная ингибирующая концентрация цидисепт-геля в отношении данного микроорганизма составила 62,5 мкг/мл.

Данные таблицы 14 свидетельствуют о том, что более высокий лечебный эффект достигнут при применении препарата цидисепт-гель. У большинства животных опытной группы уже через 6 дней исчезали признаки воспаления, у них наблюдался более быстрый рост грануляционной ткани и быстрая эпителизация раны. У животных второй группы срок выздоровления был более длительным.

Таблица 14

Эффективность применения цидисепт-геля для лечения гнойных ран у крупного рогатого скота

Показатели	Группа животных	
	Раносан-1	Цидисепт-гель
Количество животных, гол	86	81
Исчезновение признаков воспаления, дней	8,1±0,96	6,9±0,74
Образование грануляций, дней	9,33±0,96	7,64±1,27
Эпителизация раны, дней	19,4±2,19	14,2±1,75
Степень заживления	Вторичное натяжение	Вторичное натяжение
Переносимость препарата	Хорошая	хорошая

Таким образом, результаты наших исследований по изучению применения цидисепт-геля при лечении ран, осложненных нагноением, у крупного рогатого скота показали его высокую эффективность, а, следовательно, целесообразность его применения.

Хорошо зарекомендовал себя данный препарат и при профилактике мастита у коров.

Антисептическая обработка кожи вымени и сосков вымени гелем показала, что профилактическая эффективность препарата составляет 88,8%. В контрольной группе за период опыта мастит диагностировали у 32,8% коров (табл. 15).

Таким образом, цидисепт-гель в 2,9 раза снижает заболеваемость коров маститом.

К сожалению, в условиях хозяйства врачи зачастую пренебрегают профилактическими мероприятиями, хотя хорошо известно, что профилактика требует меньше материальных затрат, чем лечение.

Эффективность применения цидисепт-геля для профилактики мастита

Группа	Было в опыте		Не заболело маститом				Заболело маститом			
	коров	долей	коров		долей		коров		долей	
			гол.	%	кол-во	%	гол.	%	кол-во	%
Цидисепт-гель	80	318	71	88,8	306	95,9	9	11,3	13	4,1
Контроль	58	231	39	67,2	198	85,7	19	32,8	33	14,3

Представленные данные, убедительно демонстрируют высокую эффективность цидисепт-геля при лечении ран и профилактике мастита у молочного скота, что значительно расширяет возможности практического врача.

### 3.13.6. Эффективность применение цидисепта присыпки для лечения ран у животных

Целью настоящих исследований явилось изучение скорости заживления ран у крыс под действием цидисепта присыпки.

На модели лоскутной раны видно, что у контрольных крыс только на 12 сутки после начала эксперимента начинается образование грануляционной ткани, которая постепенно заполняла раневой дефект. На 20 сутки наблюдалась плоскостная эпителизация, окончательное заживление происходило в результате рубцевания раны на 26 сутки. Гистологическая картина раневой поверхности характеризовалась признаками гнойного воспаления.

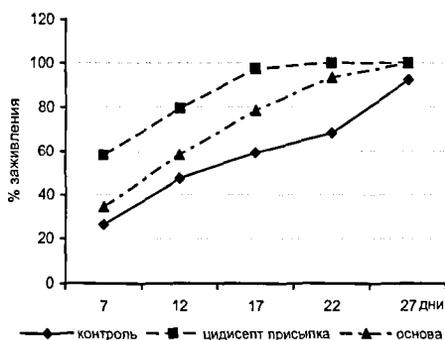


Рис.5. Заживление ран у крыс при применении присыпки

Заживление раны у крыс при применении цидисепта присыпки наступало к 17-18 дню (100% заживление), а под действием основы только к 25-27 дню (100% эффект). У нелеченных крыс процесс заживления раны наблюдался к 30 дню (рис. 5).

Производственные испытания цидисепта присыпки для профилактики послеоперационных осложнений при кастрации у хрячков проведены в двух опытах в хозяйствах Воронежской области на 316 животных. Контрольной группе животных (n=75) поверхность операционной раны присыпали раносаном-2. Опытной группе животных (n=78) послеоперационную обработку проводили цидисептом присыпкой, которую напосили на раневую поверхность тонким равномерным

слоем после операции. Учет состояния послеоперационных ран проводили на 4-й день после кастрации.

Как видно из данных, представленных в таблице 16, при применении цидисепта присыпки после кастрации достигнут профилактический эффект на уровне препарата раносан-2, и даже несколько превосходящий его.

Таблица 16

Эффективность профилактики цидисептом присыпкой послеоперационных осложнений при кастрации хрячков

Показатели	СХА «Начало»		ЗАО «Криниченское»	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Количество животных, гол	78	75	83	80
Количество животных с осложнениями, гол	3,0	2,0	4,0	3,0
%	3,85	2,67	4,82	3,75
Профилактическая эффективность, %	96,15	97,33	95,18	96,25

### 3.14. Изучение остаточных количеств циминаля в организме животных при применении препаратов на его основе

Опыты проведены на поросятах 2-х месячного возраста, которым применяли препарат цидисепт инъекционный, цидисепт-аэро, цидисепт-о, на коровах симментальской породы в лактационный период, которым обработку кожу вымени и сосков вымени проводили цидисепт-гелем и больных после родовым эндометритом, которым применяли палочки внутриматочные с циминалем. Препараты применяли в соответствии с разработанными инструкциями по их применению. Контрольным животным препараты не применяли.

Убой опытных поросят, а также отбор проб молока, крови и мочи проводили в различные сроки после введения препаратов.

Как видно из данных, представленных на рисунке 6 и 7, через сутки после последнего введения, как цидисепта инъекционного, так и цидисепта-о при 5-ти дневном внутримышечном и пероральном применении остаточные количества циминаля определяются во всех исследуемых органах и биологических жидкостях поросят. Наибольшее количество циминаля, не зависимо от способа введения, обнаруживается в печени. Затем по его концентрации органы и биологические жидкости распределяются следующим образом: почки – моча - легкие – кровь – мышцы. Через 3 суток количество препарата в органах резко уменьшается. В этот срок исследования следовые количества препарата обнаруживаются в мышцах. На 5 сутки после окончания применения цидисепта инъекционного и цидисепта-о действующее вещество препарата - циминаль обнаруживается в незначительных количествах (ниже предела количественного определения метода - < 0,3 мкг/г) в печени, почках, легких и моче. На 7-е сутки после последнего внутримышечного и перорального введения препаратов циминаль отсутствует во всех органах, тканях и жидкостях организма поросят.

После последнего введения цидисепта-аэро остаточные количества циминаля определяются также во всех исследуемых органах и биологических жидкостях поросят (рис. 8).

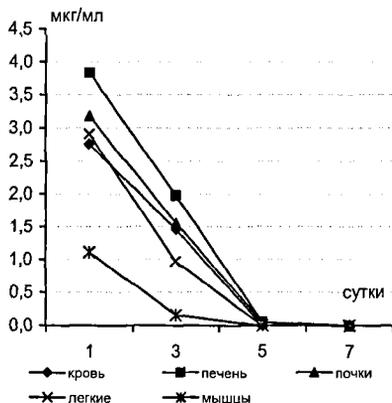


Рис. 6. Остаточные количества циминаля после в/м введения цидисепта инъекционного

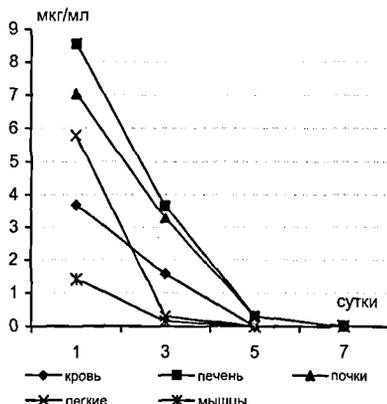


Рис. 7. Остаточные количества циминаля после перорального введения цидисепта-а

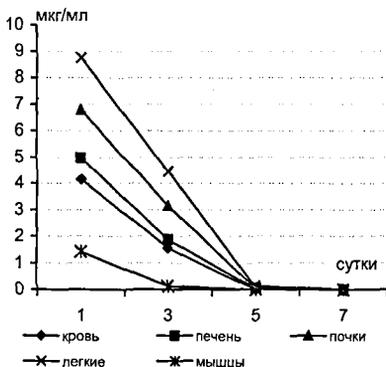


Рис. 8. Остаточные количества циминаля после применения цидисепта-аэро

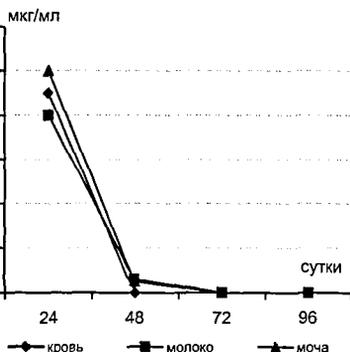


Рис. 9. Остаточные количества циминаля после применения палочек внутриматочных с циминалем

Однако наибольшее количество циминаля через сутки обнаруживается в легких. Затем по его концентрации органы и биологические жидкости распределяются следующим образом: печень - почки - моча - кровь - мышцы. На 5-е сутки после окончания применения цидисепта-аэро действующее вещество препарата - циминаль обнаруживается в незначительных количествах (ниже предела количественного определения метода -  $< 0,3$  мкг/г) в печени, почках и легких.

На 7-е сутки после последнего применения препарата циминаль отсутствует во всех органах, тканях и жидкостях организма поросят.

В опытах на коровах установлено, что через 72 часа после последнего введения суппозиториев с циминалем действующее вещество в биологических жидкостях (кровь, молоко) не обнаруживается (рис.9).

Также в опытах на коровах установлено, что через сутки после пятидневного применения цидисепт-геля активное действующее вещество циминаль в молоке и крови не обнаруживается (табл. 17).

Таблица 17

Содержание циминаля в молоке коров после обработки цидисепт-гелем (мкг/мл)

Объект исследования	№№ животных	Сроки исследования после последней обработки, через			
		1 сутки	3 суток	5 суток	7 суток
молоко	1	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	2	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	3	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	4	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	5	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
кровь	1	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	2	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	3	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	4	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.
	5	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.	Не обнар.

## ВЫВОДЫ

1. Циминаль - п-нитро- $\alpha$ -хлоркоричный альдегид - обладает широким спектром антимикробного действия в отношении грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, имеющей этиологическое значение при большинстве патологий «открытых полостей» - желудочно-кишечный, респираторный тракты, мочеполовая система. Минимальная подавляющая концентрация циминаля в отношении грамположительных микроорганизмов составляла 3,9-7,8 мкг/мл. Препарат в концентрации 7,8-15,6 мкг/мл задерживал рост культур пастерелл и бордетеллы. В отношении музейных и полевых штаммов сальмонелл и кишечной палочки минимальная подавляющая концентрация составляла 7,8-31,25 мкг/мл.

2. Циминаль относится к малотоксичным веществам - 4 класс опасности (ГОСТ 12.01.007-76). ЛД<sub>50</sub> при внутрижелудочном введении составила для белых мышей - 12280,2 мг/кг, для крыс - 12417 мг/кг, при подкожном введении соответственно 3188,6 и 4055,1 мг/кг, не обладает мутагенными, аллергенными свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия, обладает слабо выраженным раздражающим действием.

3. При многократном пероральном и парентеральном введении циминая белым крысам соответственно в дозах 1/50 от ЛД<sub>50</sub> (248,0 и 81,0 мг/кг) и 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (621,0 и 203,0 мг/кг) в течение 21 дня не выявлено функциональных изменений в организме животных. Хроническая интоксикация в максимальных дозах 1242,0 и 406,0 мг/кг (1/10 от ЛД<sub>50</sub>) сопровождается снижением массы тела, увеличением относительной массы легких, печени, почек. Картина крови у крыс в наивысших дозах характеризуется снижением концентрации гемоглобина (на 7,2 и 18,7%), эритроцитов (на 9,4 и 18,7%) и тромбоцитов (на 13,7 и 24,5%), выраженным лейкоцитозом. Пероральное и парентеральное применение циминая (21 день) в дозах 1242,0 и 406,0 мг/кг (1/10 от ЛД<sub>50</sub>) сопровождается изменением ряда биохимических показателей крови, характеризующих в основном функциональное состояние почек и печени. У крыс данных групп повышается уровень мочевины на 18,8 и 45,4%, креатинина – на 33,8 и 34,1%, билирубина - на 31,6 и 44,7% и активности щелочной фосфатазы – на 33,9 и 44,7%, АлАТ – 16,9 и 24,1%, АсАТ – 24,6 и 36,2%.

4. На основе циминая сконструировано 6 новых лекарственных средств:

- жидкие формы (цидисепт раствор для инъекций, цидисепт-о, цидисепт-аэро);
- мягкие формы (цидисепт-гель, внутриматочные свечи);
- твердая форма (цидисепт присыпка).

5. Препараты циминая стабильны при хранении в течение 12-24 месяцев при температуре от +5 до +20°C и выше. Препараты отвечают всем качественным и количественным показателям ТУ или СТО в течение срока годности.

6. Антимикробные препараты на основе циминая относятся к малотоксичным препаратам с умеренной кумуляцией. Их ЛД<sub>50</sub> колеблется в пределах 4050,0 – 30000,0 мг/кг, что в 2,5-3,5 раза ниже, чем у самого циминая. Препараты циминая не оказывают раздражающего, аллергенного, мутагенного действия.

7. Разработаны способ наиболее полной экстракции из биоматериала и высокочувствительный метод обнаружения циминая в мышечной ткани, паренхиматозных органах и молоке.

8. В зависимости от лекарственной формы препарата и его способа применения абсорбция циминая в органы и ткани различна. При парентеральном, пероральном и аэрозольном способе введения циминаль быстро всасывается в кровь и проникает во многие органы и ткани. Максимальная его концентрация обнаруживается через 3 часа после введения препаратов и обеспечивает терапевтическую концентрацию ДВ в течение 22-24 часов. При наружном применении препарата цидисепт-гель циминаль в молоке и крови не обнаруживается.

9. Препараты на основе циминая при длительном применении не оказывают отрицательного влияния на качество мяса и бульона. Сроки убоя животных на мясо, использования молока и другой продукции после наружного

применения препарата (цидисепт-гель) не ограничены, после перорального, парентерального и аэрозольного (цидисепт, цидисепт-о, цидисепт-аэро) – составляют – 7 дней, суппозиториев с циминалем – 3 суток после окончания применения препаратов.

10. Антимикробные препараты на основе циминаля обладают лечебной эффективностью при респираторных болезнях телят, поросят (цидисепт раствор для инъекций) и цыплят (цидисепт-о). Проведение курса лечения в соответствии с инструкциями по применению обеспечивает выздоровление животных и птицы от 87,6 до 92,7%, что на 5,4-8,7% выше эффективности препаратов сравнения.

11. Применение цидисепта и цидисепта-о в качестве терапевтического средства оказывает позитивное влияние на морфологические и иммунологические показатели крови. Препараты способствуют повышению количества гемоглобина на 17,1- 18,4%, содержания общего белка на 7,3-16,4%, альбуминов - на 36,5-22,0%, снижению уровня  $\gamma$ -глобулинов на 15,1-16,7%, лейкоцитов на 16,1-22,2%, сегментоядерных нейтрофилов – на 24,6-27,1%. Препараты повышают активность клеточного звена иммунитета за счет увеличения фагоцитарной активности лейкоцитов на 18,5-15,0%.

12. Препараты циминаля при применении их больным животным оказывают нормализующее влияние на течения процессов свободнорадикального окисления липидов, снижая их интенсивность на 15,0-40,0%, снижают на 12,0-15,0% активацию при этом системы антиоксидантной защиты организма, уменьшают явление эндогенной интоксикации.

13. Цидисепт-гель обладает выраженной терапевтической активностью при лечении случайных ран у крупного рогатого скота. В сравнении с лечением мазью раносан-1 купирование отека при применении цидисепт-геля проходит эффективнее на 14,8%, развитие грануляций - на 18,1%, полная эпителизация случайных ран на 26,8%. Профилактическая антисептическая обработка кожи вымени цидисепт-гелем в 2,9 раза снижает заболеваемость коров маститом.

14. Суппозитории с циминалем, используемые для профилактики послеродовых осложнений у коров связанных с тяжелыми родами и оперативным отделением последа, обеспечивает профилактику эндометритов в 84,2-90,0% случаев. Терапевтическая эффективность суппозиториев при послеродовых эндометритах у коров составляет 92,1-94,0%.

15. Применение цидисепт-аэро обеспечивает выздоровление больных бронхопневмонией поросят от 91,2 до 95,6%, что на 7,9-9,5% выше эффективности йодинола. Способствует повышению сохранности – на 12,7%, среднесуточного прироста массы тела - на 10,0%, сокращению сроков лечения - на 33,4%.

16. Применение цидисепта-аэро при респираторной патологии поросят способствует уменьшению лейкоцитоза за счет снижения количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов соответственно – в 1,6 и 1,3 раза, интенсивности течения процессов свободнорадикального окисления липидов на 39,8%, уровня молекул средней массы – на 16,3%, повышению

фагоцитарной активности нейтрофилов - на 17,2%, комплементарной активности сыворотки крови – в 3,0 раза.

17. Цидисепт-присыпка эффективна при профилактике послеоперационных осложнений у бычков и хрячков при кастрации. Профилактическая эффективность препарата находится на уровне 94-95%.

18. Максимально допустимые уровни циминаля после применения препаратов на его основе: 140,0 мкг/кг – в мышечной ткани, почках, жире, 50,0 мкг/кг – в печени, 35,0 мкг/кг – в молоке.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Предприятиям, выпускающим ветеринарные лекарственные средства, предлагается производить препараты в соответствии Техническими условиями и ТР, регламентирующими технологический процесс производства препаратов: в Украине - цидисепт раствор для инъекций (ТУ У 24.4.31293151.041-2005); цидисепт-аэро (ТУ У 24.4.31293151.029:2005) и цидисепт-гель (ТУ У 24.4.31293151.030:2005), утвержденные Департаментом ветеринарной медицины Министерства аграрной политики Украины и в России - цидисепт-гель (СТО 10590965-0004-2006), утверждённый заместителем руководителя Россельхознадзора РФ за №ПВР-2-1.6/01688 от 11.12. 2006 г.

2. Ветеринарным специалистам применять препараты в соответствии с наставлением:

- при желудочно-кишечных и респираторных болезнях молодняка сельскохозяйственных животных цидисепт раствор для инъекций внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг массы тела в течение 5-7 дней с интервалом 24 часа;

- при желудочно-кишечных и респираторных болезнях молодняка сельскохозяйственных животных и птицы цидисепт оральный с водой в дозе 0,5-1,0 мл/кг массы тела в течение 5-7 дней с интервалом 24 часа;

- при респираторных болезнях, колибактериоза, стафилококкоза у птицы и респираторных болезней у поросят и телят производить аэрозольную обработку 1 раз в день в течение 3-5 дней при следующем режиме: доза - 1 мл/м<sup>3</sup>, время распыления – 5 минут, экспозиция после распыления – 30 минут;

- при лечении и профилактике акушерских заболеваний у коров палочки внутриматочные с профилактической целью однократно 3-5 палочек, с лечебной целью 3-5 палочек (за один раз) с интервалом 24 часа до клинического выздоровления, но не более 5 дней;

- при лечении ран цидисепт-гель наносить ровным слоем на пораженную поверхность или наносить на марлевую повязку, которой покрывают пораженный участок тела. Повязку производить 1-2 раза в день до полного заживления. Для профилактики мастита цидисепт-гель применяют наружно, нанося его тонким равномерным слоем на кожу вымени и сосков после каждого доения, но не более 10 дней.

- Для лечения асептических и гнойных ран, пролежней цидисепт присыпку наносить тонким равномерным слоем на пораженную поверхность один раз в сутки в течение 7-10 дней. Для профилактики послеоперационных

осложнений препарат наносить ровным слоем на раневую поверхность после операции.

3. Контроль за остатками циминаля в продукции животного происхождения проводить согласно установленных максимально допустимых уровней (МДУ).

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Косенко Ю.М. Створення інформаційної бази даних ветеринарних препаратів в Україні / Ю.М. Косенко, І.В. Бушуєва, Т.А. Грошовий, С.Й. Зубович, Л.І. Кучеренко //Неінфекційна патологія тварин: Матеріали науково-практичної конференції. - Біла Церква, - 1995. - Частина 1. - С.141-142.

2. Про необхідність маркетингової діяльності у системі забезпечення ветеринарних закладів лікарськими препаратами / І.В. Бушуєва, Ю.М. Косенко, Т.А. Грошовий, С.Й. Зубович и др.//Актуальні питання фармацевтичної науки та практики: Матеріали міжрегіональної науково-практичної конференції. – Запоріжжя. – 1995. - С.166-167

3. Напрямки розвитку світового фармацевтичного ринку ветеринарних препаратів / І.В. Бушуєва, Т.А. Грошовий, Ю.М. Косенко, Л.І. Кучеренко //Актуальні питання фармацевтичної науки та практики: Матеріали міжрегіональної науково-практичної конференції. - Запоріжжя. – 1995. - С.167-168.

4. Косенко Ю.М. База даних ветеринарних препаратів / Ю.М. Косенко, О.І. Іванків, Т.А. Грошовий //Актуальні питання фармацевтичної науки та практики: Матеріали міжрегіональної науково-практичної конференції. - Запоріжжя. – 1995. - С.179.

5. Kosenko M. System der Registrierung der Veterinaerpraeparate und Futtermittel in der Ukraine / Kosenko M., Kosenko J. // Ukrainian-Austrian Symposium "Agriculture: Science and Practice" Collection of Abstracts. – Lviv. – 1996. – P.102 – 103.

6. Kossenko M. Application of "Geoinformation system" (GIS) in veterinary medicine / Kossenko M., Kossenko Y., Vezdenko O. //2 Symposium Osterreich-Ukraine / Landwirtschaft im Rahmen der Ukrainisch-Osterreichischen Wissenschaftskooperation am 14-15 September 1998 an der Veterinarmedizinischen Universitat Wien . - Wien., 1998. – P. 15.

7. Косенко Ю.М. Про залишкові кількості протимікробних препаратів у продуктах тваринництва / Ю.М. Косенко, Н.В. Остапів // Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України. – Харків, 1999. – С. 384-385.

8. Токсикологічний контроль кормів та кормових добавок: Методичні рекомендації. – Львів: Тріада плюс, 1999. – 118с. (в соавторстві).

9. Косенко Ю.М. Високоєфективна рідинна хроматографія в контролі якості ветеринарних препаратів і їх залишків в харчових продуктах тваринного походження / Ю.М. Косенко Ю.М., В.І. Ткаченко // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. - Львів. – 2001. – вип.. 1-2. – С. 375 – 379.

10. **Косенко Ю.М.** Моніторинг залишків ветеринарних препаратів у харчових продуктах / Ю.М. Косенко, В.І. Ткаченко, О.В. Лапін // Наук. вісн. Львів. держ. акад. вет. Медицини. - М-во аграр. політики України. - Л., 2002. - Т. 4 (№2), ч.5. - С. 202-207.

11. Щодо національної програми контролю залишків у продуктах тваринного походження / П.Вербицький, **Ю.Косенко**, І.Коцюмбас, Д.Янович // Завдання та шляхи реалізації Ветеринарна медицина України.- 2002. - №5. - С.9-11.

12. Препарати ветеринарні. Методи визначення нешкідливості // Галузевий стандарт України. - Київ - 2003 (в соавторстве).

13. Встановлення мутагенності засобів захисту тварин (методичні рекомендації) - Київ - 2003. - 49 с.(в соавторстве).

14. Шабунин С.В. Влияние цидисепт-геля на интенсивность процессов свободнорадикального окисления у крупного рогатого скота в комплексной терапии раневых инфекций / С.В. Шабунин, Н.Г. Макеев, **Ю.М. Косенко** // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных: материалы Международной научно-практической конференции.- Воронеж: изд-во ВГУ, 2004.- С. 339-342.

15. Косенко Ю.М. Про необхідність впровадження норм належної клінічної практики у ветеринарній медицині України /Ю.М. Косенко: Матеріали II міжнародного конгресу спеціалістів ветеринарної медицини. - Київ. - 2004. - С. 72-74.

16. **Косенко Ю.М.** Особливості проведення фармако-технологічних випробувань при виробництві та реєстрації ветеринарних препаратів згідно з нормативними вимогами. /Ю.М. Косенко Ю.М., Л.В. Калиновська // Науково-технічний бюлетень. - Львів, 2005. - Вип.6. - № 3, 4. - С. 460-463.

17. Калинин Т.Г. Лікарські форми у ветеринарній медицині / Т.Г. Калинин Т.Г., **Ю.М. Косенко** - Вісник фармації, 2005 - №3 (43) - С.45-47.

18. Експрес-методи визначення залишків антибіотиків у продуктах тваринництва / **Ю.М. Косенко**, Т.І. Стецько, Л.О. Святонька, О.І. Хом'як, Г.П. Угрин // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. - Львів. - 2005. - Вип.. 6 ( № 3) - С.173-179.

19. Косенко Ю.М. Розробка та реалізація національної програми контролю залишків ветеринарних препаратів та токсикантів у продуктах тваринного походження / Ю.М. Косенко, Д.В. Янович //Актуальні проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини: Тези доповідей VI міжнародної науково-практичної конференції. - Київ, 2005. - Додаток. - С.8-9.

20. Макеев Н.Г. Цидисепт-гель: влияние на репаративные процессы в тканях / Н.Г. Макеев, Г.А. Востроилова, А.П. Золототрубов, **Ю.М. Косенко** // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Международной научно-производственной конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.- Воронеж, 2006.- С.1064 - 1067.

21. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів /За ред. І.Я.Коцюмбаса. – Львів.: Тріада плус. – 2006. - 360 с. (в соавторстве)

22. Основні стратегічні принципи антибіотикотерапії у ветеринарній медицині / В.П. Музика, Т.І. Стецько, **Ю.М. Косенко**, В.О. Величко, Н.В. Остапів // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. – Львів. – 2006. – Вип.. 7 ( № 1,2) – С.16-24.

23. Необхідність розробки національних програм по боротьбі з антибіотикорезистентністю мікроорганізмів в Україні / **Ю.М.Косенко**, В.П. Музика, Н.В.Остапів, С.М.Темненко //Науково-технічний прогресс і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Мат. І-ої Міжнародної науково-практичної конференції.-Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. - С.190-191.

24. І.Я. Коцюмбас. Розробка концепції національної програми контролю залишкових кількостей ветеринарних препаратів і токсикантів у сировині, продукції тваринного походження та кормах / Коцюмбас І.Я., Янович Д.В., **Косенко Ю.М.** //Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин. – Львів. – 2007. - № 3,4. – С.17-21.

25. **Косенко Ю.М.** Контроль остаточных количеств ветеринарных лекарственных средств на основе циминаля /Ю.М. Косенко // Актуальные вопросы аграрной науки и образования: Матер. междунар. науч.- практ. конф., посвящ. 65-летию Ульяновской ГСХА - Ульяновск, 2008. Т. 3.– С. 73-76.

26. **Косенко Ю.М.** Влияние цидисепта инъекционного на показатели крови поросят в хроническом опыте /Ю.М. Косенко// Актуальные проблемы повышения эффективности агропромышленного комплекса: Матер. междунар. науч.-практ. конф. – Курск, 2008. – Ч.2. – С. 34-35.

27. **Косенко Ю.М.** Антибиотикочувствительность возбудителей кишечных инфекций сельскохозяйственных животных / Ю.М. Косенко, Л.Ю. Сашнина// Актуальные проблемы ветеринарной медицины: Матер. междунар. науч.- практ. конф., посвящ. 125-летию ветеринарии Курской области - Курск, 2008. – С. 206-208.

28. Индюков А.Л. Эмбриотоксическое и тератогенное действие цидисепта-о – препарата для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний телят и поросят / А.Л. Индюков, **Ю.М. Косенко** // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Матер. междунар. науч.- практ.конф. – Воронеж, 2008. - С.307-311.

29. Индюков А.Л. Параметры токсичности цидисепта-о – препарата для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний телят и поросят / А.Л. Индюков, **Ю.М. Косенко** // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Матер. междунар. науч.- практ. конф. – Воронеж, 2008. - С.153-156.

30. Курило Н.Ф. Цидисепт-о эффективное средство для лечения желудочно-кишечных болезней поросят /Н.Ф. Курило, А.В. Галкин, **Ю.М. Косенко** // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Матер. междунар. науч.- практ.конф. – Воронеж, 2008. - С.325-327.

\*31. Фармако-токсикологические свойства и эффективность нового антибактериального препарата цидисепт-о / В.И. Беляев, Г.А. Востроилова, А.Л. Индюков, **Ю.М. Косенко** // Аграрный вестник Урала. – 2008. - № 8. - С.71-73.

32. Цидисепт-о – эффективный препарат при колибактериозе поросят / В.И. Беляев, Г.А. Востроилова, А.Л. Индюков, **Ю.М. Косенко** // Современное состояние и перспективы исследований по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел: Матер. междунар. науч.- практ. конф. - Москва, 2008. - С. 25-27.

\*33. Клинико-биохимические показатели у животных при длительном применении цидисепта-о / В.И. Беляев, Г.А. Востроилова, А.Л. Индюков, **Ю.М. Косенко** // Ветеринария и кормление. – 2008. - № 4. - С.15-16.

\*34. Интенсивность процессов свободнорадикального окисления при ожогах и лечении их препаратом цидисепт-гель / Г.Н. Близначева, С.В. Шабунин, **Ю.М. Косенко**, Г.А. Востроилова // Ветеринария и кормление. – 2009. - № 3. - С.22-23.

\*35. Косенко Ю.М. Токсикологическая характеристика цидисепт-геля / **Ю.М. Косенко**, Н.Г. Макеев, Г.А. Востроилова // Ветеринария и кормление. – 2009. - № 3. - С.25-26.

36. Сашнина Л.Ю. Антимикробная активность Цидисепта-о / Л.Ю. Сашнина, А.С. Стребков, **Ю.М. Косенко** // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: Матер. междунар. науч.- практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. В.А. Акатова. – Воронеж, 2009. – С. 329-331.

37. Сашнина Л.Ю. Эффективность Цидисепта-о при экспериментальных инфекциях белых мышей / Л.Ю. Сашнина, А.С. Стребков, **Ю.М. Косенко** // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: Матер. междунар. науч.- практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. В.А. Акатова. – Воронеж, 2009. – С. 331- 333.

\*38. **Косенко Ю.М.** Применение цидисепт-геля для лечения ран у животных и профилактики мастита у коров / Ю.М. Косенко // Ветеринария. – 2009. - № 6. - С.10-12.

\*39. Морфофункциональная характеристика структурной организации органов у лабораторных животных при применении цидисепта – о / **Ю.М. Косенко**, С.М. Сулейманов С.М., Г.А. Востроилова, Е.В. Михайлов//Ветеринарный врач. – 2009. – №3 - С.32-35.

\*40. Близначева Г.Н. Суппозитории с циминалом и липотоном при эндометритах коров / Г.Н. Близначева, Т.И. Ермакова, **Ю.М. Косенко** // Ветеринария. – 2009. - № 7. - С. 8-10.

Подписано в печать 28.10.2009 г. Формат 60x84/16.  
Гарнитура «Times New Roman». Бумага офсетная.  
Усл. печ. л. 2,57. Тираж 100. Заказ 149.

Цифровая типография «Скоропечатня»  
394000, Воронеж, пер. Солдатский 18, тел.:616-228.