

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего профессионального образования  
«Саратовский государственный аграрный университет  
имени Н.И. Вавилова»

На правах рукописи



**САЗЫКИНА КСЕНИЯ ИГОРЕВНА**

**ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ  
ПРЕПАРАТА «ДОКСИЦИКЛИН – КОМПЛЕКС» ПРИ  
БРОНХОПНЕВМОНИЯХ И ГАСТРОЭНТЕРИТАХ ПОРОСЯТ**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,  
онкология и морфология животных

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

**Научный руководитель:**  
доктор ветеринарных наук,  
профессор  
А.А. Волков

**Саратов – 2015**

## ОГЛАВЛЕНИЕ:

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБРАННОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	
	12
1. 1 Историческая справка применения антибиотикотерапии в свиноводстве.....	12
1.2 Требования к антибиотическим веществам и их классификация.....	16
1.3 Обзор наиболее распространённых антибиотических веществ в РФ, их преимущества и недостатки.....	20
1.4 Современные аспекты конструирования лекарственных средств...	32
1.5 Заключение по обзору литературы.....	35
ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	
	43
2.1 Дизайн исследования.....	43
2.2 Изучение фармако-токсикологических свойств препарата «Доксициклин-комплекс».....	45
2.3 Определение бактерицидной активности .....	50
2.4 Исследования фармакокинетики препарата «Доксициклин-комплекс».....	50
2.5 Метод определения остаточного количества доксициклина в сыворотке крови поросят и цыплят-бройлеров .....	53
2.6 Влияние антибиотического препарата «Доксициклин-комплекс» на состояние морфологических структур внутренних органов.....	55
2.7 Изучение терапевтической эффективности антибиотического препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении гастроэнтерита у поросят.....	56

2.8 Изучение терапевтической эффективности антибиотического препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят.....	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ...	62
3.1 Клинико - фармакологическая характеристика препарата «Доксициклин – комплекс».....	62
3.1.1 Изучение острой и хронической токсичности препарата «Доксициклин – комплекс» .....	62
3.1.2 Изучение алергизирующего действия препарата «Доксициклин - комплекс».....	72
3.1.3 Изучение иммунотоксичности препарата «Доксициклин - комплекс».....	74
3.1.4 Определение бактерицидной активности препарата «Доксициклин - комплекс».....	77
3.1.5 Исследование фармакокинетики препарата «Доксициклин - комплекс» .....	83
3.2 Клинико-морфологическое обоснование безопасности применения препарата «Доксициклин - комплекс».....	90
3.2.1 Функциональное состояние цыплят-бройлеров после применения препарата «Доксициклин - комплекс».....	91
3.2.2 Морфологические изменения в органах и тканях цыплят-бройлеров после применения препарата «Доксициклин - комплекс».....	93
3.3 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита поросят.....	100
3.3.1 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии поросят....	101
3.3.2 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтерита поросят.....	113
3.4 Экономическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс»	

при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят.....	125
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	126
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	143
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	144

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Доктрина продовольственной безопасности РФ предполагает снизить критичные для России продукты питания и минимальный уровень их собственного производства и тем самым обеспечить импортозамещение этих критических продуктов. Российское производство закрывает не более 60,0 - 75,0% потребностей населения в продуктах питания, тогда как необходимо не менее 90,0%, чтобы обеспечить продовольственную безопасность. В связи с увеличением доли импортозамещения в животноводстве усложняется и сфера его ветеринарного обслуживания. Свиноводство в РФ особенно нуждается в комплексной поддержке, в том числе и в оснащении новыми разнообразными фармакологическими эффективными ветеринарными препаратами отечественного производства, необходимыми для обеспечения ветеринарного благополучия в свиноводческих хозяйствах различных организационно-правовых форм собственности. Болезни, особенно продуктивных животных, стали разнообразнее и сложнее. Они трудно поддаются профилактике и терапии классическими путями (Донченко А.С., 1997; Трутаев И.В., 2009; Шахов А.Г. и др., 2011). Оказалось, что это обусловлено рядом объективных причин. Прежде всего, это противоречие между нарастающим уровнем продуктивности и генетически обусловленными защитно-приспособительными возможностями организма. Здесь традиционные лекарственные препараты и биологически активные вещества не могут восстановить постоянно нарушающийся баланс. В связи с этим, особое внимание научного сообщества уделяется поиску и разработке современных противомикробных препаратов и их комбинаций, обладающих комплексным терапевтическим и профилактическим потенциалом, позволяющих осуществить полноценную терапию инфекционных патологий и снизить риск возникновения побочных эффектов. Особое значение при разработке антибактериальных препаратов придается снижению их токсичности и повышению биодоступности (Сидоренко СВ., 1998).

Свиноводство по праву считается наиболее перспективной отраслью животноводства, с помощью которой, при условии должного и рационального к нему отношения, можно решить в ближайшее время остро стоящую проблему – обеспечение населения России качественной мясной продукцией отечественного производства. Промышленное свиноводство, запрограммировано на интенсивную эксплуатацию маточного поголовья, что нередко приводит к ослаблению резистентности организма и возникновению различных патологий. Так в ветеринарной практике свиноводства крайне часто встречаются заболевания дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта различного генеза, в том числе и бактериальной этиологии (Сидоркин В.А. и др., 2003). Наиболее приемлемый и целесообразный метод, как показывают данные (Пименов Н.В., 2006; Соловьева О. В., 2006), который повышает эффективность химиотерапии бактериальных инфекций и замедляющий развитие резистентности у микроорганизмов - рациональное применение в составе препаратов различных вспомогательных терапевтических средств, повышающих резистентность животного организма к патогенам. В то же время некоторые производители лекарственных средств, в целях упрощения технологического процесса, предлагают конечному потребителю препараты в форме порошка, которые ветеринарному врачу необходимо самостоятельно разводить с водой для поения или смешивать с кормами.

**Степень разработанности темы.** Многие из существующих ныне противомикробных ветеринарных препаратов созданы по стандартной схеме: содержат в своём составе антибактериальный агент, а в качестве дополнительных веществ зачастую только стабилизатор и разнообразные растворители. В настоящее время фармацевтической фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработан препарат «Доксициклин - комплекс», который имеет в своем составе доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ лактулозу – 100 мг/мл и солюфор – до 1 мл. Доксициклин оказывает бактериостатическое

действие за счет подавления синтеза белка микроорганизмов. Проникая внутрь клетки, доксициклин действует на внутриклеточно расположенных возбудителей. Одной из важных особенностей действия бромгексина по данным исследований является его способность стимулировать образование эндогенного сурфактанта. Лактулоза, как показывают данные, стимулирует рост и размножение нормальной микрофлоры кишечника, что способствует предотвращению дисбактериозов при применении синтетических антибиотиков.

Таким образом, сочетание в оптимальных концентрациях выше указанных компонентов, позволяет предложить отечественной ветеринарии высоко эффективный комбинированный антибактериальный препарат «Доксициклин-комплекс» производства ООО «НВЦ Агроветзащита», в форме раствора для выпаивания и обладающего комплексным действием, что определяет предмет наших исследований, поскольку на момент начала исследований по разработке препарата «Доксициклин-комплекс» его доклиническая и клиническая часть не были изучены. Проблема заболеваний поросят респираторными и желудочно-кишечными болезнями, ее экономическое значение, требует проведения разносторонних исследований, в том числе с целью создания эффективных и безопасных фармакологических средств для лечения и профилактики данных заболеваний.

**Цели и задачи.** Целью работы явилось изучение безопасности и эффективности применения препарата «Доксициклин – комплекс» при бронхопневмониях и гастроэнтеритах поросят.

В соответствии с поставленной целью определены следующие задачи:

- фармако-токсикологическое и клинико-морфологическое обоснование безопасности применения антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс»;
- уточнение клинико-гематологического и биохимического статуса при бронхопневмонии и гастроэнтеритах у поросят;
- титрация доз и кратность применения препарата «Доксициклин-

комплекс» в эксперименте при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят;

- изучение терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» в клинической практике свиноводства при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят.

**Объект исследований.** Лабораторные животные (белые мыши, белые крысы, кролики). Цыплята, клинически здоровые и больные бронхопневмонией и гастроэнтеритами поросята. Препарат «Доксициклин-комплекс».

**Предмет исследования.** Фармако-токсикологические свойства препарата «Доксициклин-комплекс». Состояние гомеостаза организма животных. Кровь лабораторных животных, клинически здоровых и больных поросят. Клинические, морфологические, биохимические исследования.

**Научная новизна.** Впервые:

- установлены параметры острой и хронической токсичности препарата «Доксициклин - комплекс» в эксперименте на лабораторных животных;

- изучена фармакокинетика и установлено влияние препарата «Доксициклин - комплекс» на состояние морфологических структур внутренних органов животных;

- выполнена титрация доз и установлена кратность применения препарата «Доксициклин-комплекс» в эксперименте при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят;

- установлена терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** В работе дана оценка острой и хронической токсичности препарата «Доксициклин-комплекс» в эксперименте на лабораторных животных, а также получены сведения о его фармакокинетике и о наличии остаточных количеств в организме животных после применения препарата «Доксициклин-комплекс», которые свидетельствуют о том, что данный препарат обладает высокой биодоступностью и относится к препаратам 3-го класса опасности. Получены



результаты изучения морфологических изменений в органах и тканях цыплят после длительного применения препарата «Доксициклин - комплекс». Проведена титрация доз и кратность применения препарата «Доксициклин-комплекс» в эксперименте при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят. Наиболее целесообразной дозой препарата при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят является дозировка 10 мг/кг. Дана терапевтическая оценка эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» в свиноводстве при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят. Полученные результаты исследования позволяют рекомендовать ветеринарным специалистам применение препарата «Доксициклин - комплекс» в свиноводстве и птицеводстве

В работе получены материалы, которые используются:

- ветеринарными специалистами К(Ф)Х и других хозяйств различных организационно - правовых форм собственности при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят;

- в учебном процессе ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ имени Н.И. Вавилова» при изучении дисциплин клиническая диагностика, внутренние незаразные болезни, фармакология, на курсах повышения квалификации и переподготовки ветеринарных специалистов;

- в научной и исследовательской работе организаций биологического, и ветеринарного профиля, а также при написании учебных пособий, методических рекомендаций и монографий.

**Методология и методы исследования.** Методика исследований основана на применение современного сертифицированного оборудования. Экспериментальные и клинические исследования выполнены с использованием методики планирования экспериментов путем формирования (по принципу аналогов) подопытных и контрольных групп поросят больных бронхопневмонией и гастроэнтеритом. При обработке экспериментальных и клинических данных были использованы методы математической статистики с применением современных технических средств.

**Положения, выносимые на защиту:**

- фармако-токсикологическое и клинико-морфологическое обоснование безопасности применения антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс»;
- определение титрации доз и кратности применения препарата «Доксициклин-комплекс» в эксперименте при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят;
- динамика гематологических и биохимических показателей при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят;
- терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» в клинической практике свиноводства при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а клинические, диагностические и экспериментальные исследования проведены на сертифицированном современном оборудовании. Достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно - практических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» (Саратов, 2011 - 2014), Международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию СГАУ им.Н.И. Вавилова 13-14 марта 2013, Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production» (China, 2013), III Международной научной Интернет - конференции 25-26 марта 2014 г. «Биотехнология. Взгляд в будущее» (Казань, 2014), Proceedings of the 23 International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress (Cancun, Quintana Roo, Mexico, 2014).

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 13 работ, которые отражают основное содержание диссертации. Из них 3 статьи в

рецензируемых научных журналах, включённых в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, 3 статьи в зарубежных изданиях.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 149 листах машинописного текста и включает: введение, обзор научной литературы, собственные исследования, включающие разделы: материалы и методы, результаты собственных исследований, их обсуждение, выводы, практические предложения, список литературы, который содержит 153 источника, в том числе 68 иностранных. Работа иллюстрирована 41 таблицей и 23 рисунком.

## **ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **1.1 Историческая справка применения антибиотикотерапии в свиноводстве**

Общеизвестно, что в современном животноводстве очень велика роль антибиотиков, их применение началось практически с момента их открытия. Объясняется это рядом преимуществ, которые дают антибиотики по сравнению с другими химиотерапевтическими веществами. В частности - сравнительно малая токсичность, достаточно широкий спектр антимикробного действия, что само по себе является не маловажным, в борьбе с инфекциями, вызванными несколькими возбудителями [4,5].

Обладая избирательным механизмом действия, антибиотики подавляют действие тех или иных патогенных микроорганизмов в организме животного, также определенным образом могут стимулировать защитные силы организма.

Несмотря на большую специфичность, антибиотики действуют по общим фармакологическим законам, они очень эффективны, но только при четком выполнении разработанных условий. Если условия не соблюдают, то антибиотики малоэффективны, а в некоторых случаях могут причинить и вред [69].

Название «антибиотики» (anti - против, bios - жизнь) дано тогда, когда было известно губительное влияние их только на возбудителей болезней. Позже выяснено, что многие антибиотики стимулируют отдельные биохимические процессы в организме животных, а это ведет к улучшению общего их состояния, ускорению роста, повышению продуктивности, активизации защитных реакций. Термин «антибиотики» был принят в 1942 г., но этому предшествовали большие и сложные исследования. Один из первых отечественных ученых Н. Н. Благовещенский еще в 1890 г. предложил

использовать продукты жизнедеятельности синегнойной палочки для подавления сибирязвенных бактерий в организме животных. К этому времени представление об антибиотических веществах у отдельных микробов было бесспорным и Р. Эммерих предпринял попытки получить эти вещества. Ему удалось выделить из синегнойной палочки пиоцианазу в 1889 г. почти одновременно Н. Ф. Гамалея выделил из того же микроорганизма пиокластин [2].

Разные антибиотики неодинаково действуют на различные микроорганизмы. Антибиотические средства показали крайне высокую степень эффективности при лечении и профилактики различных заболеваний сельскохозяйственных животных.

Современный рынок ветеринарных препаратов на сегодняшний день практически лишен противомикробных препаратов, обладающих комплексно профилактическим потенциалом, которые бы позволяли существенно снизить риск возникновения тяжелых побочных эффектов и оказать полноценную терапию патологий.

Опыт практического использования антибиотиков в животноводстве и многочисленные наблюдения свидетельствуют о том, что эффективность их влияния на интенсивность роста животных во многом зависит от условий применения (возраст и вид животных, характер рациона, условия содержания, дозировка и т. д.). Наибольшее ростостимулирующее действие наблюдается при введении антибиотиков в рационы молодых животных и уменьшается с увеличением возраста. Характер действия ростостимулирующих добавок во многом зависит от качества кормов и тем больше выражен, чем меньше полноценного животного белка содержит корм. Наилучшие результаты получают при добавке препаратов в корма животных, находящихся в неблагоприятных условиях содержания, способствующих возникновению выраженных и скрытых хронических заболеваний (пищеварительные расстройства, энтериты и др.).

Наиболее приемлемый и целесообразный метод, повышающий эффективность химиотерапии бактериальных инфекций и замедляющий развитие резистентности микроорганизмов, рациональное применение в составе препаратов различных вспомогательных терапевтических средств повышающих резистентность животного организма к патогенам [16].

В гуманной медицине существуют основные принципы рациональной антибиотикотерапии. К ним относят:

- целенаправленное применение антибиотиков: по строгим показаниям, ни в коем случае для профилактической цели;

- знание возбудителя. Для эффективной антибиотикотерапии следует получить результаты бактериологического исследования, позволяющего охарактеризовать возбудителя;

- правильный выбор дозировки и кратности назначения антибиотика (для поддержания в крови необходимого уровня концентрации антибиотика);

- профилактика возможных побочных действие и осложнений. Наиболее распространено побочное действие - аллергия. Перед применением антибиотика следует поставить кожную пробу на чувствительность к применяемому антибиотику;

- перед назначением антибиотикотерапии следует выяснить состояние печени, почек, сердца у больного (особенно при применении токсичных препаратов);

- эффективная антибактериальная стратегия подразумевает применение антибиотиков в различных комбинациях. Один антибактериальный препарат не следует применять более 5-7 дней в процессе лечения, и, следовательно, если терапевтического эффекта не наступает, необходимо произвести смену антибиотика на другой;

- при длительной антибиотикотерапии необходимо следить за состоянием иммунной системы (гуморального и клеточного иммунитета), чтобы вовремя выявить дефект в иммунной системе.

Перечисленные принципы антибиотикотерапии применимы в ветеринарной медицине. Необходимо помнить, что одной из основных проблем в лечении инфекционных заболеваний у сельскохозяйственных животных является распространение штаммов микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным препаратам. В медицине это отделения интенсивной терапии, хирургические, ожоговые отделения и т. п. Ветеринарные клиники, где противомикробные препараты назначаются в большом ассортименте по различным показаниям животным, можно сравнивать с медицинскими стационарами, где часто регистрируется, так называемая, госпитальная инфекция [2].

Нужно учесть тот факт, что ветеринарные врачи имеют постоянный контакт с ослабленными, а часто и иммунодефицитными животными. В связи с этим необходимо ответственно относиться к рациональной организации антибиотикотерапии.

Важно использовать эффективный высоко активный препарат, причем назначать его в достаточных дозах в соответствии с рекомендуемой инструкцией по применению.

Мониторинг лекарственной устойчивости возбудителей — важнейшее условие эффективного лечения [48]. По его результатам должны быть выделены препараты первой линии, резерва и глубокого резерва. При всей необходимости знания глобальной картины, планировать схемы лечения надо с учетом достоверных данных, полученных в конкретном случае. В комплекс мероприятий должны быть включены ужесточение ветеринарно-санитарных правил с периодической и вынужденной дезинфекцией помещений. Применение химиотерапевтических препаратов должно быть обосновано соответствующими лабораторными исследованиями. Должно быть выделено ответственное компетентное лицо для анализа результативности применения антибиотиков в конкретной клинике. Определять тактику выбора препаратов первой линии, резерва и глубокого резерва с учетом конкретных условий. Лечение должно быть комплексным. Эффективна схема, которая

предполагает, наряду с другими мероприятиями, селективную деконтаминацию. Используют комплекс активных антимикробных препаратов в сочетании с пробиотиком, что позволяет вытеснить патогенную микрофлору, восстановить колонизационную резистентность. Лечение должно сопровождаться стимуляцией факторов специфического и неспецифического иммунитета. В определенных случаях должны быть переориентированы и медикаментозные подходы: наряду с преимущественной антибиотикотерапией необходимо развивать экологически безопасную фаготерапию [22, 139].

## **1.2. Требования к антибиотическим веществам и их классификация**

К антибиотикам предъявляют следующие требования:

- высокий терапевтический антибактериальный эффект в дозах, не являющихся токсичными для организма;
- отсутствие привыкания возбудителя к антибиотику в процессе терапии;
- преодоление гематоэнцефалитического барьера и сохранение в жидкостях, тканях и органах организма с минимальной инаktivацией белками сыворотки крови и ферментами;
- показатели скорости всасывания, распределения и выведения вещества должны быстро обеспечить терапевтический эффект и поддерживаться в течение заданного времени, при этом наибольшее значение уделяется очагам поражения;
- удобная лекарственная форма, обеспечивающая эффективность и стабильность в обычных условиях хранения [18,19].

Наиболее распространенные лекарственные формы антибиотиков: растворы для внутреннего и инъекционного применения, таблетки, сиропы, аэрозоли, суппозитории, линименты, мази. Каждая форма имеет свои достоинства и недостатки.



В основу классификации антибиотиков положено несколько разных принципов [21].

По способу получения антибиотики делят на:

- природные;
- синтетические;
- полусинтетические (на начальном этапе получают естественным путем, затем синтез ведут искусственно).

Продуцентами большинства антибиотиков являются:

- актиномицеты,
- плесневые грибы.

Которые можно получить и из бактерий (полимиксины), высших растений (фитонциды), тканей животных и рыб (эритрин, эктерицид).

По направленности действия антибиотики делятся на:

- антибактериальные;
- противогрибковые;
- противоопухолевые.

По спектру действия (числу видов микроорганизмов, на которые действуют антибиотики) антибиотики делятся на:

-препараты широкого спектра действия (цефалоспорины 3-го поколения, макролиды);

-препараты узкого спектра действия (циклосерин, линкомицин, бензилпенициллин, клиндамицин).

По химическому строению антибиотики делятся на:

-бета-лактамы антибиотики - основу из молекулы составляет бета-лактамное кольцо, к ним относятся:

-пенициллины - это группа природных и полусинтетических антибиотиков, молекула которых содержит б-аминопенициллановую кислоту, состоящую из двух колец - тиазолидинового и бета-лактамного. Среди них выделяют:

- биосинтетические (пенициллин G - бензилпенициллин);

- aminopenicillins (amoxicillin, ampicillin, becampicillin);
- полусинтетические "антистафилококковые" пенициллины (оксациллин, метициллин, клоксациллин, диклоксациллин, флуклоксациллин), основное преимущество которых - устойчивость к микробным бета-лактамазам, в первую очередь, стафилококковым;

- цефалоспорины - это природные и полусинтетические антибиотики, полученные на основе 7-аминоцефалоспориновой кислоты и содержащие цефемовое (также бета-лактаманное) кольцо, т.е. по структуре они близки к пенициллинам. Они в свою очередь делятся на цефалоспорины 1-го поколения: цеполин, цефалотин, цефалексин; 2-го поколения: - цефазолин (кефзол), цефамезин, цефамандол (мандол); 3-го поколения: - цефуроксим (кетоцеф), цефотаксим (клафоран), цефуроксим аксетил (зиннат), цефтриаксон (лонгацеф), цефтазидим (фортум); 4-го поколения: - цефепим, цефпиром (цефром, кейтен) и другие;

- монобактамы - азтреонам (азактам, небактам);

- карбопенымы - меропенем (меронем) и имипинем. Причем имипинем применяют, только в комбинации со специфическим ингибитором почечной дегидропептидазы циластатиним - имипинем/циластатин (тиенам);

- аминогликозиды - они содержат аминсахара, соединенные гликозидной связью с остальной частью (агликоновым фрагментом) молекулы. К ним относятся: стрептомицин, гентамицин (гарамицин), канамицин, неомицин, мономицин, сизомицин, тобрамицин (тобра) и полусинтетические аминогликозиды - спектиномицин, амикацин (амикин), нетилмицин (нетиллин);

- тетрациклины - основу молекулы составляет полифункциональное гидронафтаценовое соединение с родовым названием тетрациклин. Среди них имеются природные тетрациклины - тетрациклин, окситетрациклин (клинимицин) и полусинтетические тетрациклины - метациклин, хлортетрин, доксициклин (вибрамицин), миноциклин, ролитетрациклин;

-макролиды - препараты этой группы содержат в своей молекуле макроциклическое лактоновое кольцо, связанное с одним или несколькими углеводными остатками. К ним относятся: эритромицин, олеандомицин, рокситромицин (рулид) азитромицин (сумамед), кларитромицин (клацид), спирамицин, диритромицин;

-линкозамиды - к ним относятся: линкомицин и клиндамицин. Фармакологические и биологические свойства этих антибиотиков очень близки к макролидам и хотя в химическом отношении это совершенно иные препараты, некоторые медицинские источники, и фармацевтические фирмы - производители химиопрепаратов, например, делацина С, относят линкозамиды к группе макролидов;

-гликопептиды - препараты этой группы в своей молекуле содержат замещенные пептидные соединения. К ним относятся: ванкомицин (ванкацин, диатрацин), тейкопланин (таргоцид), даптомицин;

-полипептиды - препараты этой группы в своей молекуле содержат остатки полипептидных соединений, к ним относятся: грамицидин, полимиксины М и В, бацитрацин, колистин;

-полиены - препараты этой группы в своей молекуле содержат несколько сопряженных двойных связей. К ним относятся: амфотерицин В, нистатин, леворин, натамицин;

-антрациклинновые антибиотики - к ним относятся противоопухолевые антибиотики - доксорубицин, карминомицин, рубомицин, акларубицин.

Есть еще несколько достаточно широко используемых в настоящее время в практике антибиотиков, не относящихся ни к одной из перечисленных групп - фосфомицин, фузидиевая кислота (фузидин) рифампицин.

### **1.3 Обзор распространенных в РФ ветеринарных антибиотических препаратов их преимущества и недостатки**

Антибиотики широко применяются в ветеринарии как лечебные средства против многих заболеваний сельскохозяйственных животных (копытная болезнь оленей, мыт лошадей, рожа свиней, мастит крупного рогатого скота, сибирская язва, пневмония и др.).

Антибиотики получили широкое применение в научных исследованиях в качестве веществ, используемых при изучении отдельных сторон метаболизма организмов, расшифровки тонких молекулярных механизмов биосинтеза белка, механизма функционирования мембран и других биохимических превращений как специфические ингибиторы определенных реакций. Например, одни антибиотики специфически ингибируют отдельные этапы синтеза белка на рибосомах (хлорамфеникол, пурамицин, тетрациклин), другие — синтез на разных уровнях нуклеиновых кислот (саркомицин подавляет активность полимераз; актиномицин, блеомицин, рубомицин и другие нарушают функцию ДНК; и т. д.), третьи — образование клеточных стенок (пенициллины) и т. д. [142]

Основное применение антибиотики получили в ветеринарной практике, другая же важная область их использования - сельское хозяйство, особенно, животноводство. Связано это с тем, что, во-первых, в промышленном производстве большое количество животных содержат на относительно малых площадях, что и предопределяет распространение различных инфекций. Во-вторых, выращивание и содержание животных предусматривает медикаментозную обработку. В-третьих, широкомасштабная профилактика антибиотиками необходима при транспортировке животных [21,23].

Профилактика и лечение бактериальных инфекций в скотоводстве и свиноводстве сводятся к следующим принципам:

-наиболее важна текущая профилактика в критические моменты выращивания телят и поросят (отъем, перегруппировка, смена корма и т.д.) с использованием премиксов, содержащих антибиотики вводимых с кормом;

-если заболевание всё же возникло, его необходимо быстро купировать и эффективно лечить животных с помощью соответствующих водорастворимых антибиотиков;

-при тяжёлом и осложнённом течении болезни возможно применение инъекционных антибиотиков.

Антибиотики используют при лечении заболеваний птиц и пчел. Так, для лечения индеек, больных синуситами, применяют стрептомицин, хлорамфеникол, хлортетрациклин, при ларинготрахеите цыплят — карбомицин. Для лечения пчелиных семей, пораженных американским или европейским гнильцом, применяют окси-тетрациклин, а при ноземе (диарея) пчел — фумагиллин [16].

Среди антибиотиков, используемых в ветеринарии, очень эффективным препаратом оказался гризеовиридин, применяемый при лечении маститов у рогатого скота и бронхитов у цыплят. Метимицин подавляет развитие возбудителя бруцеллеза, но полностью не излечивает его.

Авермектины - новая группа антибиотиков, образуемая стрептомицетом *S. avermitilis*, по строению относится к макроциклическим лактонам. Авермектины обладают способностью подавлять развитие паразитов животных, в том числе нематод.

Моненсин - антибиотическое вещество, образуемое *S. cinnamonensis*— обладает широким спектром антипротозойной активности. Этот антибиотик, наряду с салиномицином, образуемым культурой определенного штамма 5 *albus*, применяется при лечении кокцидоза домашней птицы. Его употребляют также в качестве добавок к кормам рогатого скота. Он способствует ускорению роста животных и улучшению использования кормов. Салиномицин обладает также антибиотической активностью в отношении грамположительных бактерий, микобактерий и грибов.

Моненсин и салиномицин относятся к полиэфирным антибиотикам с ионофорными свойствами.

Линкомицин показал хорошие результаты при лечении дизентерии у свиней, а комбинация этого антибиотика со спектиномицином (относится к аминогликозидным антибиотикам) дает положительный эффект при бактериальных инфекциях.

Новобиоцин оказался эффективным средством при лечении холеры индеек.

Намечается применение цефоксазола (полусинтетический цефалоспорин) совместно с бензилпенициллином для лечения мастита у дойных коров.

Антибиотики используются в животноводстве как стимуляторы роста ряда сельскохозяйственных животных и птиц.

Небольшие концентрации антибиотиков, применяемые в качестве добавок к корму животным, не оказывают отрицательного влияния на организм и качество продукции [15].

Использование антибиотиков в кормлении животных дает положительный эффект в птицеводстве и свиноводстве, при выращивании телят и других сельскохозяйственных животных. Добавление этих веществ к рациону птиц способствует ускорению их роста, снижению отхода молодняка; антибиотики стимулируют яйценоскость и повышают оплодотворяемость птиц. Введение небольшого количества антибиотиков в корм способствует повышению массы тела за период выращивания на 200-250 г на каждого цыпленка и до 350 г на каждого утенка. При использовании антибиотиков в птицеводстве можно заметно увеличить яйценоскость и от 1000 кур получить в год дополнительно 15 тыс. яиц [26].

Аналогичные результаты отмечаются при использовании антибиотиков в кормлении свиней, телят и других животных. Так, поросята, получавшие с кормом антибиотики, в двухмесячном возрасте весят на 1,5-1,7 кг больше, чем контрольные [17].

Антибиотик норсеотрицин относится к группе стрептотрицинов. Он используется в качестве кормовой добавки при выращивании свиней и обеспечивает прирост живой массы поросят в пределах 5-15% при снижении затрат корма на 3-5%.

Применение антибиотиков при откорме свиней способствует получению дополнительно 100-120 ц свинины от каждой тысячи животных.

В качестве стимулятора роста сельскохозяйственных животных используется моненсин. Он понижает образование метана метаногенными бактериями, размножающимися в рубце жвачных животных, в результате чего увеличивается количество летучих кислот, особенно пропионовой, легко и быстро усваиваемых животными.

Для сельскохозяйственных нужд организовано производство кормовых антибиотиков на базе отходов (барда) спиртовых заводов с добавкой развара пшеничной муки. Получаемые препараты называются БКВ (биомицин кормовой витаминизированный).

Вопросом влияния низких концентраций антибиотиков на рост животных посвящено большое число исследований. Однако механизм стимулирующего действия этих веществ до конца не выяснен. По-видимому, стимулирующий эффект низких концентраций антибиотиков на организм животного связан в основном с двумя факторами: действие на микрофлору кишечника и непосредственное влияние на организм животного [31].

Стимулирующее действие суббактериостатических доз антибиотиков на организм животных и особенно молодняк, связано со многими факторами. Специфической же особенностью этих физиологически активных веществ следует считать их действие на микробный метаболизм пищеварительного тракта животных. Эффективность антибиотиков и других микробных продуктов метаболизма обусловлена особыми веществами роста, или стимуляторами.

Применение антибиотиков в животноводстве и птицеводстве неуклонно расширяется. Такая тенденция способствует увеличению числа

микроорганизмов, несущих множественную антибиотикорезистентность, что, в свою очередь, создает условия для передачи устойчивости микроорганизмов от животных к человеку. Поэтому к проблеме использования антибиотиков в животноводстве следует подходить очень осторожно, учитывая возможные отрицательные последствия [9].

Антибиотики пенициллинового ряда. В силу низкой токсичности, высокой безопасности и эффективности, отсутствия отрицательного влияния на иммунитет антибиотики пенициллинового ряда продолжают оставаться препаратами выбора в ветеринарной практике. Один из новых эффективных препаратов — Бетамокс LA (производитель «Norbrook Laboratories Limited» / «Норбрук Лабораториес Лимитед», Великобритания). Этот лекарственный антибактериальный препарат в форме суспензии для инъекций, предназначенный при лечении животных с болезнями бактериальной этиологии. В качестве действующего вещества содержит амоксициллина тригидрат (150 мг/мл), который является полусинтетическим антибиотиком пенициллинового ряда и обладает широким спектром антимикробного действия. Высокая активность доказана в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в т. ч. *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Streptococcus* spp.

Важно, что обеспечивается бактерицидное действие. Нарушения синтеза мукопептида клеточной стенки чувствительных микроорганизмов происходит вследствие ингибирования ферментов транспептидазы и карбоксипептидазы. Это приводит к нарушению осмотического баланса и разрушению бактериальной клетки. Важным положительным свойством препарата является быстрое всасывание из места инъекции и хорошее распределение в большинстве органов и тканей животного. Максимальная концентрация антибиотика в крови отмечается быстро: уже через 2 часа. Она удерживается на терапевтическом уровне не менее 48 часов после применения Бетамокс



LA. Препарат метаболизируется в печени, поэтому проявляет антимикробную активность в органах мочеполовой системы, выводится из организма преимущественно в неизменном виде с мочой. Малотоксичен (по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к 3 классу опасности по ГОСТ 12.1.007).

Бетамокс LA эффективен при инфекционных болезнях желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, мочеполовой системы, суставов, мягких тканей и кожи, некробактериозе, пупочных инфекциях, атрофическом рините, мастите, метрите и других первичных и вторичных инфекциях бактериальной этиологии, возбудители которых чувствительны к амоксициллину. Его применяют однократно внутримышечно или подкожно в дозе 0,5 мл на 5 кг массы животного, при необходимости вводят повторно через 48 часов. При повышенной индивидуальной чувствительности животного к беталактамным антибиотикам и развитии аллергических реакций использование препарата прекращают и проводят десенсибилизирующую терапию. При лечении животных не следует смешивать Бетамокс LA в одном шприце с другими лекарственными средствами.

При более серьезных вмешательствах или как антибиотик резерва может быть рекомендован Нороклав инъекционный (Noroclav injectionis), который в качестве действующих веществ наряду с амоксицилина тригидратом (140 мг/мл) содержит калия клавуланат (35 мг/мл). Препарат обладает еще более широким спектром бактерицидной активности против большинства грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, в т. ч. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiellae*, *Bacillus anthracis*, *Actinomyces bovis*, *Campylobacter*, *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus* spp., *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Fusobacterium necrophorum*, *Haemophilus* spp. К Нороклаву чувствительны включая штаммы, продуцирующие  $\beta$ -лактамазу. Калия клавуланат, входящий в состав антибиотика, ингибируя  $\beta$ -лактамазу у бактерий, которые приобрели

устойчивость к обычному амоксициллину, что восстанавливает чувствительность возбудителей к бактерицидному действию амоксициллина. Высокая активность в отношении Г<sup>+</sup> и Г<sup>-</sup> флоры, в том числе бактериоидов, многих видов клостридий и других анаэробов дает возможность рекомендовать нороклав без сопровождения другими препаратами при угрозе осложнений, вызываемых анаэробной флорой. Не отмечен иммуносупрессивный эффект. Препарат хорошо всасывается из места введения и проникает в органы, ткани животных, обеспечивая там максимальную концентрацию через 1,5 – 2 часа, которая удерживается на терапевтическом уровне до 48 часов после однократной инъекции. Применяют для лечения заболеваний органов дыхания, мочеполовой системы, мягких тканей (в т. ч. абсцессов, флегмон, пиодермы, паранальных желез, гингивитов), мастита и при других первичных и вторичных инфекциях бактериальной этиологии, возбудители которых чувствительны к амоксициллину. Применяют в дозе 1 мл на 20 кг массы животного (8,75 мг/кг на 1 кг массы животного по ДВ) 1 раз в сутки течение 3 – 5 дней. Вводят внутримышечно или подкожно, перед применением флакон с суспензией следует тщательно встряхнуть, а после введения место инъекции слегка помассировать. При применении препарата Нороклав инъекционный побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдают. В очень редких случаях у отдельных животных на месте инъекции возможна небольшая отечность, которая рассасывается самопроизвольно в течение 1 – 2 суток. Не следует смешивать нороклав в одном шприце с другими лекарственными средствами.

Актуальным остается применение в ветеринарной практике и эффективных цефалоспориновых препаратов. Широким спектром действия обладает новый препарат Солвасол инъекционный («Norbrook Laboratories Limited» / «Норбрук», Великобритания). В качестве действующего вещества он содержит цефалексин натрия (180 мг/мл), а в качестве вспомогательного компонента триглицерид каприловой кислоты. Так как антибиотик

представляет собой стерильную бесцветную или светло-желтого цвета суспензию, он легко набирается в шприц и вводится, не вызывая осложнений на месте инъекции. Быстрое всасывание из места инъекции и хорошее распределение в большинство органов и тканей животного обеспечивает высокую биодоступность препарата. Максимальная концентрация антибиотика в крови отмечается через 45 – 60 минут и удерживается на терапевтическом уровне в течение 18 – 20 часов после парентерального введения. Выводится антибиотик из организма животного преимущественно с мочой в основном в неизменной форме. Применяют в дозе 10 мг/кг массы цефалексина (1 мл суспензии на 18 кг массы). В редких случаях на месте инъекции возможно развитие отека, который рассасывается самопроизвольно в течение 1 – 2 суток.

Применение высоко эффективных антибактериальных препаратов в соответствии с рекомендуемыми принципами рациональной антибиотикотерапии позволяет получать хороший результат при лечении бактериальных инфекций уменьшая вероятность появления резистентных форм [12].

Тетрациклиновые антибиотики подавляют рост и развитие (бактериостатическое действие) многих грамположительных и грамотрицательных микробов, некоторых кислотоустойчивых бактерий, риккетсий, некоторых крупных вирусов, но они не активны против протей, синегнойной палочки, а также большинства грибов и мелких вирусов. Препараты этой группы широко используют с лечебной и профилактической целью при многих заболеваниях животных и птиц.

К тетрациклинам относят: хлортетрациклин (биомицин), окситетрациклин (террамицин), тетрациклин и различные лекарственные формы этих антибиотиков. Тетрациклиновые антибиотики близки между собой по химическому строению и биологическим свойствам.

Доксимаг (Doximag) – антибиотическое лекарственное средство для ветеринарного применения в форме стерильного раствора для инъекций. В

качестве действующего вещества в 1 мл содержится 200 мг доксициклина Doxusyclinum (в виде гидрохлорида, моногидрата или гиклата), а также вспомогательные компоненты и воду для инъекций. Лекарственное средство пролонгированного действия в форме раствора для инъекций. Препарат представляет собой прозрачную жидкость коричневого цвета.

Состав и форма выпуска: по 20 или 100 мл в стерильные стеклянные флаконы соответствующей вместимости. Флаконы герметично укупоривают резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками.

Способ применения и дозы: свиньям препарат применяют 1 раз/сут в течение 4-5 дней в/м в дозе 0.5 мл на 10 кг массы животного. При применении препарата поросётам массой менее 10 кг максимальная разовая доза составляет 0.5 мл на животное. Крупному и мелкому рогатому скоту препарат применяют 1 раз/сут в течение 4-5 дней в/м в дозе 1 мл на 10 кг массы.

При введении препарата в объёме, превышающем для крупного рогатого скота — 20 мл, свиней — 10 мл, овец и телят — 5 мл, инъекции следует проводить в несколько мест.

Недостатки: хорошо зарекомендовавший себя препарат на ветеринарном рынке при средней массе свиньи в 110 кг лечение проводится из расчета 0,5 мл на 10 кг живой массы, соответственно 5,5 мл на одну голову в сутки .

Доксимаг - О 10% лекарственное средство, содержащее в 1 мл препарата 100 мг доксициклина действующее вещество Doxusyclinum (в виде гидрохлорида, моногидрата или гиклата), а также вспомогательные компоненты и воду для инъекций. Препарат представляет собой прозрачную вязкую жидкость тёмно-жёлтого цвета.

Состав и форма выпуска: в виде раствора для орального применения, расфасованным по 100 мл в стеклянные флаконы или по 0,5; 1,0 л в полиэтиленовые канистры. Флаконы укупоривают резиновыми пробками, укрепляют алюминиевыми колпачками. Полиэтиленовые канистры закрывают резьбовыми пластмассовыми крышками с контролем первого вскрытия.

Способ применения и дозы: применяют орально с питьевой водой птице – 1 мл на литр воды в течение 3-5 дней; свиньям – 1 мл на 10 кг массы в течение 4-5 дней (в тяжёлых случаях 7-10 дней). При использовании жёсткой питьевой воды возможно выпадение осадка лекарственного средства.

Доксивит 10 % в 100 г раствора содержится 10 г доксициклина гидрохлорида *Doxusyclinum* (в виде гидрохлорида, моногидрата или гиклата).

Состав и форма выпуска: в полиэтиленовых флаконах емкостью 0,5 и 1 л.

Способ применения и дозы: применяют внутрь индивидуально или групповым способом, в смеси с кормом, водой, один раз в сутки, в течение 3-5 дней, в следующих дозах: крупному рогатому скоту - 15-20 мг препарата (7,5-10 мг по АДВ) на кг массы тела. Свиньям - 20-40 мг препарата (10-20 мг по АДВ) на кг массы тела или 200 г препарата на 1000 л питьевой воды 3-5 дней подряд. Птице (цыплята-бройлеры, ремонтный молодняк кур-несушек, гусята) - 20-40 мг препарата (10-20 мг по АДВ) на кг массы тела или 200-400 г препарата на 1000 л питьевой воды 3-5 дней подряд. В период лечения птица должна получать только воду, содержащую препарат. Хорошо растворяется в воде любой жесткости, не снижая активности. Приготовленный раствор препарата необходимо использовать в течение 24 ч.

Перед групповым применением каждую серию предварительно испытывают на небольшой группе (5-10 животных). При отсутствии в течение 2-3 суток осложнений, препарат применяют для всего поголовья.

Недостатки: экономически не выгоден, цена за килограмм препарата составляет около 1550 рублей.

Доксилокс - антибактериальное лекарственное средство длительного действия в форме раствора для инъекций, содержащее в 1 мл в качестве действующего вещества 200 мг доксициклина гиклата *Doxusyclinum* (в виде гидрохлорида, моногидрата или гиклата), а также вспомогательные компоненты. По внешнему виду представляет собой прозрачную слегка вязкую жидкость коричневого цвета.

Состав и форма выпуска: расфасован по 50 мл и 100 мл во флаконы из темного стекла.

Способ применения и дозы: вводят животным внутримышечно однократно из расчета крупному рогатому скоту и овцам — 1 мл препарата на 10 кг массы животного, что соответствует 200 мг доксициклина на 10 кг массы; свиньям — 0,5 мл препарата на 10 кг массы животного, что соответствует 100 мг доксициклина на 10 кг массы. При необходимости доксилокс применяют повторно через 48 часов после первой инъекции. В связи с возможной болевой реакцией не следует вводить в одно место ягнятам и пороссятам — более 2,5 мл доксилокса, телятам, овцам и взрослым свиньям — более 5 мл препарата, крупному рогатому скоту — более 10 мл. В данном случае инъекции следует проводить в несколько мест.

Недостатки: экономически не выгоден, цена за один литр препарата составляет около 1150 рублей.

Польдодоксин (Polodoxinco) противомикробный препарат в форме раствора для орального применения, содержащий в качестве действующего вещества доксициклина гиклат *Doxycyclinum* (в виде гидрохлорида, моногидрата или гиклата) в дозе, эквивалентной 100 мг доксициклина. По внешнему виду представляет собой густой прозрачный раствор желто-коричневого цвета, не содержащий осадка или частиц, заметных невооруженному глазу.

Состав и форма выпуска: для орального применения в пластиковых флаконах по 1 и 5 л.

Дозы и способ применения. Применяют перорально: птице в дозе 0,5 – 1 мл на литр питьевой воды (эквивалентно 50 – 100 мг доксициклина на литр воды) в течение 3 – 5 дней; свиньям — 1 мл на 10 кг массы тела (эквивалентно 10 мг доксициклина на килограмм массы тела животного) в течение 5 дней. При применении не использовать ржавые поилки.

Недостатки: экономически не выгодный препарат, цена за один литр 1100 рублей. Не рекомендуется применение препарата, животным с печеночной недостаточностью, беременным и лактирующим самкам.

Паудокс (Powdox) оральный раствор в качестве действующего вещества в 1 мл содержит доксициклин (в форме гиклата) *Doxycyclinum* - 100 мг, а также вспомогательные вещества: пирролидон - 150 мг и пропиленгликоль - до 1 мл. По внешнему виду препарат представляет собой прозрачный раствор желто-коричневого цвета.

Состав и форма выпуска: расфасован по 1 л в полимерные бутылки и по 5 л в полимерные канистры, укупоренные навинчиваемыми пластмассовыми крышками с кольцом контроля первого вскрытия.

С оральный раствор применяют животным индивидуально или групповым способом с водой для поения в следующих суточных дозах:

сельскохозяйственным птицам 0,5-1,0 мл на 1 л воды (эквивалентно 50-100 мг доксициклина на 1 л) в течение 3-5 суток;

свиньям 1 мл на 10 кг массы животного (эквивалентно 10 мг доксициклина на 1 кг массы) в течение 5 суток.

Лечебный раствор должен служить единственным источником питьевой воды, его готовят ежедневно в объеме, рассчитанном на потребление животными в течение суток.

Следует избегать пропусков при введении очередной дозы препарата, так как это может привести к снижению эффективности. В случае пропуска одной дозы применение препарата возобновляют в той же дозе по той же схеме.

Недостатки: При расчете на птицу и свинью выходит орально с питьевой водой птице 0,5-1,0 мл на 1 л воды в течение 3-5 суток, свиньям 1 мл на 10 кг массы животного в течение 5 суток.

#### **1.4 Современные аспекты конструирования лекарственных средств**

Сегодня современная ветеринарная фармакология как отдельная отрасль еще не так развита как её медицинская часть. Препараты, которые на сегодняшний день представлены на ветеринарном рынке, не достаточно удовлетворяют спрос всех потребителей.

Современная фармация должна решать задачи быстрой и точной доставки лекарств в пределах организма. Это важно именно в тех случаях, когда нужно локальное воздействие на очаг заболевания, где вещество сможет принести наибольшую пользу, не повредив остальные системы органов, не нуждающихся в лечении. Новые nano структурированные биологически активные вещества, которые в данный момент находятся в стадии разработки, могут быть эффективны при лечении таких серьёзных заболеваний, как рак. Планируется, что это будет достигаться путем специальных автономных биосовместимых nano устройств, которые будут обнаруживать, оценивать, лечить заболевания и автоматически докладывать о состоянии больного непосредственно лечащему врачу.

Системы локальной доставки лекарств, основанные на липидных или полимерных наночастицах, могут значительным образом улучшить фармакологические и терапевтические свойства лекарств. Преимущество данного метода заключается в способности таких частиц к изменению фармакокинетики и биораспределению препарата. Именно наночастицы имеют необычные свойства, которые могут быть использованы для улучшения методов доставки лекарств. Куда более крупные частицы просто выводились бы из организма, но в данном случае клетки принимают такие частицы из-за их чрезвычайно малого размера. Такие технологии позволяют веществам проникать сквозь клеточную мембрану, напрямую в цитоплазму клеток. Эффективность данных процессов важна, так как пути протекания многих заболеваний напрямую зависят от процессов, происходящих непосредственно внутри клеток. Лекарства могут находиться в теле человека



и будут активироваться только при подачи им определённого сигнала. Например, препарат с плохой растворимостью будет заменён системой адресной доставки лекарств, при которой и гидрофильные и гидрофобные соединения будут способствовать повышению растворимости всего соединения. Кроме того, введение обычного препарата может привести к повреждению тканей, а регулируемая система высвобождения лекарственного средства может полностью устранить проблему. Если вещество быстро выводится из организма, то это может привести к снижению эффективности данного метода, что приведёт к необходимости увеличивать дозу. Но при использовании новых технологий данная проблема исчезает вследствие изменения фармакокинетики препарата. Нано технологии заставят препараты работать с большей эффективностью, благодаря большему количеству полезных свойств и уменьшенным побочным эффектом.

В самом общем виде лекарство можно определить, как вещество, которое вызывает изменение биологической функции организма за счет химического воздействия. В большинстве случаев молекула лекарства взаимодействует со специальной молекулой биологической системы, которая выполняет регулируемую роль, т.е. является рецепторной молекулой [31,34]. Лекарства могут быть аналогами веществ, синтезируемых в организме (например, гормоны), или же веществами, которые не имеют аналогов в организме, т.е. являются ксенобиотиками (от греческого «ксенос» чужой) [90].

Для того чтобы химически взаимодействовать со своим рецептором, молекула лекарства должна иметь соответствующий размер, электрический заряд, форму и атомное строение. Более того, препарат часто вводят в место, удаленное от точки приложения действия. Поэтому лекарство должно иметь необходимые свойства для транспорта от места введения к месту действия. Наконец, лекарство должно экскретироваться из организма с определенной скоростью так, чтобы его эффект продолжался соответствующее время [124].

Основываясь на этих принципах, различают четыре принципиальных подхода к разработке лекарственных веществ:

-синтез аналогов или антагонистов естественных гормонов, медиаторов или молекул, изменяющих изученные биохимические процессы, что позволяет создать принципиально новые средства, оказывающие терапевтическое действие. Например, блокаторы гистаминовых рецепторов, кальциевых каналов, простагландина и т.д.;

-изменение структуры известных лекарственных средств позволяет создать массу препаратов, обладающих сходными свойствами, и принципиально не отличающихся друг от друга. Однако модификация молекулы, произведенная целенаправленно, может привести к изменениям в структуре столь важным, что позволяет устранить в препарате одни свойства и придать ему совершенно новую активность. Это приводит к созданию принципиально новых лекарственных средств, например антибиотиков, диуретиков и т.д.;

-рандомизированный скрининг принципиально новые химические вещества, синтезированные или полученные из природных источников, подвергаются скринирующему исследованию на животных с помощью набора тестов, предназначенных для выполнения интересующих эффектов;

-выявление новых свойств у лекарственных препаратов, уже применяющихся в клинике, в результате тщательного обследования и наблюдения за их действием на различные системы организма.

Таким образом, ветеринария и медицина обладают широким набором различных лекарственных средств, и каждый год к нему прибавляется множество новых лечебных препаратов [87].

Кроме разработки и усовершенствования самих активных веществ уделяется большое внимание и подбору растворителей, используемых в конструировании лекарственных препаратов [88].

К настоящему времени описано большое количество растворителей, используемых для изготовления инъекционных растворов. Они могут быть

разделены на три основных класса: водные, неводные и смешанные растворители.

К классу водных относятся растворители, в которых основным компонентом является вода. Это вода для инъекций, растворы в воде различных неорганических солей, соразтворителей, применяемых для ускорения растворения действующих веществ и др.

К классу неводных относятся растворители, в которых основным компонентом является какое-либо органическое соединение, позволяющее получать пригодные для инъекций растворы лекарственного вещества: растительные вещества, полиэтиленоксиды и др.

В ряде случаев, когда действующее вещество нерастворимо или плохо растворимо в воде, сразу же после подкожного или внутримышечного введения контакт с тканями вызывает осаждение активного вещества, которое регулируется скоростью диффузии и резорбции растворителя организмом.

Таким образом, растворитель в этом случае имеет функцию носителя, который позволяет сделать инъекцию. Из всех неводных растворителей наибольшее практическое значение имеют растительные масла, этилолеат, пропиленгликоль и полиэтиленгликоли с молекулярным весом 300 и 400 кДа[32].

Теперь, когда достигнуто понимание молекулярных механизмов развития патологического процесса, ученые и врачи не удовлетворяются только необходимым воздействием лекарств на причину заболевания. Встает задача избежать нежелательного побочного действия лекарств на органы и ткани и уменьшить общие побочные эффекты терапии на организм в целом.

### **1.5 Заключение по обзору литературы**

При разработке препарата «Доксициклин - комплекс» учитывались наиболее распространённые заболевания с/х животных, которые наносят наибольший ущерб животноводству, в частности свиноводству.

Так известно, что среди незаразных болезней свиней большой удельный вес занимают патологии пищеварительной системы и легочные заболевания, особенно пневмонии.

Заболевания дыхательной системы регистрируются примерно в 30% случаев от общего числа заболеваний свиней. По данным многих авторов гибель среди заболевших животных доходит до 30-50%, что наносит значительный экономический ущерб. Убытки от пневмонии свиней превосходят все потери, наносимые свиноводству остропротекающими инфекционными болезнями, вместе взятыми.

Под термином бронхопневмония понимается воспалительный процесс охватывающий бронхи и альвеолы легочной ткани.

Бронхопневмонии относятся к полиэтиологичным заболеваниям. Причинами воспаления бронхов и альвеол могут быть недостаточное и неполноценное кормление, как маточного поголовья, так и полученного от них приплода, нарушение санитарно-гигиенического режима содержания молодняка. Холодные, сырые, находящиеся в антисанитарном состоянии помещения с плохоработающей вентиляцией. Повышенное содержание аммиака в воздухе животноводческих помещений вследствие недостаточной или несвоевременной уборки навоза. Кроме того, перегревание, повышенные температуры могут, также явиться причиной возникновения бронхопневмоний у животных.

Считается, что бронхопневмонии являются полиэтиологичными аутоинфекционными заболеваниями. Микроорганизмы населяющие дыхательные пути такие как стрептококки, стафилококки, кишечная и синегнойная палочка, диплококки, гнилостные бактерии, у здоровых животных не вызывают патологического процесса. Этому препятствуют защитные механизмы организма, такие как секреция сурфактанта эпителиоцитами слизистой оболочки бронхов и удаление наружу содержащихся в секрете частиц, в том числе микроорганизмов, бактерицидные свойства сурфактанта содержащего лизоцим, воздействие на

микробы фагоцитов, дендритных клеток слизистой оболочки бронхов. Под воздействием неблагоприятных факторов происходит снижение резистентности организма, что приводит к бурному развитию условно-патогенной микрофлоры дыхательных путей. Которые в свою очередь и обуславливают развитие патологического процесса и клинических симптомов заболевания.

Для лечения животных, больных бронхопневмонией, предложено много методов, но они малоэффективны. У переболевших животных не происходит полного восстановления обмена веществ, они отстают в росте, дают низкие привесы. Все это вызывает необходимость разработки новых методов лечения, которые, наряду с восстановлением дыхательной функции легких, способствовали бы нормализации обмена веществ и всей жизнедеятельности организма.

Патологии пищеварительной системы (гастроэнтериты). Ведущее место внутренних незаразных болезней животных занимают патологии пищеварительной системы. Наиболее выражено данные заболевания протекают у молодняка, в частности поросят. Заболевания пищеварительной системы у молодняка в настоящее время составляют одну из актуальнейших проблем внутренней патологии животных и занимают первое место как по частоте случаев среди всех форм внутренних незаразных болезней, так и по наносимому экономическому ущербу. Наиболее распространенным заболеванием данной группы у поросят является гастроэнтерит.

Гастроэнтерит это преимущественно острое воспаление желудка и тонкого кишечника, сопровождающееся нарушениями пищеварительного процесса, иммунного ответа, обезвоживанием и интоксикацией организма. По происхождению различают первичные и вторичные гастроэнтериты, по характеру воспаления - альтеративные (эрозивно-язвенные, некротические), экссудативные (фибринозные) и реже - продуктивные; по локализации - очаговые и диффузные, по течению - острые и хронические.

В настоящее время гастроэнтерит у молодняка свиней следует рассматривать как полиэтиологическое заболевание, возникающее в результате воздействия на организм животных комплекса этиологических и предрасполагающих факторов, такие как стрессы, недоброкачественные корма, нарушение гигиены кормления и содержания.

Массовые заболевания поросят с поражением желудка и кишечника могут быть при нарушениях технологии изготовления, контроля и скармливания комбикормов, премиксов и добавок, отходов предприятий мясомолочной, рыбной, консервной промышленности, а также пищевых отходов. Часто гастроэнтериты возникают при нарушении режима кормления, при резком переходе от одного корма к другому, при неправильном применении некоторых лекарственных средств. Синдром гастроэнтеральных расстройств может быть вызван отравлением минеральными и растительными ядами, лучевой болезнью, инфекционными и инвазионными болезнями.

В этиологии гастроэнтерита молодняка свиней большое значение принадлежит резким изменениям в рационе поросят в после отъёмный период. Кроме того, немаловажную роль в развитии данного заболевания играют недостаток или избыток в рационе углеводов, недостаток протеина, скармливание концентратов мелкого помола, отсутствие грубого корма, недостаток витаминов и микроэлементов.

Все эти факторы создают благоприятные условия для бурного развития условно патогенных микроорганизмов в кишечнике, которые не только усугубляют развитие патологического процесса, но и обуславливают зачастую степень тяжести и ведущие клинические симптомы заболевания. Наиболее часто при гастроэнтеритах поросят бурному развитию подвергается кишечная палочка. При этом продуктом метаболизма *E. coli* является эндотоксин способный вызывать энтеротоксемию и гастроэнтерит. Размножение данного микроорганизма приводит к сдвигу рН в щелочную сторону, что усугубляет развитие патологического процесса.

Исходя из выше изложенного, в настоящее время остаются актуальными вопросы антимикробной терапии гастроэнтеритов поросят. Наиболее приемлемый и целесообразный метод, повышающий эффективность химиотерапии бактериальных инфекций и замедляющий развитие резистентности у микроорганизмов - рациональное применение в составе препаратов различных вспомогательных терапевтических средств, повышающих резистентность животного организма к патогенам.

Учитывая приведённые выше данные, представляется очевидным необходимость разработки новых антибактериальных препаратов, которые отвечали бы современным требованиям, то есть сочетали в себе несколько качеств и были бы комплексными. Однако из колоссального количества применяемых в ветеринарии препаратов антимикробного действия, лишь не многие могут совмещать в себе несколько действующих веществ.

В этой связи фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработана оральная форма препарата «Доксициклин - комплекс» содержащая в качестве активно действующих веществ: доксициклина гиклат - 100 мг/мл, бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, лактулозу - 10 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ - использован растворитель солюфор (поливинилпирролидон).

Наиболее распространёнными препаратами в ветеринарии, являются антибиотики тетрациклиновой группы [37,40]. Доксициклин активен в отношении большинства аэробных грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также в отношении анаэробных бактерий. Бромгексин применяется в качестве секретолитика и стимулятора моторной функции дыхательных путей, а лактулоза в качестве метаболитика и средства, нормализующего микрофлору кишечника.

Доксициклин (англ. doxycycline) - полусинтетический антибиотик группы тетрациклинов широкого спектра действия. Доксициклин оказывает бактериостатическое действие за счет подавления синтеза белка микроорганизмов. Проникая внутрь клетки, доксициклин действует на внутриклеточно расположенных возбудителей. Подавляет синтез протеинов в

микробной клетке, нарушает связь транспортных аминоксил-РНК с 30S субъединицей рибосомальной мембраны.[15]

Доксициклин активен в отношении аэробных грамположительных бактерий: *Staphylococcus* spp. (в том числе штаммы, продуцирующие пенициллиназу), *Streptococcus* spp. (в том числе *Streptococcus pneumoniae*), *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*; анаэробных бактерий: *Clostridium* spp. а также имеет хорошую активность в отношении аэробных грамотрицательных бактерий: *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Bordetella pertussis*. Кроме того интересна способность доксициклина подавлять рост и размножение таких микроорганизмов как *Rickettsia* spp., *Treponema* spp., *Mycoplasma* spp. и *Chlamydia* spp. К доксициклину устойчивы *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., *Serratia* spp., большинство штаммов *Bacteroides fragilis*. [23,18,26]

По данным литературных источников, известно использование доксициклина при инфекционных поражениях половых путей [18] и органов дыхания [29] При анаэробных инфекциях, [15] а так же при воспалительных процессах различной степени тяжести [16]. Доксициклин в сравнении с тетрациклином и окситетрациклином обладает гораздо более длительным действием, также у него крайне высокая терапевтическая эффективность, при меньших дозах.

Бромгексин (лат. bromhexinum) – полностью синтетический препарат, основное действующее вещество – бромгексина гидрохлорид, представляющий собой белый кристаллический порошок малорастворимый в воде и спирте. Фармакологическая группа - секретолитики и стимуляторы моторной функции дыхательных путей. Активируя мерцательный эпителий, снижает вязкость мокроты, увеличивает её объем и улучшает отхождение. Бромгексин оказывает слабое противокашлевое действие. Муколитический эффект связан с деполимеризацией и разжижением мукопротеиновых и мукополисахаридных волокон. Одной из важных особенностей действия



бромгексина является его способность стимулировать образование эндогенного сурфактанта, представляющего собой смесь поверхностно-активных веществ, которая синтезируется и секретируется пневмоцитами. Известно, что сурфактант выполняет ряд защитных действий, в частности обеспечивает стабильность альвеолярных клеток в процессе дыхания и понижает поверхностное натяжение в альвеоле, предупреждая её «спадение» [27].

В доступной литературе имеются работы посвященные использованию бромгексина в сочетании с антибиотиками для терапии патологических процессов органов дыхания. В частности, приводятся данные показывающие эффективность комбинации антибактериальных препаратов с бромгексином при терапии заболеваний бронхов и лёгких [21].

Лактулоза – дисахарид, который состоит из остатков галактозы и фруктозы, синтетический стереоизомер молочного сахара – лактозы. Лактулоза оказывает гиперосмотическое слабительное действие, стимулирует перистальтику кишечника, улучшает всасывание фосфатов и солей кальция, способствует выведению ионов аммония. Одна из важных функций лактулозы заключается в том, что она стимулирует рост, и размножение нормальной микрофлоры кишечника это препятствует развитию дисбактериозов при применении антибиотических средств [27].

Лактулоза доходит до толстой кишки в неизменном виде, захватывается и метаболизируется бактериями толстой кишки которые в свою очередь способны усваивать лактулозу. За счет этого происходит сдвиг рН среды в толстой кишке в кислую, сторону при этом угнетается рост и размножение патогенных микроорганизмов, таким образом, и создаётся благоприятная среда для размножения сапрофитовых бактерий в толстой кишке. Это свойство и используется при лечении дисбактериозов толстого отдела кишечника.

Кислая среда, создающаяся в толстой кишке при бактериальном метаболизме лактулозы, также угнетает процессы гниения в толстой кишке,

сдвигает баланс гниения и брожения в сторону преобладания бродильных процессов и снижает образование токсичных продуктов гниения белков, в частности, аммиака.

Так же немаловажным моментом является следующее: действие лактулозы приводит к снижению уровня аммиака и других токсичных продуктов гниения белков в крови. Этот эффект лактулозы широко используется при лечении печёночной энцефалопатии, острой и хронической печёночной недостаточности, и других патологий гепатобилиарной системы, когда нарушена способность печени, обезвреживать аммиак [6].

Таким образом, сочетание в оптимальных концентрациях выше указанных компонентов, позволило сконструировать высокоэффективный комбинированный антибактериальный препарат «Доксициклин - комплекс» в форме раствора для выпаивания и обладающего комплексным действием. Препарат «Доксициклин - комплекс» выгодно отличается от большинства существующих противомикробных ветеринарных препаратов, представленных в виде порошков или созданных по стандартной схеме (содержащих в своём составе антибактериальный агент и растворители).

## ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Дизайн исследования

Работа выполнена на кафедре «Болезни животных и ветеринарно–санитарная экспертиза» факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», ИКЦ «Молекулярная биология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова», а также в учебно – опытном хозяйстве «Муммовское» ФГБОУ ВПО «Российский ГАУ - МСХА им. К.А. Тимирязева» Аткарского района Саратовской области в период 2011 – 2014 гг.

Экспериментальная часть диссертационной работы делилась на четыре этапа.

На первом этапе изучали фармако-токсикологические свойства препарата «Доксициклин – комплекс» на лабораторных животных в остром опыте.

На втором этапе определяли бактерицидную активность, исследование фармакокинетики, фармакодинамики и обоснование безопасности применения препарата «Доксициклин – комплекс» на лабораторных животных в хроническом опыте.

На третьем этапе определяли титрацию доз и кратность применения препарата «Доксициклин - комплекс» в эксперименте при лечении бронхопневмоний и гастроэнтеритов у поросят. Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин-комплекс» применяли перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 7 дней в следующих дозировках:

-животным первой группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 200 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили

в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным второй группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 280 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2,8 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным третьей группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 400 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 4 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным четвертой группы (n=5) вводился препарат сравнения «Доксимаг-О 10%» из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 7 дней.

На четвертом этапе проводили изучение терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии (таблица 1) и гастроэнтерита у поросят (таблица 2).

Таблица 1 - Схема титрации доз, кратности применения препаратов «Доксициклин - комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при бронхопневмонии у поросят

Группа	Препарат	Доза препарата	Кратность применения	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг (n = 5)	2 р/д	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического лабораторного исследования смывов из носовых ходов
2 опытная	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
3 опытная	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
Контрольная	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	

Для гематологических исследований применяли ветеринарный автоматический гематологический анализатор крови Наема Screenvet биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимической анализаторе ВА-88А Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». При этом определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, щелочной фосфатазы, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АСТ и АЛТ).

Таблица 2 - Схема титрации доз и кратности применения препаратов «Доксициклин - комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при гастроэнтерите у поросят

Группа	Препарат	Доза препарата	Кратность применения	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического исследования смывов из прямой кишки.
2 опытная	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
3 опытная	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
Контроль	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	

## 2.2 Изучение фармако-токсикологических свойств препарата

### «Доксициклин – комплекс»

Препарат «Доксициклин - комплекс» имеет в своем составе доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ лактулоза – 100 мг/мл и солюфор – до 1 мл. Для изучения острой и хронической токсичности, а также изучения

раздражающего и аллергического действия представлен препарат «Доксициклин - комплекс».

Экспериментальные исследования для решения поставленных задач были проведены на 4-х видах животных: белых мышах (76 голов), кроликах породы «Белый Великан» (21 головы), белых крысах линии Вистар - (30 голов), цыплятах - бройлерах кросс РОСС 308 в возрасте 10 дней (45 голов) и поросятах (25 голов).

Исходный вес животных колебался в пределах: для мышей - 20-22 г; для кроликов - 2200 -2800 г., для крыс - 180-200 г., для цыплят в возрасте 10 дней – 120-150 г., для поросят – 8-10 кг.

В опыт брали клинически здоровых животных, которые (за исключением цыплят), предварительно выдерживались в виварии на 15 - дневном карантине. Статистические группы состояли из 6 - 10 животных.

При исследовании руководствовались методическими рекомендациями. Содержание и уход за животными, а так же их эвтаназия проводились в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения РФ по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Москва (2005 г.) к работе экспериментально-биологических клиник и «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

Изучение острой токсичности препарата при введении в желудок проводили на белых мышах-самцах. Исходный вес животных колебался в пределах 21-22 г. Было сформировано 6 групп по 6 животных.

Препарат «Доксициклин - комплекс» предварительно разводили водопроводной водой в соотношении 1:5, с целью получения адекватных объемов для орального введения. Было испытано 6 доз: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 и 0,7 г/кг массы тела (по действующему веществу). Каждая доза вводилась 6 животным в желудок при помощи зонда. Контрольным животным вводили воду в тех же объемах.

Полученные данные использовались для определения параметров смертельного эффекта – ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>84</sub>. При этом применялся метод Кёрбера в модификации В.Б. Прозоровского (пробит-анализ). Стандартная ошибка вычислялась по эмпирической формуле Гаддама.

Для характеристики степени развития острого смертельного отравления помимо величины ЛД<sub>50</sub>, указывающей на степень токсичности, использовались некоторые показатели, характеризующие опасность препарата в условиях введения в желудок. Это величина – «ЛД<sub>84</sub> / ЛД<sub>16</sub>», характеризующая вариабельность смертельных доз в виде отношения вероятностных параметров, и величина - «S» - функция угла наклона прямой смертельных доз к оси абсцисс».

Раздражающее и аллергическое действие препарата «Доксициклин - комплекс» изучали на 21 кролике породы «Белый Великан», согласно методикам, разработанных в НИИ медицины Труда АМН РФ.

Определение сенсibiliзирующих свойств препарата «Доксициклин-комплекс» проводили также согласно методическим рекомендациям по оценке аллергизирующих свойств фармакологических средств N 98/300, под общей редакцией доктора мед. наук, профессора А.Г.Рудакова (ГИДКЭЛ Минздрава России) и член-корр. РАМН, профессора В.П.Фисенко (Фармакологический государственный комитет), 1998 год.

При выборе доз мы руководствовались рекомендациями, представленными в «Инструкции по применению ветеринарного препарата Доксициклин - комплекс». Рекомендуемые в данной инструкции суточные дозы для птиц пересчитывали на массу мыши и количество корма, потребляемого мышами за сутки.

Для изучения биологического действия препарата был поставлен эксперимент на белых нелинейных мышах и цыплятах бройлерах, которым препарат «Доксициклин - комплекс» вводили орально.

Изучение хронической токсичности препарата «Доксициклин - комплекс» с концентрацией действующего вещества 100 мг/мл (10 %)

проводили на 18 белых нелинейных мышах–самцах массой 14-18 г. и на 30 цыплятах - бройлерах, кросс РОСС 308, возрастом 10 суток, средней живой массой 120 гр. и поросятах возрастом 20-25 дней.

Опыты на белых мышах: все животные были разделены на 3 группы, по 6 животных в каждой. Животным первой опытной группы орально ежедневно в течение 1 месяца вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 50 мг/кг по действующему веществу или 5 мл/кг (препарат «Доксициклин - комплекс» разводили предварительно питьевой водой 1:9 или в 10 раз, для достижения оптимальных объемов вводимого вещества, концентрация действующего вещества во вводимом препарате составляла 10 мг/мл), что соответствовало 1/10 ЛД<sub>50</sub>;

Вторая группа получала — 5 мг/кг по действующему веществу или 0,5 мл/кг (концентрация действующего вещества во вводимом препарате составляла 10 мг/мл), что соответствовало 1/100 от ЛД<sub>50</sub>.

Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления, вводили равный объем раствора вспомогательных веществ, входящих в состав препарата без активного вещества из расчета 5 мл/кг препарата без действующего вещества.

Опыты на цыплятах - бройлерах: птица содержалась на стандартном рационе для цыплят - бройлеров КК 5. Все животные были разделены на 3 группы, по 10 животных в каждой. Животным первой опытной группы орально ежедневно в течение 1 месяца вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 80 мг/кг по действующему веществу или 8 мл/кг, что соответствовало 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Животным второй группы — 8 мг/кг по действующему веществу или 0,8 мл/кг, что соответствовало 1/100 от ЛД<sub>50</sub>.

Препарат вносили в питьевую воду из расчета на группу животных. Количество воды выпаиваемой животным задавали исходя из суточной потребности. Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления давали чистую питьевую воду без препарата.

В течение всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением



животных, динамикой роста массы тела, регулярно проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру.

Влияние препарата «Доксициклин - комплекс» на периферическую кровь оценивали по морфологическому составу клеток и уровню гемоглобина, на аппарате НаemaScreen.

Опыт на 15 поросятах 1,0-1,5 месячного возраста. Животные были разделены на 3 группы, по 5 в каждой. Животным первой группы задавали препарат «Доксициклин - комплекс» с водой для поения в суточной дозе 50 мг/кг по действующему веществу или 5 мл/кг в течение 30 дней, что соответствовало 1/10 LD<sub>50</sub>. Животным второй группы – 5 мг/кг по ДВ или 0,5 мл/кг, что соответствовало 1/100 от LD<sub>50</sub> в течение 30 дней. Третья группа служила контролем.

Препарат вносили в воду из расчета на группу животных на группу животных. Количество воды, выпиваемой животными задавали исходя из суточной потребности. Животным контрольной группы давали чистую воду без препарата. В течение опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных.

С целью оценки функционального состояния печени определяли концентрацию общего белка и его фракций в сыворотке крови мышей, ферментный спектр включал определение активности индикаторных ферментов АСТ и АЛТ. О состоянии функциональной активности почек судили по концентрации мочевины в сыворотке крови животных. Биохимические исследования проводили при помощи наборов реагентов Hospitex diagnostics на биохимическом анализаторе Myndrey.

### **2.3 Определение бактерицидной активности**

Испытание бактерицидной активности раствора препарата Доксициклин-комплекс (10 % р-р доксициклина) методом серийных разведений в мясопептонном агаре (МПА). Целью работы являлось определение чувствительности музейных штаммов микроорганизмов к 10% оральному раствору доксициклина.

Для исследования проб использовался метод серийных разведений в мясопептонном агаре (МПА) (Методическое указание МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Клиническая микробиология и антимикробная терапия 2004; том 6 №4).

В работе использовали питательный агар ООО «Биокомпас - С». Сухая агаризованная питательная среда растворяется и автоклавируется во флаконах по 50 мл в соответствии с инструкцией изготовителя.

Использовали тест-культуры микроорганизмов: *Bacillus pseudoanthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* хранящиеся в музее кафедры «Микробиологии, вирусологии и биотехнологии». Культуры микроорганизмов отсевали на мясопептонный бульон (МПБ) и инкубировали 24 часа при 37°C. С МПБ культуры рассеивали на чашки Петри с МПА и инкубировали 24 часа 37°C. Учитывая при этом чистоту культуры.

### **2.4 Исследование фармакокинетики препарата «Доксициклин – комплекс»**

Целью исследования являлось изучение кинетики доксициклина и бромгексина в организме поросят и цыплят-бройлеров после однократного перорального применения в терапевтической дозе препарата «Доксициклин –

комплекс». Опыты на поросятах и цыплятах проведены на базе ФГУП учхоз «Муммовское» Саратовской области.

Экспериментальные животные:

- поросята / «крупная белая» / 5 месяцев / 48-55 кг. Количество: 4 головы.

Группы: опытная группа – 4 поросёнка; контрольная группа – поросята опытной группы до обработки;

- цыплята-бройлеры / 50 суток / 1390-1455 г. Количество: 20 голов.

Группы: опытная группа – 18 голов; контрольная группа – 2 головы;

Содержание поросят. Поросят содержали в отдельном помещении в станках с решетчатым ограждением высотой 1 м и сплошным полом общей площадью 8 м<sup>2</sup> (2 м<sup>2</sup> на голову). Общий фронт кормления составлял 2,0 м (50 см на голову). Вода для поения соответствовала требованиям ГОСТ 2874. Температура воздуха в помещении составляла 18°C-23°C. Относительная влажность воздуха – 60-75%. Норма искусственного освещения – не менее 50 лк. Скорость движения воздуха – 0,7-1 м/сек. До и во время проведения опыта поросят кормили полнорационным комбикормом СКК-52.

Содержание цыплят-бройлеров. Цыплят-бройлеров, находящихся в опыте, содержали в клетках размером 1700 x 1000 x 650 мм. Влажность воздуха в помещении составляла 65±5%. Температура воздуха равнялась, 22±2°C. птицу содержали при 17 часовом освещении. Рацион представлял собой полнорационный комбикорм ПК-6 с питательностью по нормам.

Проведение эксперимента на поросятах. Перед применением препарата поросят взвешивали. Исследование кинетики препарата «Доксициклин - комплекс» проводили на 4 поросятах, которым препарат выпаивали индивидуально, с водой для поения, однократно в терапевтической дозе.

Учитывая, что суточная норма потребления воды одним поросёнком данной возрастной группы составляет 5,8 л, суточная доза препарата составляет 3 мл на животное. Данное количество препарата (3 мл) разводили водой в 10 раз и выпаивали индивидуально каждому животному.

За 1 час до каждой обработки (контрольные пробы) и через 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 16 и 24 часа после обработки от каждого поросёнка из ушной вены отбирали пробы крови объёмом  $\approx 5$  мл в этикетированные полиэтиленовые центрифужные пробирки объёмом 10 мл, отделяли сыворотку и готовили пробы по отработанным методикам для количественного определения доксициклина и бромгексина методами жидкостной хроматографии высокого давления.

Отобранные пробы хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения пробоподготовки и хроматографического анализа.

Проведение эксперимента на цыплятах-бройлерах. Перед применением препарата цыплят-бройлеров взвешивали. Исследование кинетики препарата Доксициклин - комплекс проводили на 36 цыплятах-бройлерах, которым препарат выпаивали индивидуально, с водой для поения, однократно в терапевтической дозе.

Учитывая, что суточная норма потребления воды одним цыплёнком данной возрастной группы составляет 166 мл, суточная доза препарата составляет 0,083 мл на птицу. Данное количество препарата (0,083 мл) разводили в 10 мл воды и выпаивали индивидуально каждому цыплёнку.

За 1 час до каждой обработки (контрольные пробы) и через 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 16 и 24 часа после обработки от 4 цыплят (с убоём) отбирали пробы крови объёмом  $\approx 3$  мл в этикетированные полиэтиленовые центрифужные пробирки объёмом 10 мл, отделяли сыворотку и готовили пробы по отработанным методикам для количественного определения доксициклина и бромгексина методами жидкостной хроматографии высокого давления.

Отобранные пробы хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения пробоподготовки и хроматографического анализа.

## **2.5 Метод определения остаточного количества доксициклина в сыворотке крови поросят и цыплят-бройлеров**

Для исследования использовали высокоэффективной жидкостной хроматографией с УФ-детектором.

Принцип метода. Для определения концентраций доксициклина в сыворотке крови поросят и цыплят-бройлеров была использована методика L.A. Meijer, K.G.F. («Pharmacokinetic and bioavailability of doxycycline after oral administration in calves» // *Veterinary Quarterly*, 1993, 15: 1-5).

Метод основан на депротеинизации проб сыворотки крови метанольным раствором трихлоруксусной кислоты, очистке полученных экстрактов и последующим количественном определении доксициклина методом жидкостной хроматографии высокого давления с УФ-детектором.

Приготовление раствора для преципитации белков сыворотки крови. Навеску трихлоруксусной кислоты массой 50г перенесли в мерную колбу объёмом 250 мл, растворили в 150 мл метанола, после чего довели метанолом объём раствора до метки. Полученный раствор хранили в герметично закрытой таре при 5°C в течение 14 суток и использовали только охлаждённым.

Приготовление мобильной фазы. В мерную колбу объёмом 1000 мл перенесли 400 мл воды, pH которой предварительно довели до 1,8 ортофосфорной кислотой, добавили 170 мл ацетонитрила, 430 мл метанола и 3 г натрия 1-гептансульфоната.

Мобильную фазу хранили в герметично закрытой таре при 5°C в течение 14 суток и дегазировали с одновременным фильтрованием через мембранные нейлоновые фильтры N-66 непосредственно перед использованием.

Подготовка хроматографа к анализу. Для ввода системы в рабочий режим обращено-фазовую колонку PLRP-S промывали мобильной фазой в количестве не менее 5 свободных объёмов колонки при скорости протекания 0,5 мл/мин. После окончательного уравнивания колонки UV-детектор выводили в рабочий режим,  $\lambda$  – 344 nm. По окончании работы обращено-фазовую колонку

промывали в течение 30 минут со скоростью 1 мл/мин водой. Приготовление растворов стандартного образца доксициклина для последующего построения калибровки. На аналитических весах взвешивали с точностью до четвёртого десятичного знака 115,5 мг стандарта доксициклина гиклата (эквивалентно 100 мг доксициклина), переносили навеску в мерную колбу объёмом 100 мл, добавляли 50 мл метанола и тщательно перемешивали до полного растворения. Затем объем раствора метанолом доводили до метки. 1 мл полученного раствора переносили в мерный цилиндр объёмом 10 мл и доводили объём раствора метанолом до 10 мл. Полученный раствор имел концентрацию 100 мкг доксициклина/мл. Далее, методом разведения готовили стандартные рабочие растворы доксициклина с концентрациями 5; 2,5; 1; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/мл.

Приготовление «модельных» проб (blank + стандарт) для последующего построения калибровочного графика по экстрактам. В 6 центрифужных пробирок объёмом 10 мл пипеткой перенесли по 1 мл рабочих стандартных растворов с концентрациями 5; 2,5; 1; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/мл, после чего растворы упарили досуха. После упаривания в эти же пробирки добавили по 1 мл проб сыворотки крови, отобранных от поросят и цыплят-бройлеров до применения препаратов, пробирки встряхивали в течение 10 минут для растворения сухих остатков стандартных растворов в сыворотке крови.

К пробам добавили по 1 мл охлаждённого 20%-го метанольного раствора трихлоруксусной кислоты, после чего пробирки интенсивно встряхивали в течение 5 минут. После встряхивания пробирки с пробами охлаждали на ледяной бане в течение 10 минут (охлаждение способствует более эффективному отделению супернатантов). Охлаждённые пробы центрифугировали в течение 5 минут при 3000 g и температуре 4°C. Супернатанты переносили в стеклянные пробирки и при помощи инсулиновых шприцов фильтровали через нейлоновые фильтры Acrodisc® в пробирки Эппендорфа, после чего анализировали методом жидкостной хроматографии

высокого давления с УФ-детектором. Анализ проб проводили сразу после пробоподготовки.

По результатам анализа проб вычислили временную динамику изменения концентрации доксициклина в сыворотке крови поросят и цыплят-бройлеров, а также выполнили расчёт фармакокинетических параметров при помощи компьютерной программы «PK Solutions 2.0», разработанной компанией «Summit Research Services» (США).

## **2.6 Влияние антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс» на состояние морфологических структур внутренних органов**

Опыт проводили на цыплятах-бройлерах. Птица содержалась на стандартном рационе для цыплят-бройлеров. Цыплята были разделены на 3 группы, по 10 животных в каждой. Животным первой опытной группы орально ежедневно в течение 1 месяца вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 80 мг/кг по действующему веществу или 8 мл/кг, что соответствовало 1/10 ЛД<sub>50</sub>; — 8 мг/кг по действующему веществу или 0,8 мл/кг, что соответствовало 1/100 от ЛД<sub>50</sub>.

Животные второй группы получали препарат сравнения «Доксимаг-О 10%» в тех же дозах.

Препарат вносили в питьевую воду из расчета на группу животных. Количество воды выпаиваемой животным задавали исходя из суточной потребности. Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления давали чистую питьевую воду без препарата.

В течение всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных, динамикой роста массы тела, регулярно проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру. Птицу выводили из эксперимента на 30 суток. Для морфологического исследования брали печень,

селезёнку и почки.

Кусочки тканей и органов немедленно помещали в фиксирующий раствор: 10% водный нейтральный раствор формалина. Из материала, фиксированного 10%-ным водным раствором нейтрального формалина, на замораживающем микротоме модели 2515 (Reichert Wien) готовили гистологические срезы толщиной 15 мкм. Для обзорных целей гистологические срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином.

## **2.7 Изучение терапевтической эффективности антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтерита у поросят**

Опыт по титрации терапевтической дозы препарата «Доксициклин - комплекс» проводили на базе ФГУП учхоз «Муммовское» Саратовской области. Объектами исследований являлись 40 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Крупная белая», в возрасте 3 мес.), спонтанно заболевшие гастроэнтеритом. Средняя живая масса животных составляла 30 кг.

Диагноз на данное заболевание ставили комплексно: учитывали анамнестические, эпизоотологические и клинические данные, а также результаты бактериологического лабораторного исследования смывов из прямой кишки на вирулентные штаммы энтеробактерий.

По результатам диагностики сформировали три опытных и одна контрольная группы по 10 голов в каждой.

Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин - комплекс» применяли согласно инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 5 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).



Препарат «Доксициклин - комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

-животным первой группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 150 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 1,5 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным второй группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 210 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 2,1 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным третьей группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 300 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 3 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным четвертой группы (n=10) давали препарат сравнения «Доксимаг - О 10%» из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 5 дней.

В процессе работы у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса, при этом основное внимание обращали на состояние пищеварительной системы. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. В начале и по окончании эксперимента из каждой группы брали пробы крови для исследований. Морфологический состав крови исследовали на гематологическом анализаторе НаemaScreenvet. Биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе BA-88A Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». При этом определяли

концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, щелочной фосфатазы, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АСТ и АЛТ).

Для установления микробного состава кишечника у подопытных поросят из анального отверстия были взяты пробы для посева на питательную среду. Высев проводили по методу пластинчатого посева на чашки Петри с агаром Эндо. После инкубирования посевов при 37°C в течение 2 суток из выросших бактериальных колоний выделяли чистую культуру. Для определения морфологических признаков выделенных бактерий проводили микроскопию бактериальных мазков с окраской методами Грама и Бури, а также микроскопию живых бактерий для определения подвижности.

Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при 37°C на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом, а также на жидкой мясопептонной среде с использованием индикаторных бумажек на сероводород и реактива Эрлиха. Наличие каталазы у бактерий определяли с помощью перекиси водорода. Учёт проводили на вторые сутки культивирования.

Тестирование на энтеропатогенность проводили при помощи набора агглютинирующей «О»-коллы сыворотки включающей моновалентные сыворотки ФГУП «Армавирская биофабрика».

## **2.8 Изучение терапевтической эффективности антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят**

Опыт по титрации терапевтической дозы препарата «Доксициклин - комплекс» проводили в период на базе ФГУП учхоза «Муммовское» Саратовской области. Объектами исследований являлись 20 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Дюрок», в возрасте 4 мес.), имеющих клинические признаки воспаления органов дыхательной системы

(кашель, тахипное, отдышка смешанного типа, истечения из носовых ходов, мелко- и средне пузырчатые хрипы, жёсткое везикулярное дыхание). Средняя живая масса животных составляла 40 кг.

Диагностика заболевания осуществлялась комплексно: учитывали анамнестические, эпизоотологические и клинические данные, а так же учитывались результаты гематологических исследований и бактериологического исследования смывов из носовых ходов на наличие патогенной микрофлоры дыхательных путей.

По результатам диагностики сформировали три опытных и одна контрольная группы по 5 голов.

Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин - комплекс» применяли согласно инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 7 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).

Препарат «Доксициклин - комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

-животным первой группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 200 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным второй группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 280 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2,8 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным третьей группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 400 мг на одно животное массой 40 кг. Для

этого, 4 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл;

-животным четвертой группы (n=5) вводился препарат сравнения Доксимаг - О 10% из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 7 дней.

В процессе работы у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса, при этом основное внимание обращали на состояние дыхательной системы. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. В начале и по окончании эксперимента из каждой группы брали пробы крови для исследований. Морфологический состав крови исследовали на гематологическом анализаторе HaemaScreenvet. Биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе ВА-88А Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». При этом определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы (АСТ и АЛТ).

Для установления микробного состава дыхательных путей у подопытных поросят из носовых ходов и зева были взяты пробы для посева на питательные среды. Высев проводили по методу пластинчатого посева на чашки Петри с желточно-солевым агаром (ДСА) и агаром Эндо. После инкубирования посевов при 37°С в течение 2 суток из выросших бактериальных колоний выделяли чистую культуру. Для определения морфологических признаков выделенных бактерий проводили микроскопию бактериальных мазков с окраской методами Грама и Бури, а также микроскопию живых бактерий для определения подвижности. Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при 37°С на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом, а также на жидкой мясопептонной среде с использованием индикаторных бумажек на сероводород и реактива Эрлиха.

Наличие каталазы у бактерий определяли с помощью перекиси водорода. Учёт проводили на вторые сутки культивирования.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0».

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТА «ДОКСИЦИКЛИН – КОМПЛЕКС»

#### 3.1.1 Изучение острой и хронической токсичности препарата «Доксициклин – комплекс»

**Изучение острой токсичности.** Препарат «Доксициклин - комплекс» предварительно разводили водопроводной водой в соотношении 1:5 с целью получения адекватных объемов для орального введения. Было испытано 6 доз: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 и 0,7 г/кг массы тела. Каждая доза вводилась 6 животным в желудок при помощи зонда. Контрольным животным вводили воду в тех же объемах.

Данные смертельного эффекта использовались для определения смертельных параметров - ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>84</sub>. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Изучение острой токсичности препарата  
«Доксициклин - комплекс» при введении в желудок

Дозы, мг/кг	100	200	400	600	700
Выжило	6	6	6	5	0
Погибло	0	0	0	1	6
Z	0	0	0,5	3,5	
D	100	200	200	100	
ZxD	0	0	100	350	
<b>LD<sub>50</sub></b>	<b>625</b>				

Обозначения: Z-среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учтенный эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между 2-мя смежными дозами.

Определение ЛД<sub>50</sub> проводили по формуле:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum Z d}{n} = 700 - \frac{450}{6,0} = 625 \frac{\text{мг}}{\text{кг}}$$

Графический анализ зависимости «доза-эффект» позволяет определить смертельные дозы - ЛД<sub>16</sub> и ЛД<sub>84</sub>, которые составили – 605,8 мг/кг и 736,2 мг/кг, соответственно.

Стандартную ошибку устанавливали по формуле Гаддама (2):

$$S = \frac{\sqrt{K \times s \times d}}{n}$$

где K = 0,564; d -средняя интервала между дозами = 150 мг/кг.

$$s = \frac{\text{ЛД}_{84} - \text{ЛД}_{16}}{2} = \frac{736,2 - 605,8}{2} = 65,2 \frac{\text{мг}}{\text{кг}}$$

$$S = \frac{\sqrt{0,564 \times 65,2 \times 150}}{6} = 12,38 \frac{\text{мг}}{\text{кг}}$$

Таким образом, ЛД<sub>50</sub> данного средства составляет  $625 \pm 12,38$  мг/кг по д.в массы тела.

Полученный результат свидетельствует о том, что данный препарат относится к 3-ому классу слаботоксичных соединений (ГОСТ 12.1.007-76).

Для количественной оценки опасности средства на смертельном уровне учитывали два показателя – средне смертельную величину и показатель отношения смертельных величин - «S», выраженный через функцию угла наклона прямой летальности к оси абсцисс  $(\text{ЛД}_{84} / \text{ЛД}_{50} + \text{ЛД}_{50} / \text{ЛД}_{16}):2=1,1$ .

Коэффициент опасности смертельного отравления (K) составил - 0,0014 и свидетельствует о низкой опасности острого смертельного отравления данным средством (3 класс).

Клиническая картина интоксикации животных, получивших смертельные дозы, после введения проявлялась в виде симптомов, характерных для смертельного отравления - нарушение координации движения, шатающаяся походка, снижение тургора кожи. Вскоре животные

впадали в кому. Через 2-3 дня часть из них погибала. При вскрытии наблюдались - умеренная гиперемия слизистой желудка и некоторое полнокровие печени и почек. У животных, получивших дозу 400 мг/кг, клиническая картина интоксикации не выражена.

**Изучение подострой токсичности.** В ходе изучения хронической токсичности препарата «Доксициклин - комплекс» с концентрацией действующего вещества 100 мг/мл (10 %) опыты проводили на 18 белых нелинейных мышках-самцах с исходной массой 14-18 г. Все животные были разделены на 3 группы, по 6 животных в каждой.

Животным первой опытной группы, орально ежедневно, в течение 1 месяца вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 50 мг/кг по действующему веществу или 5 мл/кг (препарат «Доксициклин - комплекс» разводили предварительно питьевой водой 1:9 или в 10 раз, для достижения оптимальных объемов вводимого вещества, концентрация действующего вещества во вводимом препарате составляла 10 мг/мл), что соответствовало 1/10 ЛД<sub>50</sub>;

Животным второй группы — 5 мг/кг по действующему веществу или 0,5 мл/кг (концентрация действующего вещества во вводимом препарате составляла 10 мг/мл), что соответствовало 1/100 от ЛД<sub>50</sub>.

Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления, вводили равный объем раствора вспомогательных веществ, входящих в состав препарата без активного вещества из расчета 5 мл/кг препарата без действующего вещества (таблица 4).



Таблица 4 - Схема опыта

№ Группы	Препарат	Доза Мг/кг	Степень развед.	Конц. д.в., мг/мл	Доза мл/кг	Кратность	Путь введения	Примечание
1	«Доксициклин-комплекс»	50	1:9	10	5	1 р/д	Per os	ежедневно
2	«Доксициклин-комплекс»	5	1:9	10	0,5	1 р/д	Per os	ежедневно
3	«Доксициклин-комплекс»	0	1:9	0	5	1 р/д	Per os	ежедневно

В течение всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных, динамикой роста массы тела, регулярно проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру.

Результаты исследований показали, что в течение опыта внешних признаков интоксикации у животных не отмечалось. Все животные как опытной, так и контрольной группы были активными, волосяной покров блестящий и приглажен. Реакция на внешние раздражители сохранена.

Признаков токсикоза и гибели животных, не наблюдали, что дает основание говорить об отсутствии у препарата в указанных дозах эффекта кумуляции по токсическому признаку.

Препарат «Доксициклин - комплекс» в выше указанных дозах не оказывал влияния на изменение живой массы (таблица 5).

Таблица 5 - Влияние препарата «Доксициклин - комплекс» на изменение массы тела мышей при оральном введении в течение месяца (n=6)

Сроки взвешивания	Масса тела мышей, г		
	Контроль	50 мг/кг	5 мг/кг ж.м.
0	16,4±1,2	14,1±1,2	17,4±1,3
1 недели	20,8±1,3	17,4±2,0	21,3±1,4
2 недели	23,7±1,3	20,0±3,5	24,5±1,5
3 недель	27,4±1,4	21,4±2,2	27,2±1,4
4 недель	30,5±1,2	24,7±1,7	30,5±1,8

С целью оценки функционального состояния печени определяли концентрацию общего белка и его фракций в сыворотке крови мышей, ферментный спектр включал определение активности индикаторных ферментов АСТ и АЛТ. О состоянии функциональной активности почек судили по концентрации мочевины в сыворотке крови животных. Биохимические исследования проводили при помощи наборов реагентов Hospitex diagnostics на биохимическом анализаторе Myndrey.

Анализ биохимических показателей крови животных разных групп при длительном введении препарата «Доксициклин - комплекс» выявил статистически значимые изменения белкового обмена, которое проявлялось достоверным снижением концентрации общего белка и его фракций в сыворотке крови животных опытных групп. Наряду с этим отмечалось повышение индикаторного фермента аланинаминотрансферазы в сыворотке крови мышей подопытных групп, что может указывать на некоторую гепатотоксичность препарата «Доксициклин - комплекс». Вместе с этим активность аспаратаминотрансферазы оставалась в пределах физиологических границ (таблица 6).

Таблица 6 - Биохимические показатели крови мышей при введении препарата «Доксициклин - комплекс» (n=6, p>0,05)

Показатели	Ед.изм.	Контроль	1 группа (50 мг/кг д.в.)	2 группа (5 мг/кг д.в.)
Мочевина	ммоль/л	6,15±1,73	6,3±2,7	5,6±1,3
Белок общий	г/л	73,65±5,07	47,3±3,7	49,4±4,7
Альбумин	г/л	46,83±5,64	38,3±1,7	36,9±4,1
Глобулин	г/л	26,83±8,27	9,0±3,1	12,5±3,7
АЛТ	Е/л	44,75±6,43	70,7±8,8	85,2±29,4
АСТ	Е/л	149,00±12,40	147,1±14,9	126,2±46,3

Влияние препарата «Доксициклин - комплекс» на периферическую кровь оценивали по морфологическому составу клеток и уровню гемоглобина, на аппарате NaemaScreen. Как показали результаты, хроническое введение препарата вызывало достоверное снижение количества нейтрофилов периферической крови (нейтропения) и увеличение средних клеток, вероятно за счет эозинофилов, как в первой, так и второй группах животных. В остальном отличий (в гематологических показателях) в сравнении с контролем не наблюдалось (таблица 7).

Таблица 7 - Гематологические показатели мышей при оральном введении препарата «Доксициклин - комплекс» (n=6, p>0,05)

Показатель	Ед.изм.	Контроль	1 группа (50 мг/кг д.в.)	2 группа (5 мг/кг д.в.)
WBC	$\times 10^9/L$	4,67±0,58	5,08±1,80	5,97±1,62
LYM	$\times 10^9/L$	3,67±0,58	3,46±1,18	4,28±1,50
MID	$\times 10^9/L$	0,20±0,10	0,94*±0,54	1,00*±0,28
GRA	$\times 10^9/L$	0,93±0,15	0,68±0,31	0,68±0,24
LYM	%	78,33±2,89	68,08±9,99	70,02±8,26
GRA	%	20,17±3,62	14,88*±5,60	13,25*±6,36

Продолжение таблицы 7				
RBC	x10 <sup>12/L</sup>	6,76±0,29	10,86*±2,18	9,59±0,37
HGB	g/L	119,00±8,19	130,40±25,17	146,50±4,51
MCHC	g/L	339,71±21,97	249,48±80,02	301,78±8,87
MCH	Pg	17,63±1,44	12,62±3,92	15,29±0,32
MCV	Fl	52,17±1,63	50,94±1,25	50,65±0,98
RDW-CV	%	16,30±0,62	15,64±1,25	14,83±0,58
RDW-SD	Fl	35,70±0,26	39,80±3,91	37,53±2,06
HCT	%	35,03±1,12	55,36±12,66	48,55±1,25
PLT	x10 <sup>9/L</sup>	507,67±32,19	880,60±246,78	857,83±217,20
MPV	Fl	5,40±0,35	5,72±0,36	5,52±0,37
PDW	Fl	12,33±1,53	6,74±1,73	5,88±0,40
PCT	%	0,34±0,03	0,51±0,17	0,48±0,14
P-LCR	%	15,33±1,53	6,56±3,88	5,32±4,71

При патоморфологическом исследовании внутренних органов мышей, получавших препарат «Доксициклин - комплекс», не отмечали каких-либо изменений.

На основании анализа полученных выше данных можно сделать следующее заключение: препарат «Доксициклин - комплекс» при длительном введении обладает небольшой гепатотоксичностью.

**Изучение хронической токсичности препарата «Доксициклин-комплекс» на поросятах.** В опыте использовали 15 поросят 20-25 дневного возраста массой 12-15 кг и поделили их на 3 группы: первой группе выпаивали лечебный раствор в дозе 50 мл/кг по ДВ, что соответствует 1/10 ЛД<sub>50</sub>; второй группе препарат выпаивали в дозе 5 мл/кг (по действующему

веществу или 0,5 мл/кг), что соответствует 1/100 ЛД<sub>50</sub>. Препарат вносили в питьевую воду из расчета на группу животных. Пороссятам третьей (контрольной) группы давали чистую воду.

Таблица 8 - Гематологические и биохимические показатели крови пороссят

Показатели	Группы			
	контрольная	1-опытная	2-опытная	3-опытная
	исходные данные			
Эритроциты, $10^{12}$ /л	5,85±0,40	4,20±0,20	4,15±0,50	4,2±0,40
Лейкоциты, $10^9$ /л	12,3±0,80	12,6±1,02	14,1±0,70	13,4±0,90
Гемоглобин, г/л	98,0±5,2	79,2±4,8	80,8±2,2	72,5±1,4
Общий белок, г/л	62,4±1,00	63,2±1,30	64,0±1,10	64,7±2,00
АЛТ, ед/л	23,70±0,80	23,50±1,00	22,2±0,80	24,20±1,70
АСТ, ед/л	17,2±0,40	17,2±0,30	16,9±0,70	16,3±0,50

на 21 сутки

Эритроциты, $10^{12}$ /л млн/мм <sup>3</sup>	5,2±0,33	5,40±0,9	5,6 ±0,4	5,7 ±0,2
Лейкоциты, $10^9$ /л	12,9±0,80	13,80±0,9	14,50±0,50	14,80±0,2
Гемоглобин, г/л	92,2±4,50	91,8±2,80	91,5±4,80	92,8±5,10
Общий белок, г/л	62,5±2,80	71,8±2,10	72,3±1,18	72,1±1,80
АЛТ, едл	24,22±0,50	25,4±0,30	24,9±0,20	25,0±0,45
АСТ, ед/л	18,2±0,40	18,70±0,42	19,20±0,80	18,20±0,45

Данные таблицы 8 свидетельствуют, что применение препарата в испытанных дозах не оказало отрицательного влияния на гематологические и биохимические показатели крови пороссят опытных групп. В гематологических показателях в начале опыта отмечено низкое содержание эритроцитов и гемоглобина у подопытных пороссят.

Применение препарата способствовало повышению содержания эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина у опытных животных в конце эксперимента.

Отмечено заметное увеличение содержания общего белка у опытных животных, по сравнению с контрольной группой. Но эти показатели не выходили за границы физиологических значений для здоровых животных.

Убой 3 поросят из каждой группы проведенный в конце эксперимента для проведения макроскопических исследований не выявил существенных изменений со стороны сердца, печени, лёгких, почек, желудка, кишечника, лимфатических узлов. В исследованных органах визуально не обнаружено воспалительных процессов и других патологических изменений.

Железы внутренней секреции находились в пределах физиологической нормы, без патологии.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение поросятам препарата «Доксициклин - комплекс» в испытанных дозах не оказывает отрицательного влияния на физиологическое состояние организма животных, гематологические и биохимические показатели крови и не вызывает патологических изменений со стороны внутренних органов.

Следовательно, можно сделать заключение о безвредности препарата и его положительном влиянии на физиологические процессы в организме растущих животных.

**Изучение переносимости препарата «Доксициклин-комплекс» поросятами.** В опыте использовали 60 поросят, которых разделили их на 3 группы: первой вводили терапевтическую дозу 0,5 мл/л питьевой воды, второй – в три раза увеличенную и третья группа поросят служила контролем.

Результаты исследований показали (таблица 9), что сохранность поросят и в контроле, и в опытных группах составила 100%. Среднесуточный прирост поросят, которым применяли препарат в разных дозах, превышал данные контрольной группы на 8,9 - 10,13%. Максимальное превышение отмечалось в первой опытной группе поросят.

Периодическое наблюдение за поросятами в течение двух последующих месяцев показало, что какого - либо ухудшения общего состояния, заболеваемости поросят не выявлено. Преимущество в

интенсивности роста опытных групп, над контрольной группой животных, сохранялось.

Убой поросят (по 3 животных из группы) и осмотр внутренних органов каких-либо патологических изменений не выявил. Визуально не были отмечены различия между продуктами убоя поросят из опытных и животных контрольной группы.

Таблица 9 - Показатели продуктивности поросят

Показатели	Группы поросят		
	1- контроль	2-опытная	3- опытная
Количество животных в начале опыта, гол	20	20	20
в конце опыта, гол	20	20	20
Масса поросят - в начале опыта, кг	16,2±1,2	15,7±0,9	15,4±1,1
- в конце опыта, кг.	38,5±1,20	39,2±0,9	39,0±0,4
Среднесуточный прирост,	395,0±5,85	401,4± 2,15	403,0±4,04
Сохранность, %	100	100	100

Проведенные в конце опытного периода морфологическое и биохимическое исследование крови поросят (таблица 10) показали, что после применения препарата «Доксициклин – комплекс» наблюдали улучшение показателей по гемоглобину крови, общему белку, альбуминам,  $\gamma$  – глобулинам и ферментам АСТ и АЛТ.

Таблица 10- Гематологические и биохимические показатели поросят

Показатели	Группы		
	1-контр.	2 опытная	3- опытная
Гемоглобин, г/л	99,2±1,20	100,4±2,34	103,2±3,28
Эритроциты, $10^{12}$ /л	5,34±0,12	5,35 ±0,86	5,42±0,45
Лейкоциты, $10^9$ /л	12,92± 0,70	13,00± 1,2	13,00±0,30
Общий белок, г/л	54,9±1,50	55,7±2,20	55,6±2,80
Альбумины. %	37,9±7,44	38,8±2,96	38,9±1,80

Продолжение таблицы 10			
$\alpha$ - глобулины, %	24,9±0,82	25,12±2,45	24,40±0,98
$\beta$ - глобулины, %	19,80± 2,23	17,38± 2,12	18,35±2,55
$\gamma$ - глобулины, %	18,90±2,02	19,0±1,40	19,10±0,73
АСТ, ед/л	18,22±0,32	17,80±1,02	18,15±1,26
АЛТ, ед/л	25,73±1,14	26,5±1,32	26,9±1,07

Таким образом, можно считать, что «Доксициклин – комплекс» не вызывает изменений в гематологических и биохимических показателей крови при введении препарата в терапевтической и трехкратно увеличенной дозах и оказывает положительное влияние на сохранность поголовья, рост и развитие молодняка свиней.

### 3.1.2 Изучение аллергизирующего действия препарата «Доксициклин - комплекс»

Известно, что многие препараты не только в обычных (терапевтических) дозировках, но и в минимальных дозах вызывают различные аллергические реакции организма.

Опыт ставили на 6 кроликах массой тела 5 кг. В конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали по 0,05 мл препарата «Доксициклин - комплекс», в конъюнктивальный мешок правого глаза закапывали физиологический раствор в той же дозе. При закапывании препарата в конъюнктивальный мешок кроликам через 15 мин, через 24 и 48 часов покраснение конъюнктивы и истечение экссудата у всех кроликов не наблюдалось. Роговица глаза прозрачная, гладкая, без изъязвлений и помутнения. Контроль был отрицательный (2 капли физиологического раствора натрия хлорида в конъюнктивальный мешок правого глаза). Исходя, из чего можно предположить, что препарат не обладает местным, раздражающим и аллергизирующим свойствами.



При постановке внутрикожной пробы у 6 кроликов выстригалась шерсть на боковой поверхности брюшной стенки размером 5x5 см. Препарат наносился на выстриженный, чистый участок кожного покрова с последующим лёгким втиранием в кожу. Были получены следующие результаты непосредственно после нанесения препарата на месте нанесения эритемы и отёчности не образовалось. Зуда и беспокойства у животного не отмечено. Спустя 30, 60 минут 24, 48 часов никаких отклонений от нормы, на месте нанесения препарата не выявлено.

При постановке внутрикожной пробы. В качестве положительного контроля использовали 0,01% раствор гистамина, а в качестве отрицательного физиологический раствор. У 9 кроликов выстригался участок волосяного покрова на боковой поверхности брюшной стенки размером 10x10см. Кожа обрабатывалась спиртом и в три точки внутрикожно инъецировали:

*1 точка* - препарат объёмом 0,02 мл;

*2 точка* – гистамин 0,02 мл;

*3 точка* - физиологический раствор 0,02 мл.

Реакцию оценивала спустя 15, 30, 60 минут после введения, затем спустя 24 и 48 часов.

Были получены следующие результаты: на месте введения препарата и физиологического раствора никаких изменений не выявлено (отёков, эритем, зуда). На месте введения гистамина наблюдалось образования отёка и покраснения кожи (эритема).

Таким образом, из результатов проведенных исследований можно сделать вывод, что лекарственный препарат «Доксициклин - комплекс» практически не обладает сенсibiliзирующим действием.

### 3.1.3 Изучение иммунотоксичности препарата «Доксициклин - комплекс»

Иммунотоксичность препарата «Доксициклин-комплекс» определяли по характеру влияния препарата на Т- и В-клеточные звенья иммунной системы организма животных.

Оценку Т-клеточного звена иммунитета проводили по выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и аутологичным розеткообразующим клеткам (ауто-РОК).

Для определения выраженности реакции ГЗТ было взято 20 мышей весом 18-20 г линии С57В1/6, которых разделили на 2 группы: мышам 1-й группы (10 гол.) вводили препарат в дозе 50 мг/кг живого веса по ДВ и параллельно с введением препарата вводили 10%-ую суспензию эритроцитов барана (ЭБ) внутрибрюшинно в дозе 0,3 мл. Животные 2-й группы (10 гол) служили контролем, им вводили только 10%-ую суспензию ЭБ. Через 5 дней после сенсibilизации всем животным вводили разрешающую дозу 2%-ной суспензии ЭБ в количестве 0,02 мл в правую лапку, а в левую физиологический раствор в дозе 0,02 мл. Через 24 часа животных убивали, отрезали лапки на уровне голеностопного сустава и взвешивали на торсионных весах для учета индекса стимуляции по формуле:

$$ИС = \frac{\text{результаты опыта} - \text{результаты контроля}}{\text{результаты контроля}} \times 100\%$$

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты постановки реакции ГЗТ

№ группы	Доза препарата	ЭБ разрешающая доза	ИС
1	50 мг/кг	20 мкл	4,2±0,2
2	Контроль	20 мкл	4,5±0,3

Изменения в динамике аутологичных розеткообразующих клеток у мышей дает представление о влиянии препарата на клеточный иммунитет,

выражающемся снижением или повышением функциональной активности Т-лимфоцитов.

Для определения выраженности к аутологичным розеткообразующим клеткам (ауто-РОК) было взято 20 мышей линии С57В1/6 весом 18-20г, которых разделили на две группы. Животным первой группы вводили препарат в дозе 50 мг/кг веса внутримышечно. Вторая группа служила контролем и препарата не получала. Исследования проводили на 5, 10, 15 и 20 дни после дачи гепатопротектора.

При даче препарата интактным мышам кинетика ауто-РОК характеризовалась стабильными показателями в крови в течение 10 дней как абсолютного, так и относительного количества розеткообразующих клеток, к 20 дню количество розеткообразующих клеток так же оставалось без изменений (4 против 3,9).

Таким образом установлено, что препарат «Доксициклин - комплекс» не оказывает отрицательного действия на Т-клеточное звено иммунитета.

Оценку В-клеточного звена иммунной системы проводили путем определения антителообразующих клеток (АОК), кинетики В-лимфоцитов и титров гемагглютининов в сыворотке крови мышей.

Определение антителообразующих клеток (АОК) - в опытах было использовано 40 мышей линии С57В1/6. Животных делили на две группы. Мышам первой группы вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 50 мг/кг веса, мыши второй группы служили контролем и препарата не получали. При определении антителообразующих клеток (АОК) контрольным животным вводили внутривенно ЭБ.

Индекс стимуляции вычисляли по формуле:

$$ИС = \frac{АОК \cdot v \cdot \text{опыте}}{АОК \cdot v \cdot \text{контроле}}$$

Число АОК считали в каждой пробе среди 200 лимфоцитов.

Результаты определения АОК в 1 пробе в опыте составили в среднем 13,5, в контроле — 13,6; индекс стимуляции — 1,007, что говорит об

отсутствие угнетения трансформации В-лимфоцитов АОК в селезенке.

Результаты исследований кинетики В-лимфоцитов представлены в таблице 10.

Как следует из данных таблицы 12, содержание ЕАС-розеткообразующих клеток (ЕАС–РОК) в крови мышей опытной и контрольной группы существенно не отличалось в течение всего периода испытаний.

Таблица 12 -Результаты исследования кинетики В-лимфоцитов

№ группы	Доза препарата	Дни исследования				
		1-й	5-й	10-й	15-й	20-й
1	50 мг/кг	20,4±1	19,0±0,5	17,4±1,2	19,8±1,2	18,0±2
2	контроль	19,2±1,6	18,6±1	19,8±1	18,0±2	18,4±1

Изучение кинетики В-лимфоцитов. В динамике относительного количества В-лимфоцитов после введения препарата мы не наблюдали достоверное снижение ЕАС–РОК с 1-го по 10-й дни исследования, их количество в конце эксперимента на 20-й день достигало 18,0±2. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что препарат «Доксициклин - комплекс», введенный интрамускулярно однократно, не вызывает снижения иммунного ответа. Таким образом Препарат «Доксициклин - комплекс» не вызывает угнетение Т - и В - клеточное звено иммунитета.

Закключение: Препарат «Доксициклин - комплекс» по своим фармако – токсикологическим свойствам следует отнести к 3 – ему классу малотоксических соединений.

### 3.1.4 Определение бактерицидной активности препарата

#### «Доксициклин - комплекс»

Испытание бактерицидной активности раствора препарата «Доксициклин - комплекс» (10% р-р доксициклина) проводили методом серийных разведений в мясопептонном агаре (МПА). Целью работы являлось определение чувствительности музейных штаммов микроорганизмов к препарату «Доксициклин - комплекс» (10% р-р доксициклина).

Для исследования проб использовался метод серийных разведений в мясопептонном агаре (МПА) (Методическое указание МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Клиническая микробиология и антимикробная терапия 2004; том 6 №4). В работе использовали питательный агар ООО «Биокомпас-С». Сухая агаризованная питательная среда растворяется и автоклавируется во флаконах по 50 мл в соответствии с инструкцией изготовителя.

Использовали тест-культуры микроорганизмов: *Bacillus pseudoanthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* хранящиеся в музее кафедры «Микробиологии, вирусологии и биотехнологии». Культуры микроорганизмов отсеивали на мясопептонный бульон (МПБ) и инкубировали 24 часа при 37°C. С МПБ культуры рассеивания на чашки Петри с МПА, инкубируют 24 часа 37°C. Учитывали чистоту культуры.

Исследования чувствительности микроорганизмов к предоставленному антибиотику проводилось трехкратно. В первый раз использовались культуры микроорганизмов: *Salmonella typhimurium*, *Escherichiacoli*, *Staphylococcus aureus*(209 R), *Bacillus pseudoanthracis*. Далее тест переставлялся 2 раза с культурами: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (полевой) и *Klebsiella pneumoniae*. Параллельно ставился контроль на питательной среде без АБ (Рис.1).



Рис. 1 Контрольный посев на МПА без внесения препарата «Доксициклин – комплекс»  
На питательной среде колонии микроорганизмов обозначались соответственно:

- 1 - *Salmonella typhimurium*;
- 2 - *Escherichia coli*;
- 3 - *Staphylococcus aureus* (полевой);
- 4 - *Klebsiella pneumoniae*.

**Примечание:** штаммы считаются чувствительными к тетрациклину если МПК на него не превышают 4 мкг/мл (А. Г. Гилман Клиническая фармакология по Гудману и Гилману .-М., Практика, 2006.-т. 3.- 400 с.; Стр. 953).

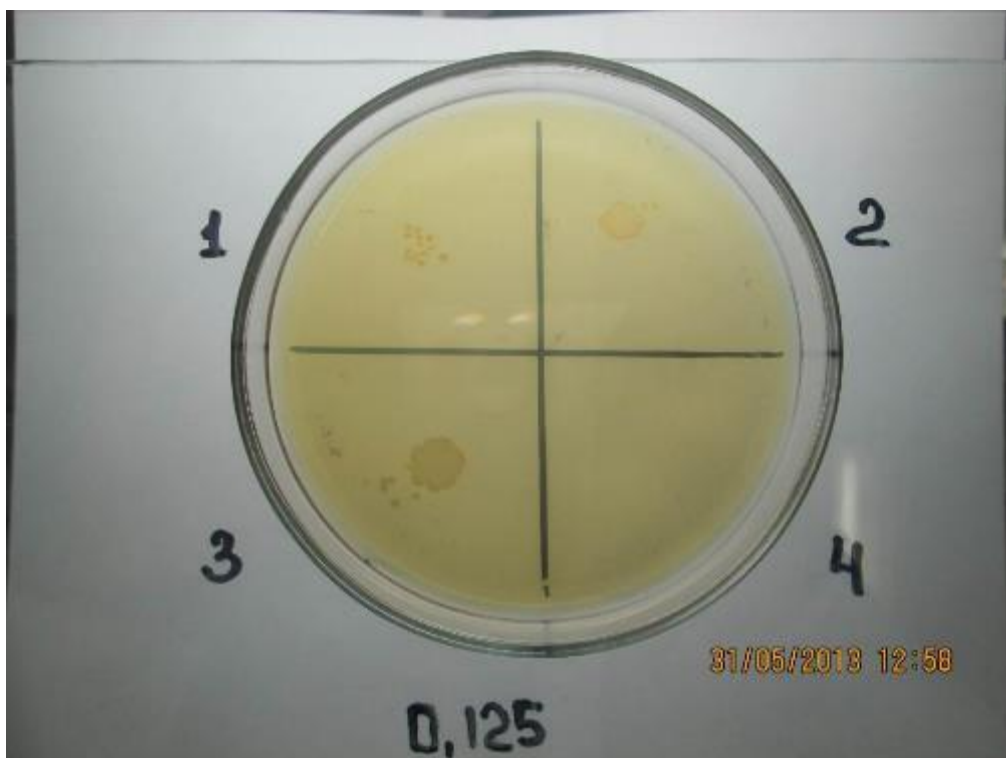


Рис. 2 Рост микроорганизмов при концентрации доксициклина 0,125 мкг/мл



Рис. 3 Рост микроорганизмов при концентрации доксициклина 0,25 мкг/мл

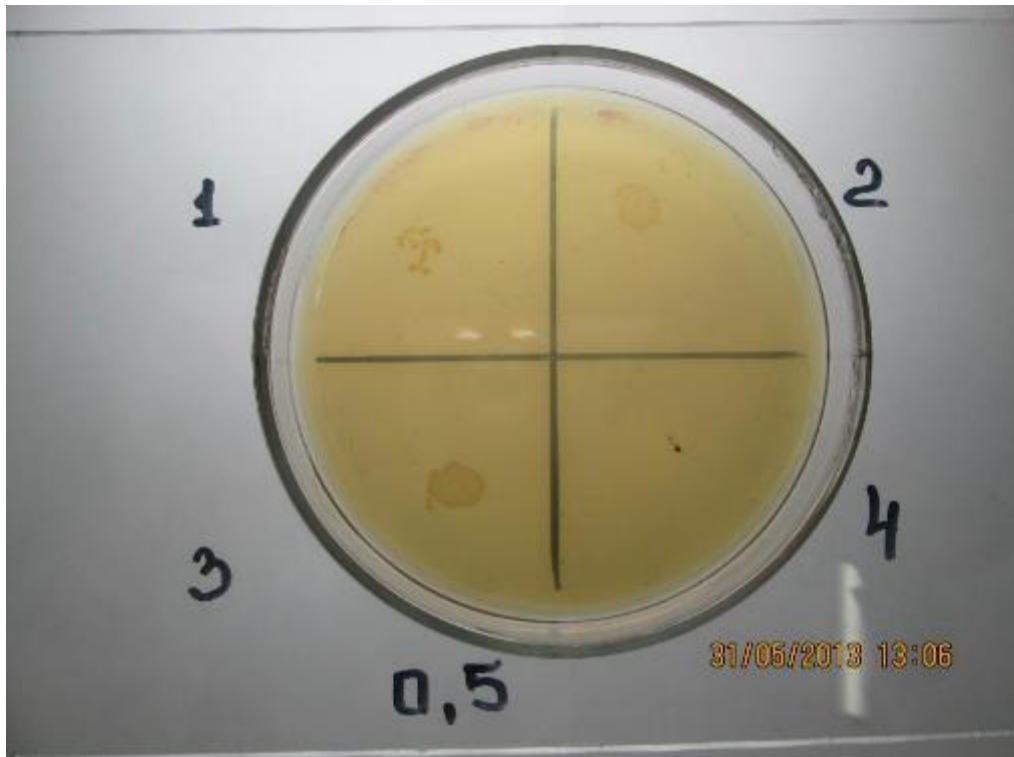


Рис. 4 Рост микроорганизмов при концентрации доксициклина 0,5 мкг/мл



Рис. 5 Рост микроорганизмов при концентрации доксициклина 1 мкг/мл





Рис. 6 Рост микроорганизмов при концентрации  
доксциклина 2 мкг/мл



Рис. 7 Рост микроорганизмов при концентрации  
доксциклина 4 мкг/мл

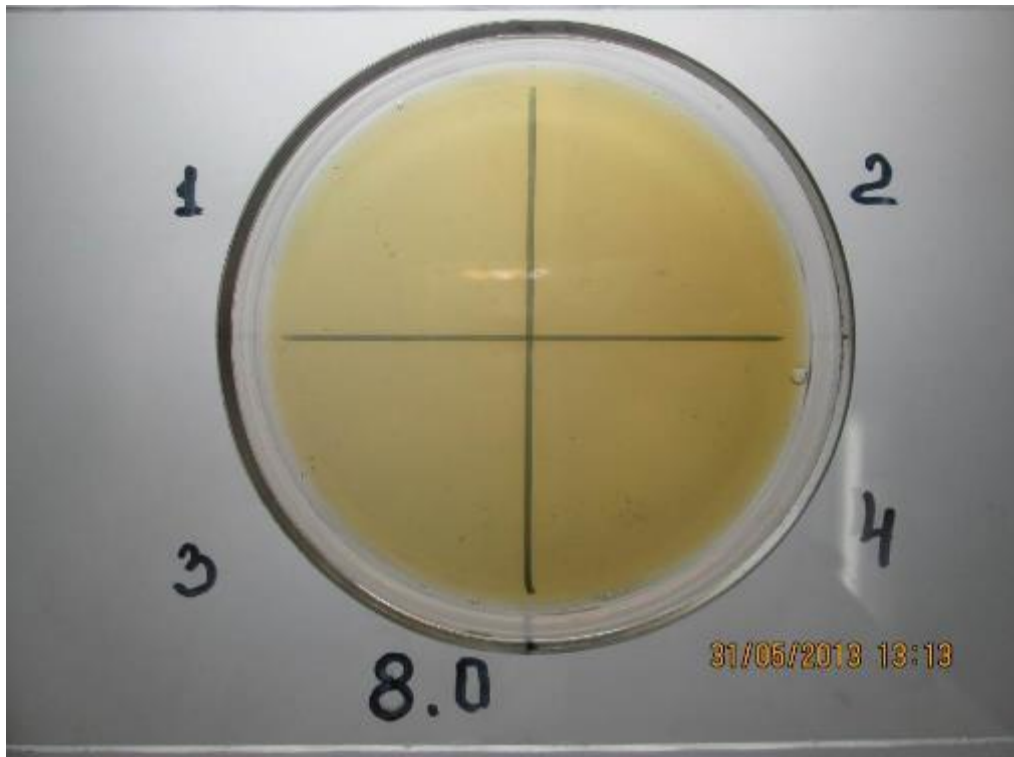


Рис. 8 Рост микроорганизмов при концентрации  
доксицилина 8 мкг/мл

Таблица 13 - Результаты исследования чувствительности микроорганизмов к препарату «Доксициклин - комплекс»

Концентрация доксицилина в питательной среде(мкг/мл)	Тест-культуры микроорганизмов					
	Salmonella typhimurium	Escherichia coli	Staphylococcus aureus		Klebsiella pneumoniae	Bacillus pseudoanthracis
			209 R	полевой		
	1	2		3	4	
Без АБ	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	+	-	-
2	+	-	-	+	-	-
1	+	-	+	+	-	-
0,5	+	+	+	+	-	-
0,25	+	+	+	+	-	-
0,125	+	+	+	+	-	-

Заключение:

1. Высокую антибактериальную активность в лабораторных условиях препарат «Доксициклин - комплекс» проявил к культурам *Bacillus pseudoanthracis*, *Klebsiella pneumoniae*.

2. Среднюю антибактериальную активность препарат «Доксициклин-комплекс» проявил к культурам *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

3. Незначительная (до средней) степень антибактериальной активности к *Staphylococcus aureus* (зависит от штамма данного вида микроорганизмов).

### 3.1.5 Исследование фармакокинетики препарата «Доксициклин - комплекс»

Целью настоящего исследования является изучение кинетики доксициклина и бромгексина в организме поросят после однократного перорального применения в терапевтической дозе препарата «Доксициклин-комплекс».

Таблица 14 - Проведение опыта по исследованию кинетики препарата «Доксициклин - комплекс» на поросятах

Период введения препарата	15.04.2013 г.
Время взятия образцов крови для анализа	За 1 час до обработки; через 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 16 и 24 часа после обработки.
Дата начала проведения анализа	22 апреля 2013 г.
Дата окончания проведения анализа	13 мая 2013 г.

Исследуемый препарат. Название: «Доксициклин - комплекс».  
 Производитель: ООО «НВЦ Агроветзащита С-П.» (г. Сергиев-Посад).  
 Действующие вещества: Доксициклин (в форме гиклата) – 100 мг/мл.  
 Бромгексин (в форме гидрохлорида) – 5 мг/мл. Лекарственная форма: Раствор

для орального применения. Серия: Опытная. Дата изготовления: март 2013 года.

Место проведения исследования. Опыты на поросятах проведены на базе ФГУП учхоза «Муммовское» в Саратовской области.

Экспериментальные животные – поросята / крупная белая / 5 месяцев / 48-55 кг.

Количество: 4 головы. Группы: опытная группа – 4 поросёнка; контрольная группа – поросята опытной группы до обработки.

Проведение эксперимента на поросятах. Перед применением препарата поросят взвешивали. Исследование кинетики препарата «Доксициклин - комплекс» проводили на 4 поросятах, которым препарат выпаивали индивидуально, с водой для поения, однократно в терапевтической дозе.

Учитывая, что суточная норма потребления воды одним поросёнком данной возрастной группы составляет 5,8 л, суточная доза препарата составляет 3 мл на животное. Данное количество препарата (3 мл) разводили водой в 10 раз и выпаивали индивидуально каждому животному.

За 1 час до каждой обработки (контрольные пробы) и через 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 16 и 24 часа после обработки от каждого поросёнка из ушной вены отбирали пробы крови объёмом  $\approx 5$  мл в этикетированные полиэтиленовые центрифужные пробирки объёмом 10 мл, отделяли сыворотку и готовили пробы по отработанным методикам для количественного определения доксициклина и бромгексина методами жидкостной хроматографии высокого давления.

Отобранные пробы хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения пробоподготовки и хроматографического анализа. Результаты определения доксициклина в сыворотке крови поросят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором. Вычисление степени зависимости «площадь пика – концентрация» по стандартным растворам и «модельным» пробам.

Стандартные растворы доксициклина гиклата, а также экстракты «blank» проб с внесёнными стандартами хроматографии при описанных параметрах и строили график корреляции «площадь пика-концентрация» (таблица 15).

Таблица 15 - Вычисление степени зависимости «площадь пика – концентрация»

Концентрация, мкг/мл	Площадь пика стандарта, mV*s	Площадь пика в «модельной» пробе (поросята), mV*s	Площадь пика в «модельной» пробе (цыплята), mV*s	K <sub>3</sub> (поросята)/K <sub>3</sub> (цыплята)
5	324,007	289,103	277,360	0,89/0,86
2,5	150,648	124,319	129,055	0,83/0,86
1	79,531	68,214	62,213	0,86/0,78
0,5	30,868	24,557	28,620	0,80/0,93
0,25	14,629	11,804	12,471	0,81/0,85
Среднее значение коэффициента экстракции				0,83/0,85

С помощью хроматографии проб сыворотки крови с искусственно внесёнными минимальными концентрациями доксициклина определили чувствительность метода. Порог количественного определения метода (LOQ) составил 0,100 мкг/мл; предел детектирования метода (LOD) составил 0,050 мкг/мл.

Результаты определения содержания доксициклина в сыворотке крови поросят. Результаты анализа содержания доксициклина в сыворотке крови поросят после применения препарата «Доксициклин - комплекс» представлены в таблицах 16 и 17.

В результате проведённых исследований установлено, что после перорального введения препарата «Доксициклин-комплекс» доксициклин хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте поросят, достигая максимальных концентраций (1,8 – 2 мкг/мл) в крови через 0,5-2 часа. После

однократного применения препарата доксициклин сохраняется в крови поросят в терапевтических концентрациях до 20-24 часов.

Таблица 16 - Концентрация доксициклина в сыворотке крови поросят после применения препарата Доксициклин - комплекс, мкг/мл

Время отбора проб, час.	№№ поросят			
	1	2	3	4
0,5	0,623	0,548	0,706	0,647
1	1,935	1,744	2,043	1,551
2	1,674	1,628	1,855	1,339
4	1,396	1,324	1,468	1,252
8	0,899	0,819	0,970	0,933
12	0,658	0,631	0,681	0,624
16	0,489	0,484	0,436	0,383
24	0,123	<0,050	0,132	<0,050

Таблица 17 - Фармакокинетические параметры доксициклина у поросят

Фармакокинетические параметры	Номер животного			
	1	2	3	4
$C_{\max}$ (максимальная концентрация действующего вещества), $\mu\text{g/ml}$	2,076	1,921	2,163	2,035
$t_{\max}$ (время достижения максимальной концентрации действующего вещества), min	55,722	59,344	52,095	64,108
$T_{1/2 \text{ el.}}$ (период полувыведения лекарственного средства), min	432,290	460,117	445,650	458,312
AUC (площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время»)	1400,8	1247,3	1506,3	1307,0

Изучение сроков выведения остаточных количеств доксициклина у поросят после применения препарата «Доксициклин - комплекс». Целью настоящего исследования является изучение динамики выведения доксициклина из организма поросят после курсового перорального применения в терапевтической дозе препарата «Доксициклин – комплекс».

Таблица 18 - Проведение опыта по исследованию динамики выведения препарата «Доксициклин - комплекс» на поросятах

Период введения препарата	15.04.2013 г.
Время взятия образцов органов и тканей для анализа	Через 1, 3, 7 и 14 суток после курсового применения препарата.
Дата начала проведения анализа	22 апреля 2013 г.
Дата окончания проведения анализа	13 мая 2013 г.

Экспериментальные животные. Поросята / крупная белая / 5 месяцев / 48-55 кг. Количество: 17 голов. Группы: опытная группа – 16 поросят; контрольная группа – 1 поросёнок. Проведение эксперимента на поросятах. Перед применением препарата поросят взвешивали. Исследование динамики выведения препарата «Доксициклин – комплекс» проводили на 17 поросятах: 16 поросятам препарат индивидуально выпаивали в течение 5 суток с водой для поения в терапевтической дозе 0,5 мл на 1 л воды для поения, 1 поросёнок служил контролем. Учитывая, что суточная норма потребления воды одним поросёнком данной возрастной группы составляет 5,8 л, суточная доза препарата составляет 3 мл на животное. Данное количество препарата (3 мл) разводили водой в 10 раз и выпаивали индивидуально каждому животному.

Через 1, 3, 7 и 14 суток после последнего применения препарата проводили убой животных (по 4 головы на каждый срок), отобрали по 20-30 г образцов органов и тканей (мышцы, печень, почки, кожа-жир). От одного животного, не получавшего препарат, отобрали «контрольные» образцы.

Отобранные пробы хранились при температуре -20°C до проведения пробоподготовки и хроматографического анализа.

Результаты анализа содержания доксициклина в органах и тканях поросят после применения препарата «Доксициклин – комплекс» представлены в таблицах с 16 по 22.

Таблица 19 - Концентрация доксициклина в печени поросят после применения препарата «Доксициклин – комплекс», нг/г

№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
1	166,3	-	-	-
2	145,7	-	-	-
3	130,2	-	-	-
4	150,3	-	-	-
	148,1±14,9			
5	-	57,2	-	-
6	-	121,4	-	-
7	-	113,5	-	-
8	-	177,9	-	-
	117,5±49,4			
9	-	-	35,7	-
№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
10	-	-	31,4	-
11	-	-	78,7	-
Продолжение таблицы 19				
12	-	-	<LOD	-
	*48,6±26,2			
13	-	-	-	<LOD
14	-	-	-	<LOD
15	-	-	-	<LOD
16	-	-	-	<LOD

\* - средняя концентрация вычислена по трём значениям.

Таблица 20 - Концентрация доксициклина в почках поросят после применения препарата «Доксициклин – комплекс», нг/г

№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
1	197,6	-	-	-
2	182,1	-	-	-
3	190,3	-	-	-
4	179,4	-	-	-
	187,4±8,3			
5	-	139,9	-	-
6	-	155,8	-	-
7	-	183,5	-	-
8	-	170,4	-	-



Продолжение таблицы 20				
		162,4±18,8		
9	-	-	75,2	-
10	-	-	69,6	-
11	-	-	101,4	-
12	-	-	95,5	-
			85,4±15,4	
13	-	-	-	<LOD
14	-	-	-	<LOD
15	-	-	-	<LOD
16	-	-	-	<LOD

Таблица 21 - Концентрация доксициклина в мышцах поросят после применения препарата «Доксициклин – комплекс», нг/г

№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
1	113,4	-	-	-
2	108,5	-	-	-
3	105,7	-	-	-
4	92,4	-	-	-
	105,0±9,0			
5	-	89,2	-	-
6	-	92,4	-	-
7	-	109,6	-	-
8	-	123,4	-	-
		103,7±15,9		
9	-	-	58,5	-
10	-	-	49,3	-
11	-	-	41,8	-
12	-	-	60,1	-
			52,4±8,5	
13	-	-	-	<LOD
14	-	-	-	<LOD
15	-	-	-	<LOD
16	-	-	-	<LOD

Таблица 22 - Концентрация доксициклина в коже и жире поросят после применения препарата «Доксициклин – комплекс», нг/г

№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
1	75,2	-	-	-
2	89,5	-	-	-
3	70,6	-	-	-
4	69,7	-	-	-
	76,3±9,2			
5	-	68,8	-	-
6	-	78,4	-	-
7	-	83,4	-	-
8	-	52,7	-	-
		70,8±13,5		
9	-	-	40,5	-
№№ поросят	Время отбора проб, сутки			
	1	3	7	14
10	-	-	35,7	-
11	-	-	<LOD	-
12	-	-	33,8	-
			*36,7±3,5	
13	-	-	-	<LOD
14	-	-	-	<LOD
15	-	-	-	<LOD
16	-	-	-	<LOD

\* - средняя концентрация вычислена по трём значениям.

### 3.2 Клинико-морфологическое обоснование безопасности применения препарата «Доксициклин - комплекс»

Изучение влияния антибиотического препарата «Доксициклин - комплекс» на состояние морфологических структур внутренних органов проводили на 30 цыплятах-бройлерах. Птица содержались на стандартном рационе для цыплят бройлеров. Цыплята были разделены на 3 группы, по 10 животных в каждой. Животным первой опытной группы орально ежедневно в течение 20 дней вводили препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 80

мг/кг по действующему веществу или 8 мл/кг, что соответствовало 1/10 ЛД<sub>50</sub>).

Вторая группа получала препарат сравнения «Доксимаг-О 10%» в тех же дозировках. Препарат вносили в питьевую воду из расчета на группу животных. Количество воды выпаиваемой животным задавали исходя из суточной потребности.

Животным контрольной группы, при тех же условиях содержания и кормления давали чистую питьевую воду без препарата. В течение всего опыта вели наблюдение за состоянием и поведением животных, динамикой роста массы тела, регулярно проводили исследования по оценке функционального состояния печени, почек и изучали влияние препарата на гематологические показатели. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру. Птицу выводили из эксперимента на 30 сутки.

### **3.2.1 Функциональное состояние цыплят-бройлеров после применения препарата «Доксициклин - комплекс»**

Результаты исследований показали, что в течение опыта внешних признаков интоксикации у животных не отмечалось. Все животные как опытной, так и контрольной группы были активными. Реакция на внешние раздражители сохранена.

Признаков токсикоза и гибели животных, не наблюдали, что дает основание говорить о хорошей переносимости препарата даже в многократно увеличенной дозе.

Показатели функционального состояния печени цыплят при применении препарата «Доксициклин - комплекс» представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Показатели функционального состояния печени цыплят при введении препарата «Доксициклин - комплекс»

Показатели	Ед. изм.	1 группа	2 группа	3 группа (контроль)
Белок общий	г/л	48,7±0,4	42,6±0,2	43,5±1,8
Альбумин	г/л	30,0±2,2	30,6±1,2	28,6±2,7
Глобулин	г/л	18,8±1,2	20,0±3,5	20,8±1,2
АЛТ	Е/л	12±1,2	11,7±1,2	12,1±3,2
АСТ	Е/л	224±9,7	238,4±16,6	250,3±19,2

Анализ биохимических показателей крови цыплят при введении препарата «Доксициклин - комплекс» не выявил выраженных изменений. Эти данные косвенно свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии печени.

Влияние препарата «Доксициклин - комплекс» на периферическую кровь оценивали по морфологическому составу клеток и уровню гемоглобина, на аппарате НаemaScreen. Гематологические показатели цыплят представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Гематологические показатели цыплят при введении препарата «Доксициклин - комплекс»

Показатель	Ед. изм.	1 группа	2 группа	3 группа (контроль)
WBC	$\times 10^9/L$	24,18±0,69	26,2±0,60	24,1±0,66
RBC	$\times 10^{12}/L$	2,5±0,17	2,3±0,32	2,8±0,25
HGB	g/L	103,40±9,32	102,3±4,57	104,1±8,37

Как показали результаты исследований, применение препарата «Доксициклин - комплекс» не вызывало выраженных патологических изменений гематологических показателей по сравнению с контролем.

### 3.2.2 Морфологические изменения в органах и тканях цыплят-бройлеров после применения препарата «Доксициклин - комплекс»

Для морфологического исследования брали печень, селезёнку и почки. Кусочки тканей и органов немедленно помещали в фиксирующий раствор: 10% водный нейтральный раствор формалина. Из материала, фиксированного 10%-ным водным раствором нейтрального формалина, на замораживающем микротоме модели 2515 (Reichert Wien) готовили гистологические срезы толщиной 15 мкм. Для обзорных целей гистологические срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином.



Рис. 9 - Печень цыплёнка из 1 опытной группы. Балочная структура умеренно сохранена, тинкториальные свойства не изменены. ГЭ x 50

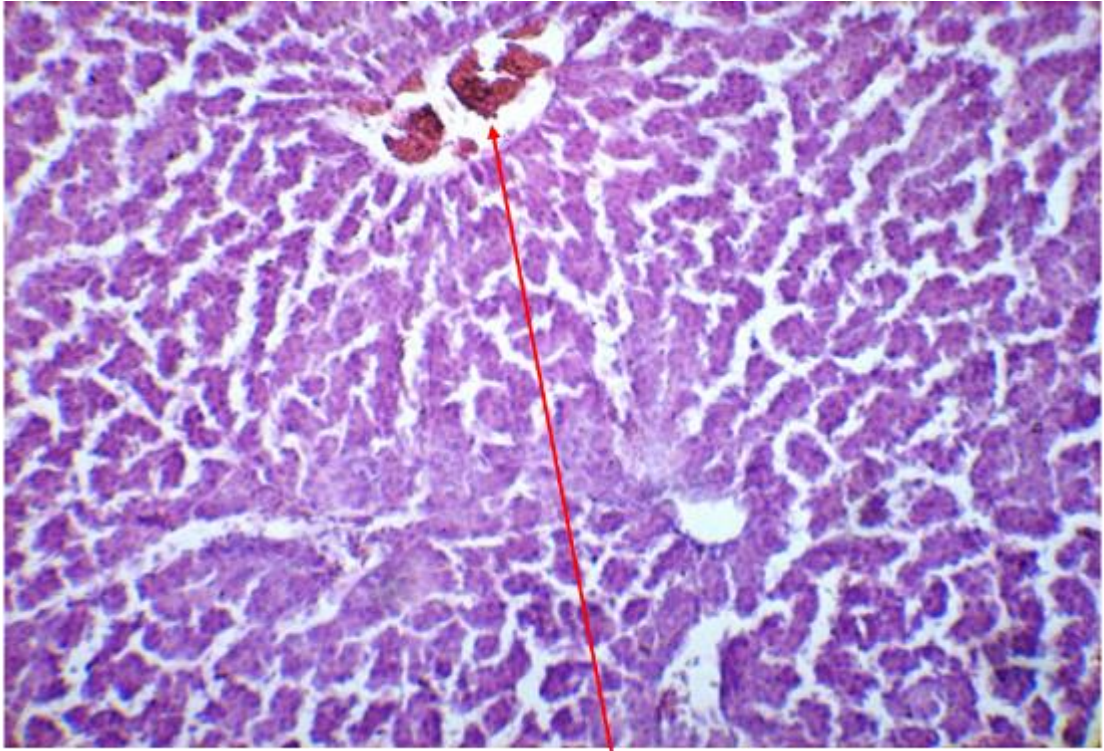


Рис. 10 - Печень цыплёнка из 1 опытной группы. Незначительная гиперемия сосудов. ГЭ x 150

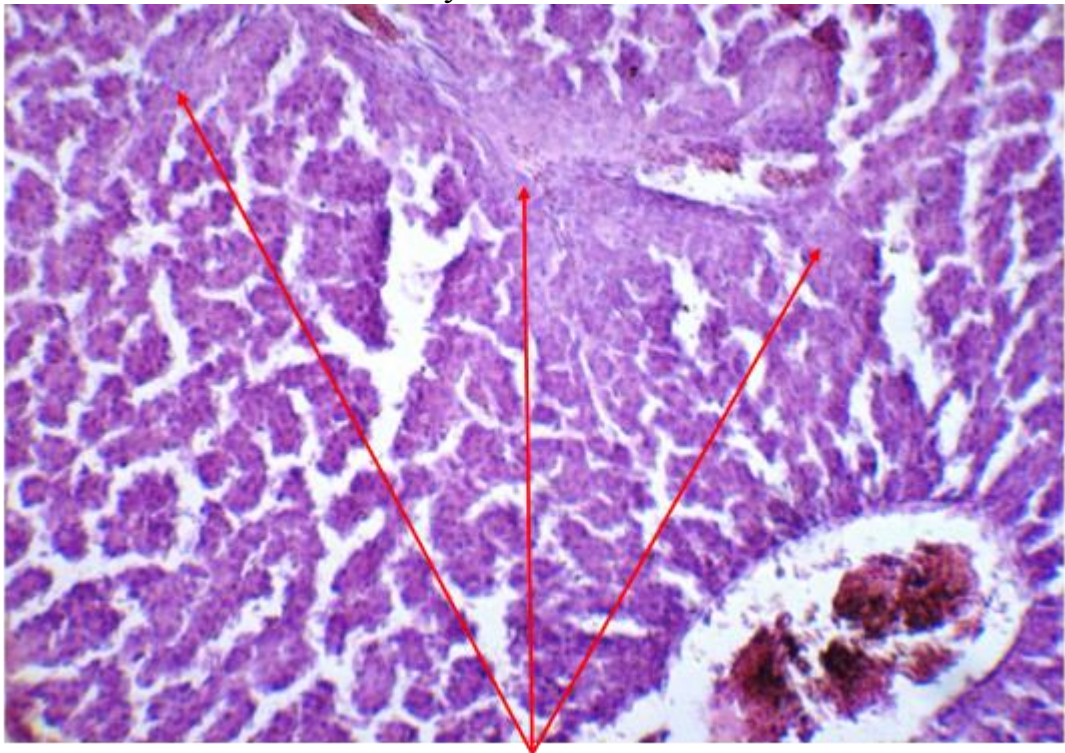


Рис. 11 - Печень цыплёнка из 1 опытной группы. Очаговая зернистая дистрофия гепатоцитов. ГЭ x 150

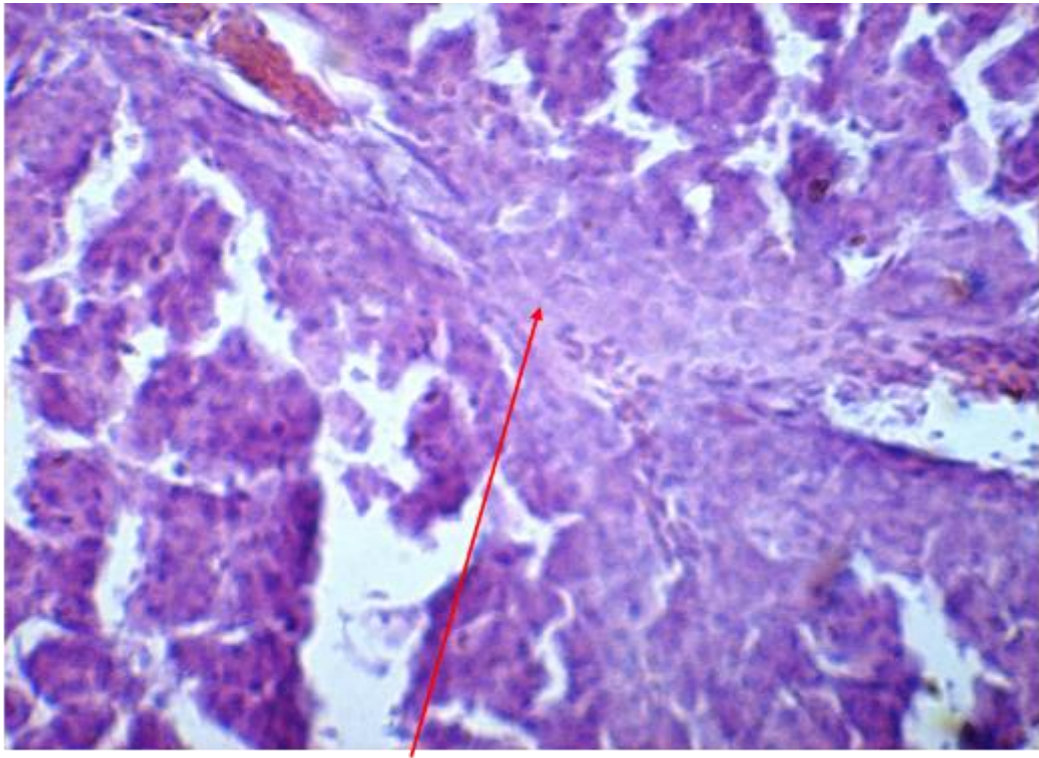


Рис. 12 - Печень цыплёнка из 1 опытной группы. Деталь к Рис. 11. ГЭ x 300

На основании проведённых исследований было установлено, что изменения в печени цыплят из первой опытной группы сопровождались некоторым количественным превышением содержания эритроцитов в крупных и мелких кровеносных сосудах (рисунок 9). Гепатоциты, особенно в некоторых полях зрения, располагаются недостаточно упорядочено. При этом различные структуры ткани органа вполне равномерно восприняли окраску гематоксилином и эозином соответственно своим биохимическим свойствам (рисунок 10). Во многих полях зрения микроскопа выявляются участки более светлой окраски, где гепатоциты несколько увеличены в размерах, имеют непрозрачную цитоплазму и нечеткие границы, как самих клеток, так и их ядер. Расположение гепатоцитов в таких участках характеризуется большей беспорядочностью в сравнении с окружающей их тканью органа (рисунки 11,12).

Таким образом, патоморфологические изменения в печени цыплят из 1 опытной группы, получавших в течение 20 дней препарат «Доксициклин - комплекс» в дозе 80 мг/кг по действующему веществу, характеризуются

умеренно выраженной гиперемией кровеносных сосудов, незначительным нарушением балочной структуры ткани, сохранением тинкториальных свойств и наличием очагов зернистой дистрофии.

Достаточно умеренные изменения в печени (относительно препарата сравнения) можно объяснить содержанием в препарате «Доксициклин - комплекс» в качестве активно действующего вещества – лактулозы. Которая, захватывается и метаболизируется бактериями толстой кишки, при этом продукты бактериального метаболизма лактулозы сдвигают рН среды в толстой кишке в кислую сторону, угнетая тем самым рост и размножение патогенных микроорганизмов и создавая более благоприятную среду для размножения сапрофитных бактерий, снижая образование токсичных продуктов метаболизма и угнетая процессы гниения в толстой кишке. Что сдвигает баланс гниения и брожения в сторону преобладания бродильных процессов и снижает образование токсичных продуктов гниения белков, в частности, аммиака.

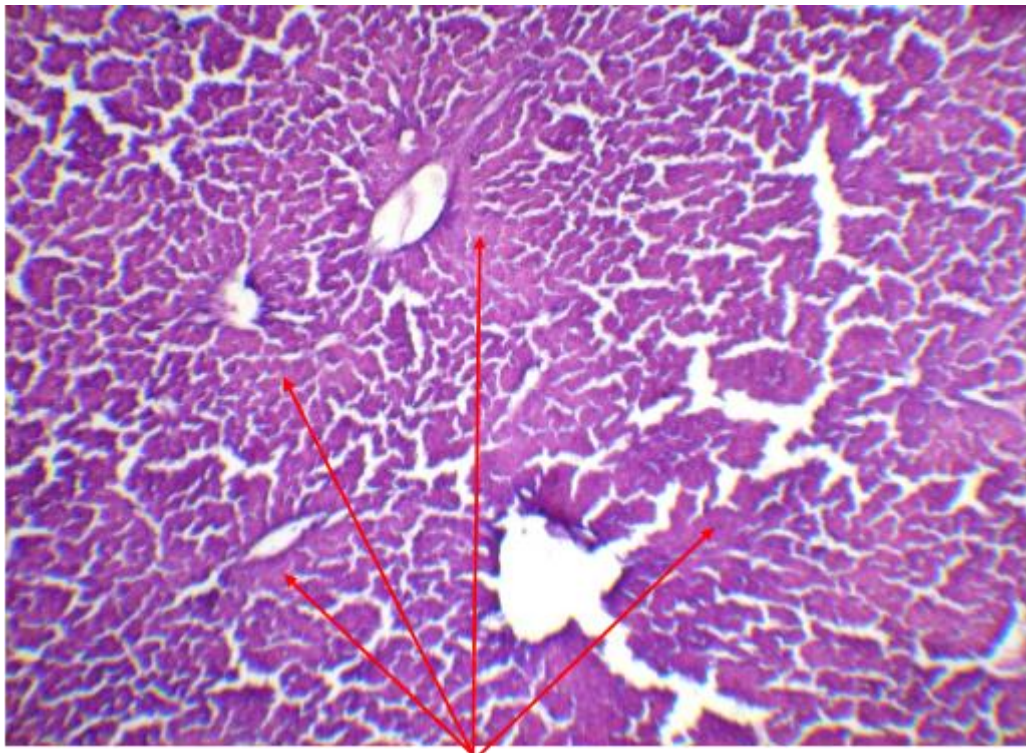


Рис. 13 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Множественные очаги зернистой дистрофии гепатоцитов. ГЭ x 50



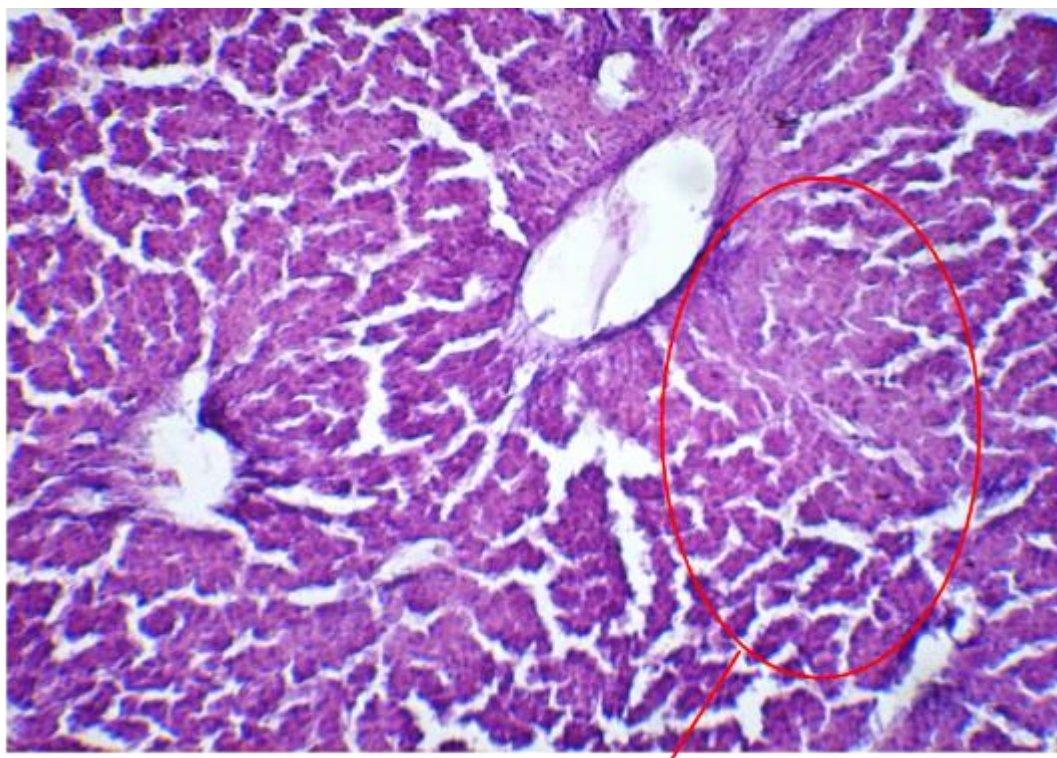


Рис. 14 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Тинкториальные свойства слабо сохранены. ГЭ x 150

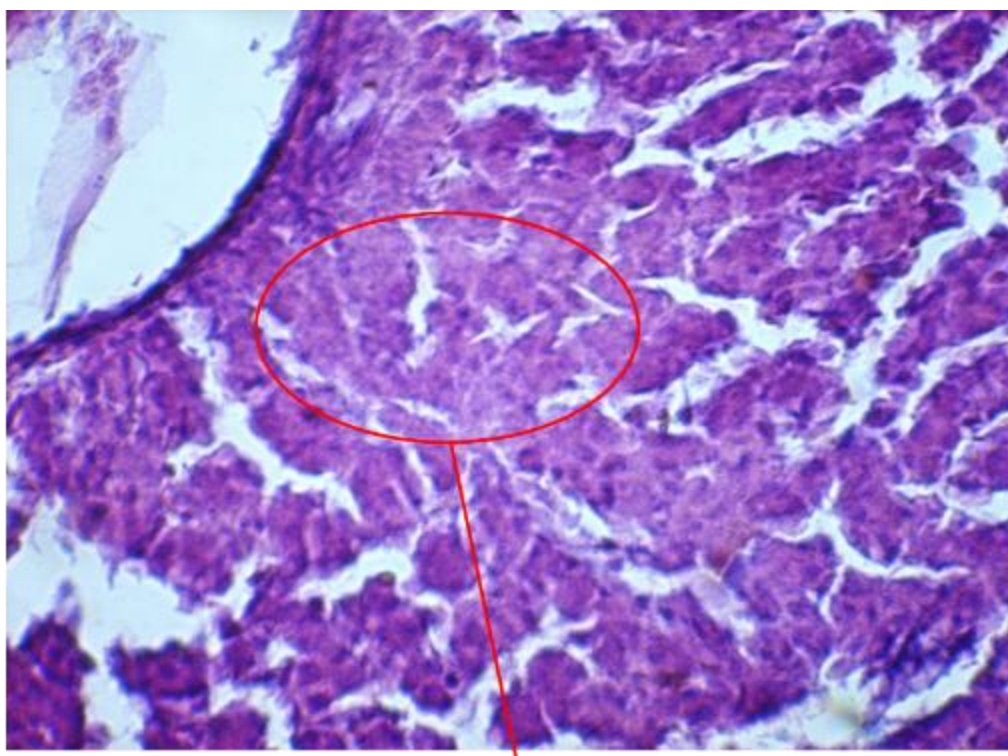


Рис. 15 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Зернистая дистрофия периваскулярно локализованных гепатоцитов. ГЭ x 300

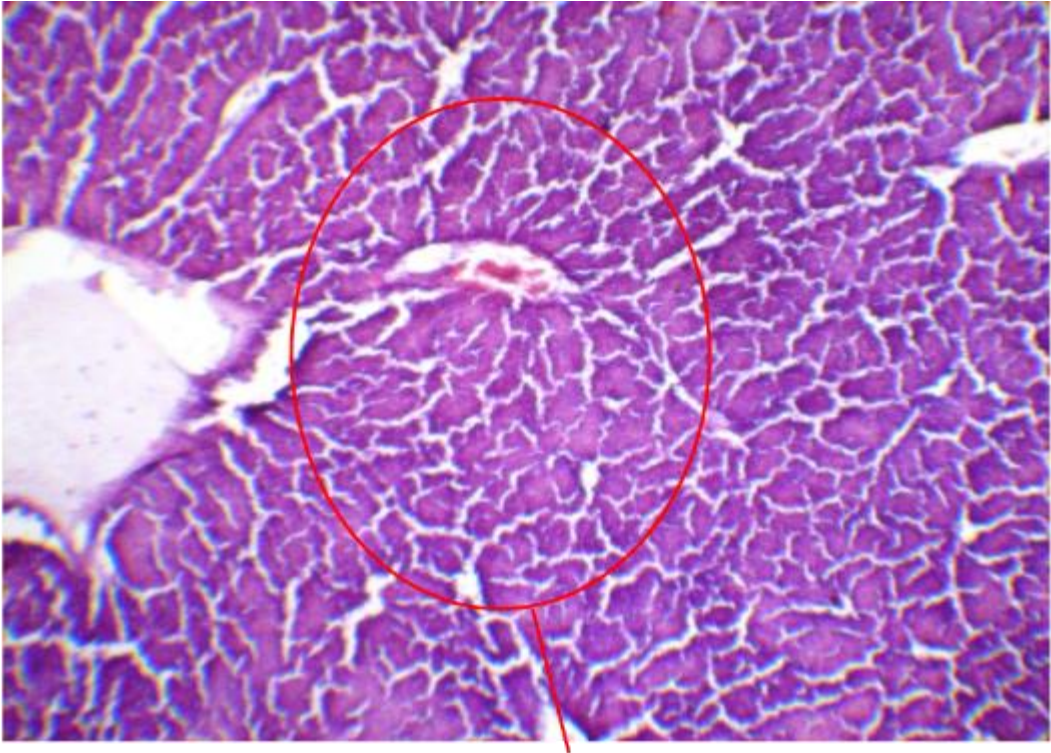


Рис. 16 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Балочная структура слабо заметна. ГЭ x 150

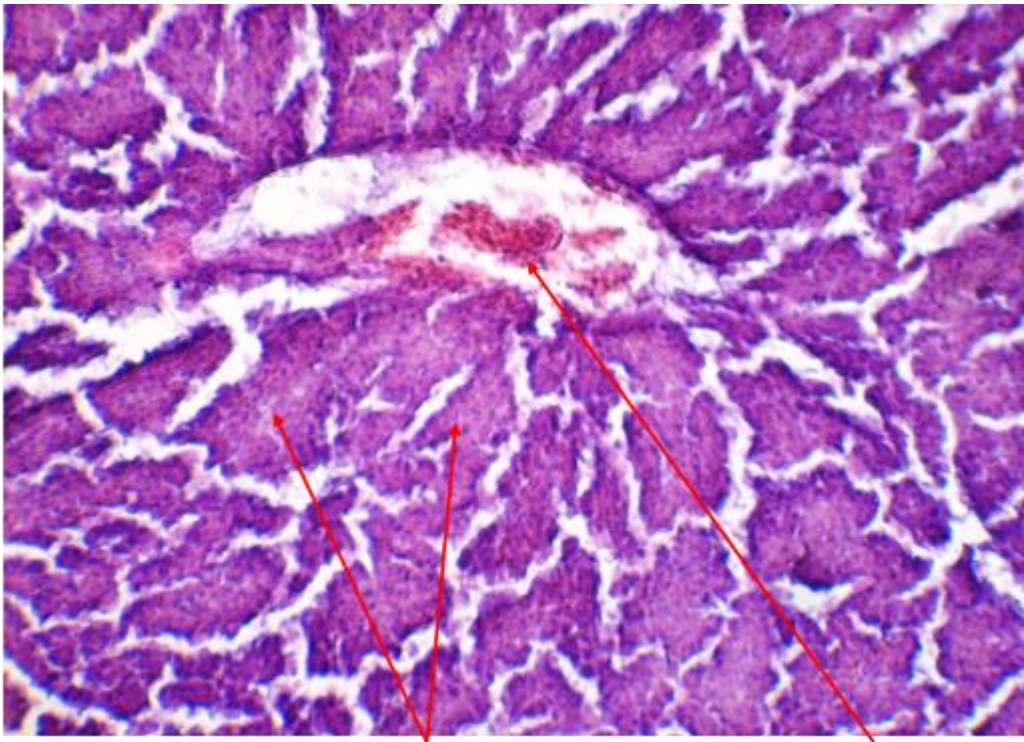


Рис. 17 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Зернистая дистрофия гепатоцитов, незначительное кровенаполнение сосудов. ГЭ x 150

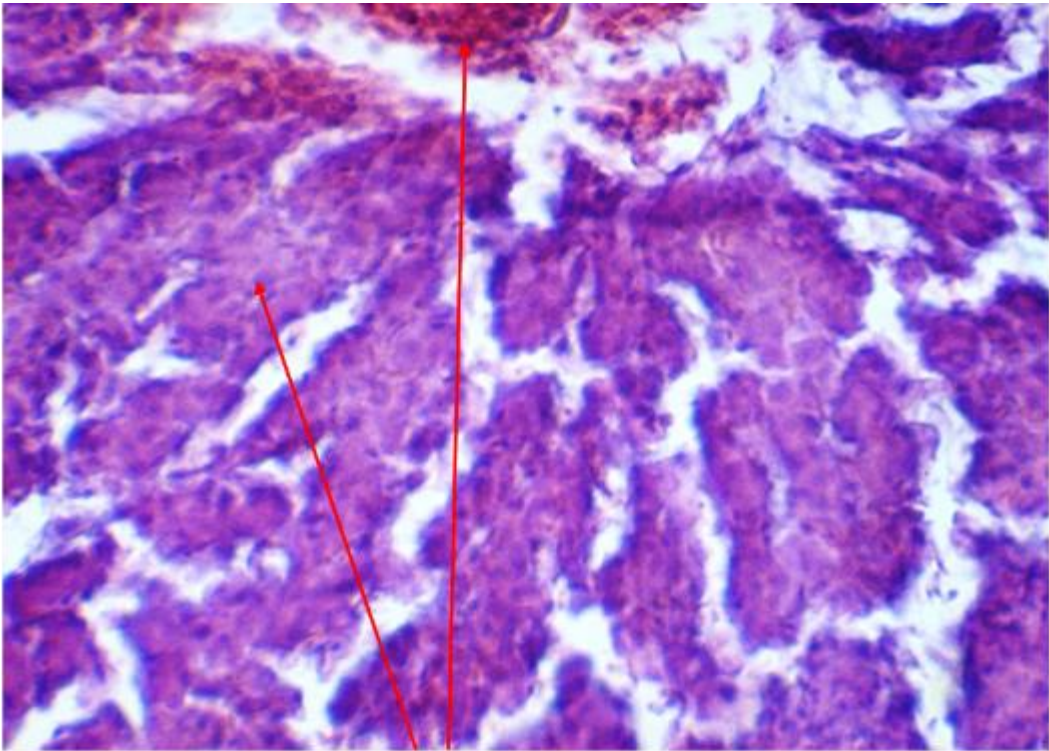


Рис. 18 - Печень цыплёнка из 2 опытной группы. Деталь к Рис. 17. ГЭ x 300

Изменения в печени цыплят второй опытной группы характеризуются наличием множества участков с несколько увеличенными в размерах гепатоцитами, имеющими более светлую окраску, непрозрачную цитоплазму, нечеткие границы клеток, так и их ядер. Необходимо отметить достаточно частое выявление участков с периваскулярной локализацией таких гепатоцитов (рисунок 15). Расположение клеток печени в таких участках характеризуется выраженной беспорядочностью (рисунки 16,17).

Различные структуры тканевых элементов печени неравномерно восприняли окраску гематоксилином и эозином, что позволяет говорить о нарушениях строения и связанных с ним функций органа на биохимическом уровне (рисунок 14). На этом фоне расположение гепатоцитов в участках, как прилегающих, так лежащих отдаленно от выше описанных измененных областей характеризуется заметной беспорядочностью (рисунок 16).

Кровеносные сосуды печени независимо от размеров в большинстве случаев запустевшие, либо содержат незначительное количество крови (рисунки 17,18).

Таким образом, изменения в печени цыплят из второй опытной группы, которым в течении 20 дней вводили препарат «Доксимаг-О 10%» в дозе 80 мг/кг по действующему веществу сопровождались запустевшими или слабо заполненными кровеносными сосудами, снижением сохранности балочной структуры и тинкториальных свойств ткани органа, зернистой дистрофией, местами переходящей в диффузный процесс.

У цыплят контрольной группы патологических изменений в печени не обнаружено.

### **3.3 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят**

Основной целью исследований являлась титрация дозы и изучение терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» производства ООО «НВЦ Агроветзащита» при лечении бронхопневмонии и гастроэнтеритов у поросят.

Для решения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить клинический статус поросят при бронхопневмониях и гастроэнтеритах у поросят.

2. Установить динамику общего клинического анализа крови и некоторые биохимические показатели у больных животных.

3. Определить влияние препарата «Доксициклин-комплекс» в сравнении с препаратом «Доксимаг - О 10%» на клинико-гематологические и биохимические показатели крови у поросят.

4. Установить возможность применения препарата «Доксициклин-комплекс» для лечения поросят, больных бронхопневмонией и гастроэнтеритом.

5. Изучить терапевтическую эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» в сравнении с препаратом «Доксимаг - О 10%» при бронхопневмонии и гастроэнтерите у молодняка свиней.

### **3.3.1 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят**

Опыт по титрации терапевтической дозы при лечении бронхопневмонии у поросят препаратом «Доксициклин - комплекс», содержащего доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, лактулозу 10 мг/мл. Проводили на базе ФГУП учхоза «Муммовское» в Саратовской области (Приложение 2). Объектами исследований являлись 20 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Дюрок», в возрасте 4 мес.) имеющих клинические признаки бронхопневмонии (кашель, тахипное, отдышка смешанного типа, истечения из носовых ходов, мелко- и средне пузырьчатые хрипы, жёсткое везикулярное дыхание). Средняя живая масса животных составляла 40 кг.

Содержание поросят. Поросят содержали в отдельном помещении в станках с решетчатым ограждением высотой 1 м и сплошным полом общей площадью 8 м<sup>2</sup> (2 м<sup>2</sup> на голову).

Общий фронт кормления составлял 2,0 м (50 см на голову).

Вода для поения соответствовала требованиям ГОСТ 2874.

Температура воздуха в помещении составляла 18°C-23°C.

Относительная влажность воздуха – 60-75%.

Норма искусственного освещения – не менее 50 лк.

Скорость движения воздуха – 0,7-1 м/сек.

До и во время проведения опыта поросят кормили полнорационным комбикормом СКК-52.

Диагностика заболевания осуществлялась комплексно: учитывали анамнестические, эпизоотологические и клинические данные, а так же

учитывались результаты гематологических исследований и бактериологического исследования смывов из носовых ходов на наличие патогенной микрофлоры дыхательных путей.

По результатам диагностики сформировали три опытных и одна контрольная группы по 5 голов.

Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин - комплекс» применяли согласно инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 7 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).

Препарат «Доксициклин - комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

Животным первой группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 200 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным второй группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 280 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2,8 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным третьей группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 400 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 4 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным четвертой группы (n=5) вводился препарат сравнения «Доксимаг - О 10%» из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 7 дней.

Таблица 25 - Схема титрации доз, кратности применения препаратов «Доксициклин - комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении бронхопневмонии у поросят

Группа животных	Препарат	Доза препарат	Кратность применени	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин - комплекс»	5 мг/кг (n = 5)	2 р/д	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического исследования смывов из носовых ходов
2 опытная	«Доксициклин - комплекс»	7 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
3 опытная	«Доксициклин - комплекс»	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
Контрольная	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	

В процессе работы у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса, при этом основное внимание обращали на состояние дыхательной системы. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. В начале и по окончании эксперимента из каждой группы брали пробы крови для исследований. Морфологический состав крови исследовали на гематологическом анализаторе NaemaScreenvet. Биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе BA-88A Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». При этом определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АСТ и АЛТ).

Для установления микробного состава дыхательных путей у подопытных поросят из носовых ходов и зева были взяты пробы для посева на питательные среды. Высев проводили по методу пластинчатого посева на чашки Петри с желточно-солевым агаром (ДСА) и агаром Эндо. После инкубирования посевов при 37°C в течение 2 суток из выросших бактериальных колоний выделяли чистую культуру. Для определения морфологических признаков выделенных бактерий проводили микроскопию бактериальных мазков с

окраской методами Грама и Бури, а также микроскопию живых бактерий для определения подвижности.

Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при 37°C на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом, а также на жидкой мясопептонной среде с использованием индикаторных бумажек на сероводород и реактива Эрлиха. Наличие каталазы у бактерий определяли с помощью перекиси водорода. Учёт проводили на вторые сутки культивирования.

Результаты исследований. В ходе проведения исследований до назначения терапевтических мероприятий у поросят отмечалось потеря аппетита, животные теряли вес, отмечался кашель, хрипы, при контакте с работниками проявляли беспокойство, отмечалось серозное истечение из носовых ходов. У животных наблюдалось напряженное дыхание, смешанная одышка, серозно-катаральное или катаральное истечение из носовых ходов, выделение во время кашля катарального экссудата. При аускультации в легких обнаруживали жесткое везикулярное дыхание, влажные мелкопузырчатые хрипы.

При проведении общего анализа крови у больных поросят наблюдалось снижение концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, гематокритной величины и достоверное увеличение лейкоцитов в основном за счет гранулоцитарных клеток, что указывает на прогрессирующую нормоцитарную анемию. Кроме того, лейкоцитоз является следствием воспалительного процесса в слизистой оболочке дыхательных путей и интоксикации организма продуктами метаболизма условно-патогенной флоры дыхательных путей.

Наряду с этим у поросят опытных групп отмечали изменения некоторых биохимических показателей крови. Так достоверно установлено повышение фермента аспаратаминотрансферазы, при нормальных значениях аланинаминотрансферазы. Данный факт указывает на развитие гипоксии организма животных, в том числе миокарда, что приводит к его ишемии и



как следствие нарушению порозности клеточных мембран. Наряду с этим отмечается нарушение белкового метаболизма, которое заключается в снижении концентрации сывороточного протеина. Также у поросят больных бронхопневмонией отмечается снижение энергетического метаболизма, о чем свидетельствуют низкие показатели глюкозы в сыворотке крови. Это может быть следствием повышенных затрат энергии на компенсацию патологических изменений в организме животных, в частности гипоксии.

В ходе проведения микробиологического исследования смыва из носовых ходов и зева поросят установлено. Что после инкубирования посевов при 37°C в течение 2 суток на чашках Петри с ЖСА из проб №1 и №2 наблюдался рост не патогенной кокковой микрофлоры (без зон лецитиназной активности) (рис.19, 20). На чашках со средой Эндо из проб №1 и №2 наблюдался рост двух типов колоний: А - крупные, тёмно - красные, в S-форме, с зонами покраснения среды вокруг колоний; Б – крупные, розовые, в S-форме, с зонами просветления среды вокруг колоний.

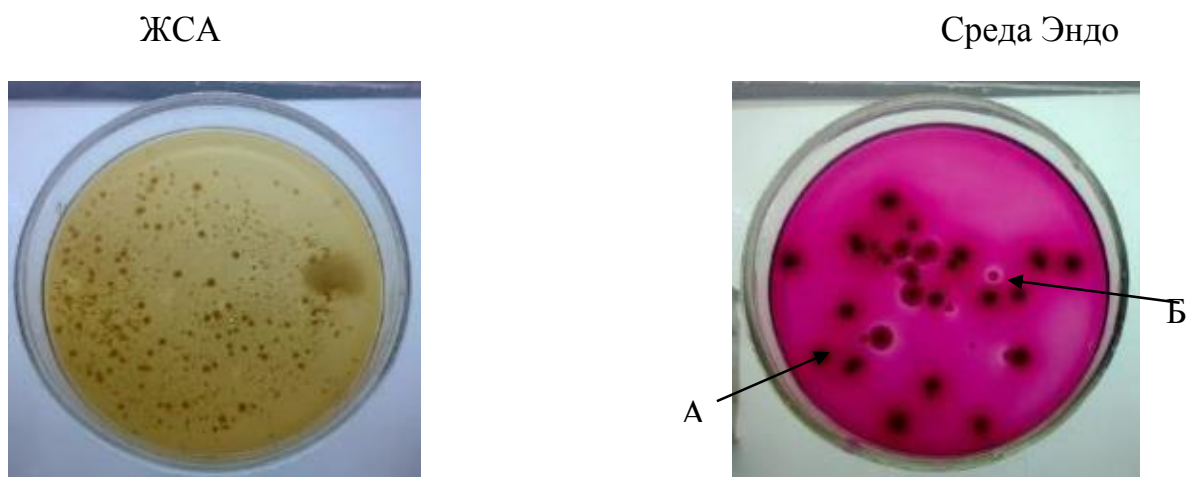


Рис. 19 - Рост микробных колоний - проба №1 (смывы из носовых ходов)

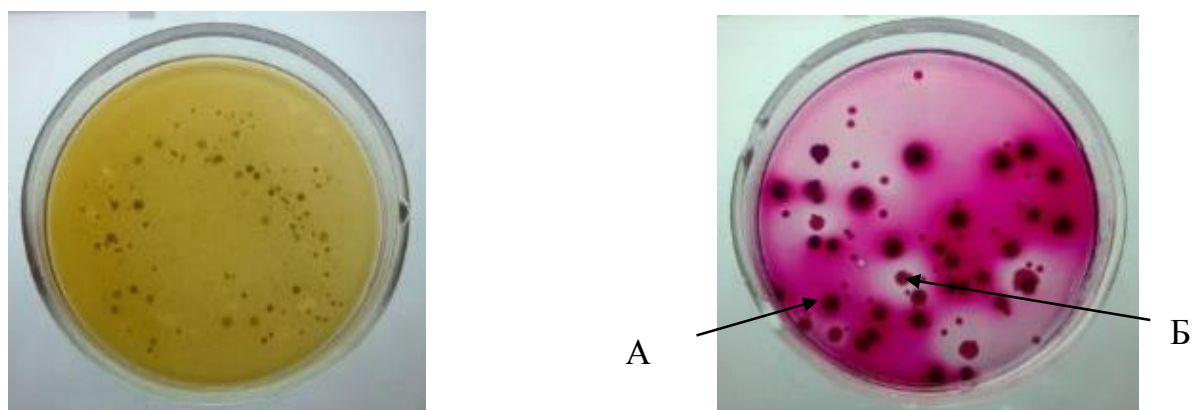


Рис. 20 - Рост микробных колоний - проба №2 (смывы из гортани)

Все типы колоний были отобраны на мясопептонный бульон (МПБ) при росте на котором в течение суток при 37°C давали средней интенсивности помутнение и среднего объёма пылевидный осадок, на третьи сутки культура Б образовывала в бульоне зелёный пигмент и тонкую плёнку.

При дальнейшем пересеве на мясопептонный агар (МПА) культура А образовывала среднего размера, непрозрачные, в S-форме, мягкой консистенции колонии, культура Б - среднего размера, полупрозрачные, в S-форме, вязкой консистенции колонии с зеленоватым оттенком.

Микроскопия живых бактерий и бактериальных мазков с окраской методами Грама и Бури позволила определить следующие морфологические признаки выделенных бактерий: культура А – одиночно расположенные, среднего размера, короткие, биполярно окрашенные, подвижные,

граммотрицательные палочки с капсулами; Б – расположенные в цепочках, среднего размера, подвижные, грамотрицательные палочки с капсулами.

Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при 37°C на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом. Учёт проводили на вторые сутки культивирования. Результаты отражены в таблице 26.

Таблица 26 - Определение биохимических свойств выделенных бактерий

Культура бактерий	Среды Гисса с сахарами				
	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Мальтоза	Маннит
А	+	+	+/-	+/-	+
Б	+	-	-	-	-
Положительный контроль E.coli	+	+	+	+/-	+
Отрицат. контроль	-	-	-	-	-

Сероводород бактерии не выделяли, микроорганизмы культуры А образовывали индол и каталазу. Культуры Б – индол не образовывали. По итогам проведённых исследований культуру А можно отнести к виду *Escherichia coli*, культуру Б - к роду *Pseudomonas aeruginosa*.

На последнем этапе исследования проводили определение чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков на чашках Петри с МПА. Результаты отражены в таблице 27.

Таблица 27 - Определение чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам

№	Антибиотик	Культуры бактерий			
		А		Б	
		диаметр зоны задержки роста, мм	степень чувствительности	диаметр зоны задержки роста, мм	степень чувствительности
1	Ампициллин	0	устойчив	0	устойчив
2	Эритромицин	14	устойчив	0	устойчив
3	Рифампицин	12	устойчив	0	устойчив
4	Цефазолин	22	4	0	устойчив
5	Цефатоксим	36	2	14	устойчив
6	Офлоксацин	40	1	22	2
7	Тетрациклин	10	устойчив	18	устойчив
8	Доксициклин	43	1	40	1
9	Стрептомицин	0	устойчив	14	устойчив
10	Азитромицин	0	устойчив	0	устойчив
11	Полимиксин	24	3	18	1

Таким образом, выделенные культуры проявляли, чувствительность к доксициклину и достаточно высокую поли устойчивость к другим антибактериальным препаратам. Исследования общего и биохимического анализа крови поросят до проведения терапевтических мероприятий представлены в таблицах 28,29.

Через 7 дней после начала эксперимента отмечается положительная динамика общего анализа крови всех групп подопытных поросят (таблица 30). Отмечается снижение лейкоцитов, повышение эритроцитов и гемоглобина и гематокритной величины до физиологических значений, что указывает на нормализацию гемопоэза в организме поросят.

Таблица 28 - Результаты биохимического исследования крови поросят до проведения терапевтических мероприятий

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Норма
АЛТ	Е/л	33±1,8	38±1,52	24±1,12	41±2,49	до 47
АСТ	Е/л	72±2,81	69±3,12	81±3,82	64±3,34	до 55
Глюкоза	ммоль/л	1,86±0,12	1,67±0,11	1,82±0,09	2,01±0,10	3,7-6,4
Щелочная фосфатаза	Е/л	68±4,8	86±4,2	48±1,9	86±3,1	до 176
Белок	г/л	56,9±1,6	58,3±1,6	54,8±2,12	57,8±1,9	60-83
Альбумин	г/л	18,6±0,9	19,1±1,3	19,8±1,1	19,7±1,3	22,6-40,4
Глобулин	г/л	38,3±1,5	39,21,3	35±1,8	38,1±2	39,5-60

Таблица 29 - Результаты общего анализа крови поросят до проведения терапевтических мероприятий

№ п/п	Показатели	Ед. изм.	Группа 1 (n=5)	Группа 2 (n=5)	Группа 3 (n=5)	Группа 4 (n=5)
1.	WBC	x10 <sup>9</sup> /L	28,2±2,86	34,40±2,77	37,20±1,81	29,70±1,91
2.	LYM	x10 <sup>9</sup> /L	6,1±1,16	14,10±1,86	7,50±1,43	11,80±1,71
3.	MID	x10 <sup>9</sup> /L	2,4±0,73	5,10±0,73	9,40±0,51	2,90±0,64
4.	GRA	x10 <sup>9</sup> /L	19,7±1,42	15,20±0,94	20,30±0,82	15,00±0,69
5.	LYM	%	18,8±5,81	43,70±3,22	15,00±1,91	42,20±6,13
6.	MID	%	9,5±7,19	16,40±3,06	27,70±1,78	10,80±1,15
7.	GRA	%	71,7±11,01	39,90±3,78	57,30±7,95	47,00±2,71
8.	RBC	x10 <sup>12</sup> /L	3,6±0,60	3,9±0,97	3,6±0,24	3,59±0,36
9.	HGB	g/L	67,0±4,16	79,0±2,17	76,0±1,98	71±3,46
10.	MCHC	g/L	312,0±11,26	326,0±10,45	326,0±8,46	323±15,86
11.	MCH	Pg	18,5±0,61	20,4±0,74	21,2±1,12	19,8±0,90
12.	MCV	Fl	59,3±1,66	62,6±1,25	65,1±3,91	61,1±3,07
13.	RDW-CV	%	17,0±0,72	17,1±0,71	18,3±0,56	18±1,01
14.	RDW-SD	Fl	49,8±2,45	52,9±2,26	58,9±4,58	54,5±5,16
15.	HCT	%	21,4±3,74	24,2±5,82	23,3±1,23	22±2,02
16.	PLT	x10 <sup>9</sup> /L	472,0±7,08	179,0±7,16	235,0±7,04	464±13,11
17.	MPV	Fl	8,2±1,00	8,5±0,38	8,0±0,44	8±0,54
18.	PDW	Fl	10,7±2,73	9,8±0,85	9,6±0,74	10,3±0,75
19.	PCT	%	0,4±0,08	0,2±0,07	0,2±0,15	0,369±0,11
20.	P-LCR	%	26,3±6,60	31,5±4,27	25,9±3,81	23,5±3,59

Наряду с этим отмечается положительная динамика и биохимического состава крови животных (таблица 31, рис. 21.). Наблюдается снижение аспаратаминотрансферазы, что указывает на стабилизацию клеточных мембран кардиомиоцитов. А также нормализуются белковый и углеводный обмена в организме животных, о чем свидетельствует положительная динамика общего белка и глюкозы в сыворотке крови поросят.

Таблица 31 - Результаты общего анализа крови поросят после проведения терапевтических мероприятий

№ п/п	Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
1.	WBC	х10 <sup>9</sup> /L	24,10±2,68	22,10±3,32	16,90±2,41	18,90±2,60
2.	LYM	х10 <sup>9</sup> /L	11,30±1,24	10,40±1,88	6,80±1,10	11,10±1,95
3.	MID	х10 <sup>9</sup> /L	2,60±0,75	2,20±1,08	2,10±1,03	2,00±0,35
4.	GRA	х10 <sup>9</sup> /L	10,20±1,39	9,50±1,17	8,00±1,96	5,80±1,36
5.	LYM	%	48,90±2,38	48,90±3,66	40,30±3,21	58,60±3,39
6.	MID	%	11,60±1,64	10,80±1,55	12,30±1,90	10,50±1,63
7.	GRA	%	39,50±1,91	40,30±3,24	47,40±2,71	30,90±1,46
8.	RBC	х10 <sup>12</sup> /L	6,38±0,61	7,27±0,86	7,16±0,42	7,07±0,57
9.	HGB	g/L	95,00±11,82	109,0±13,3	110,00±8,11	113,00±3,82
10.	MCHC	g/L	268,00±11,1	259,0±26,1	265,00±8,46	285,00±9,56
11.	MCH	Pg	14,90±0,83	15,00±2,36	15,40±0,83	16,00±0,88
12.	MCV	Fl	55,70±3,51	57,80±5,19	58,00±2,87	56,10±1,39
13.	RDW-CV	%	20,20±2,53	15,90±3,09	15,30±1,54	15,30±0,32
14.	RDW-SD	Fl	56,20±4,02	46,00±3,93	44,30±3,89	42,90±1,31
15.	HCT	%	35,50±2,24	42,00±2,58	41,50±3,42	39,70±2,46
16.	PLT	х10 <sup>9</sup> /L	464,00±29,2	428,0±12,1	335,00±13,1	180,00±5,42
17.	MPV	Fl	6,70±0,86	8,30±0,90	9,00±0,74	13,80±1,00
18.	PDW	Fl	8,20±1,05	10,60±1,36	12,60±1,63	18,90±2,44
19.	PCT	%	0,31±0,22	0,36±0,10	0,30±0,09	0,25±0,06
20.	P-LCR	%	6,30±9,42	29,40±11,5	35,10±8,51	37,40±12,66

В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг при лечении бронхопневмонии у поросят. У животных на 4 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния животных, повышение аппетита. На 6 день общие физиологические показатели

приближались до уровня нормы. Полное выздоровление наступало через  $7 \pm 0,2$  дней. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались. При бактериальных посевах из носовых ходов выявляли нормальную микрофлору.

Таблица 32 - Результаты биохимического исследования крови поросят после проведения терапевтических мероприятий

№ п/п	Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
1.	АЛТ	Е/л	35	40	38	34
2.	АСТ	Е/л	57	58	55	53
3.	Глюкоза	ммоль/л	3,6	3,5	3,8	4,1
4.	Щелочная фосфатаза	Е/л	78	84	56	63
5.	Белок	г/л	$59 \pm 1,8$	$62 \pm 2,1$	$60 \pm 1,6$	$67 \pm 1,4$
6.	Альбумин	г/л	$23 \pm 0,8$	$24 \pm 1,1$	$22 \pm 1,5$	$24 \pm 1,3$
7.	Глобулин	г/л	$36 \pm 1,2$	$38 \pm 1,7$	$38 \pm 1,4$	$43 \pm 2,1$

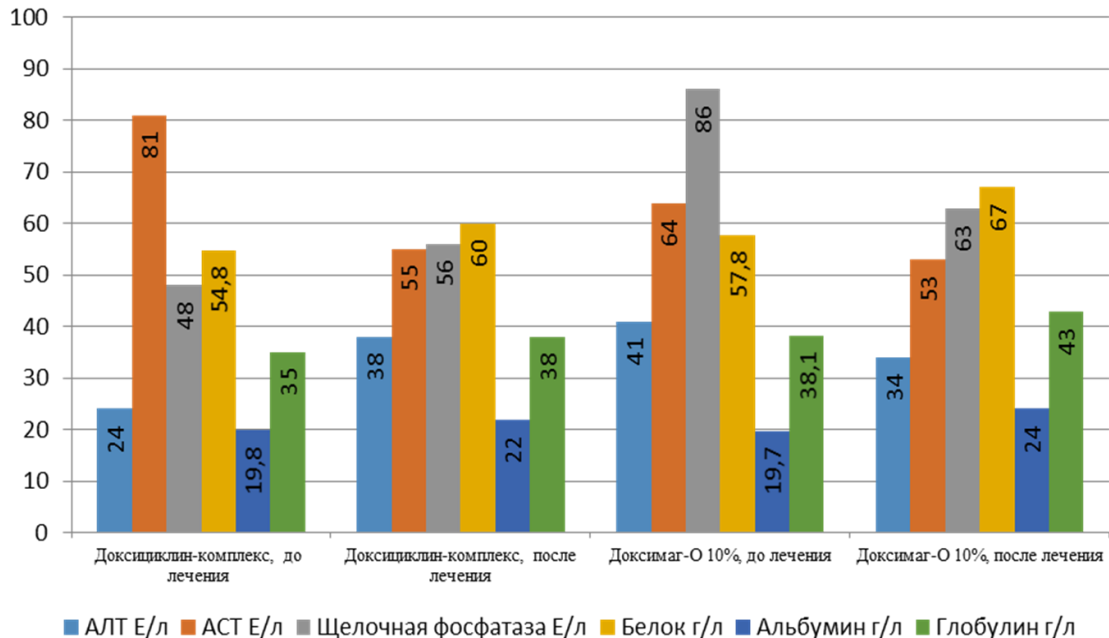


Рис. 21 - Динамика биохимических показателей крови поросят 3 опытной группы («Доксициклин - комплекс» 10 мг/кг) и контрольной группы («Доксимаг - О 10%» 10 мг/кг) при лечении бронхопневмонии

Столь быструю ликвидацию клинических симптомов при лечении поросят с использованием препарата «Доксициклин - комплекс» можно

объяснить его двойным действием. Наряду с подавлением размножения условно-патогенной микрофлоры дыхательных путей, благодаря доксициклину, применение препарата оказывало стабилизирующее влияние на альвеолярные клетки в процессе дыхания и понижало поверхностное натяжение в альвеоле, предупреждая её «спадение» благодаря входящему в состав препарата бромгексину. У животных 1, 2 опытных и контрольной группы, выздоровление наступало на  $9 \pm 1$ ;  $8,23 \pm 0,02$  и  $8,24 \pm 0,02$  день соответственно.

Данные клинических и гематологических исследований свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии поросят в суточной дозе 10 мг/кг.

Результаты изучения терапевтической эффективности препаратов изложены в данных таблицы 33.

Таблица 33 - Терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» и препарата сравнения «Доксимаг - О 10%» при лечении бронхопневмонии у поросят

Группа животных	Препарат	Дозировка, кратность применения	Терапевтический эффект		Сроки выздоровления сутки
			n	%	
1 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг 2 р/д	3	60,0	$9 \pm 0,03$
2 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг 2 р/д	4	80,0	$8,23 \pm 0,02$
3 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг 2 р/д	5	100,0	$7,41 \pm 0,03$
Контрольная	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг 2 р/д	4	80,0	$8,24 \pm 0,02$

Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят в суточной дозе 10 мг/кг. На основании



полученных данных рекомендовано применение препарата «Доксициклин-комплекс» в свиноводстве для бронхопневмонии у поросят.

### **3.3.2 Титрация доз и терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтеритов у поросят**

Основной целью исследований являлось: титрация доз и изучение терапевтической эффективности препарата «Доксициклин - комплекс» производства ООО «НВЦ Агроветзащита» при лечении гастроэнтеритов у поросят (Приложение 1).

Для решения намеченной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить клинический статус поросят при гастроэнтерите.
2. Установить данные общего клинического анализа крови и некоторые биохимические показатели у больных животных.
3. Определить влияние препарата «Доксициклин - комплекс» в сравнении с препаратом «Доксимаг - О 10%» на клинико-гематологические и биохимические показатели крови у поросят.
4. Установить возможность применения препарата «Доксициклин - комплекс» для лечения поросят, больных гастроэнтеритом.
5. Изучить терапевтическую эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» в сравнении с препаратом «Доксимаг-О 10%» при гастроэнтерите поросят.

Опыт по титрации терапевтической дозы препарата «Доксициклин-комплекс» содержащего доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, лактулозу - 10 мг/мл. проводили на базе ФГУП учхоз «Муммовское» Саратовской области. Объектами исследований являлись 40 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Крупная белая», в возрасте 3 мес.), спонтанно заболевшие гастроэнтеритом. Средняя живая масса животных составляла 30 кг.

Диагноз на данное заболевание ставили комплексно: учитывали анамнестические, эпизоотологические и клинические данные, а так же результаты бактериологического лабораторного исследования смывов из прямой кишки на вирулентные штаммы энтеробактерий.

По результатам диагностики сформировали три опытных и одну контрольную группы по 10 голов в каждой.

Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин - комплекс» применяли согласно инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 5 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).

Препарат «Доксициклин - комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

Животным первой группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 150 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 1,5 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным второй группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 210 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 2,1 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным третьей группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 300 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 3 мл препарата «Доксициклин - комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.

Животным четвертой группы (n=10) вводился препарат сравнения Доксимаг - О 10% из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 5 дней.

В процессе работы у всех животных ежедневно проводили определение клинического статуса, при этом основное внимание обращали на состояние пищеварительной системы. О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей. В начале и по окончании эксперимента из каждой группы брали пробы крови для исследований. Морфологический состав крови исследовали на гематологическом анализаторе НаemaScreenvet. Биохимические показатели сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе ВА-88А Mindray, при помощи наборов реагентов ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». При этом определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, щелочной фосфатазы, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АСТ и АЛТ).

Для установления микробного состава кишечника у подопытных поросят из анального отверстия были взяты пробы для посева на питательную среду. Высев проводили по методу пластинчатого посева на чашки Петри с агаром Эндо. После инкубирования посевов при температуре 37°C в течение 2 суток из выросших бактериальных колоний выделяли чистую культуру. Для определения морфологических признаков выделенных бактерий проводили микроскопию бактериальных мазков с окраской методами Грама и Бури, а также микроскопию живых бактерий для определения подвижности. Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при температуре 37°C на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом, а также на жидкой мясопептонной среде с использованием индикаторных бумажек на сероводород и реактива Эрлиха. Наличие каталазы у бактерий определяли с помощью перекиси водорода. Учёт проводили на вторые сутки культивирования.

Таблица 34 - Схема титрации доз и кратности применения препаратов «Доксициклин - комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении гастроэнтеритов у поросят

Группа животных	Препарат	Доза препарата	Кратность применения	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического исследования смывов из прямой кишки.
2 опытная	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
3 опытная	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
Контроль	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	

Тестирование на энтеропатогенность проводили при помощи набора агглютинирующей «О»-коллы сыворотки включающей моновалентные сыворотки ФГУП «Армавирская биофабрика»

Результаты исследований. В ходе проведения исследований до назначения терапевтических мероприятий у поросят отмечалось общее угнетение, диарея, кал приобретал светло-коричневую окраску, мышечная слабость, иногда судороги, анорексия, в некоторых случаях акроцианоз, у большинства животных наблюдались признаки обезвоживания организма. Больные животные отставали в росте и развитии от здоровых поросят данного возраста. При проведении общего анализа крови у больных поросят наблюдалось повышение концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, гематокритной величины и лейкоцитов, что указывает на сгущение крови вследствие развития диарейного синдрома. Кроме того, лейкоцитоз является следствием воспалительного процесса в желудочно-кишечном тракте и интоксикации организма продуктами метаболизма условно-патогенной флоры кишечника.

Наряду с этим у поросят опытных групп отмечали изменения некоторых биохимических показателей крови. Так достоверно установлено повышение индикаторных ферментов печений (АЛТ и АСТ). Причем аланинаминотрансфераза повышалась в большей степени в отличие от аспаратаминотрансферазы, что указывает на развитие цитолитических процессов в печени вследствие воздействия токсинов проникающих из кишечника в кровеносное русло. Кроме того о степени повреждении кишечной стенки можно судить по активности щелочной фосфатазы, которая в данном случае также достоверно возрастает. О нарушении перевариваемости и всасываемости питательных веществ корма у поросят опытных групп свидетельствует снижение сывороточных белков корма в основном за счет альбуминовых фракций. Это может быть следствием нарушения как недостатком поступления пластического материала из желудочно-кишечного тракта, так и следствием нарушения альбумин синтезирующей функции печени. Также у поросят больных гастроэнтеритом отмечается снижение энергетического метаболизма, о чем свидетельствуют низкие показатели глюкозы в сыворотке крови. Это может быть следствием повышенных затрат энергии на компенсацию патологических изменений в организме животных.

В ходе проведения микробиологического исследования смыва из анального отверстия поросят установлено. Что после инкубирования посевов при 37°C в течение 2 суток на чашках Петри с питательными средами обнаружен рост чистой культуры микроорганизмов (рисунок21).



Рис. 22 - Рост микробных колоний из пробы смыва из прямой кишки  
(Среда Эндо)

На чашках со средой Эндо из проб наблюдался рост крупных, тёмно-красных, в S-форме моноколоний, с зонами покраснения среды вокруг них.; Данные колонии были отобраны на мясопептонный бульон (МПБ) при росте на котором в течение суток при 37°C давали средней интенсивности помутнение и среднего объёма пылевидный осадок.

При дальнейшем пересеве на мясопептонный агар (МПА) культура образовывала среднего размера, непрозрачные, в S-форме, мягкой консистенции колонии.

Микроскопия живых бактерий, а также бактериальных мазков с окраской методами Грама и Бури позволила определить следующие морфологические признаки выделенных бактерий: палочки одиночно расположенные, среднего размера, короткие, биполярно окрашенные, подвижные, грамотрицательные с капсулами.

Определение биохимических свойств, выделенных бактерий проведено при 37°C на полужидких средах Гисса с сахарами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом. Учёт проводил на вторые сутки культивирования. Результаты отражены в таблице 35.

Таблица 35- Определение биохимических свойств выделенных бактерий

Культура бактерий	Среды Гисса с сахарами				
	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Мальтоза	Маннит
Опыт	+	+	+/-	+/-	+
Положительный контроль E.coli	+	+	+	+/-	+
Отрицат. контроль	-	-	-	-	-

Сероводород бактерии не выделяли, индол и каталазу – образовывали. При постановке реакции агглютинации с видоспецифической сывороткой было определено, что *Escherichia coli* относится к серогруппе O-8 которая относится к энтеропатогенной группе кишечной палочки, вызывающей патологический процесс при ослаблении защитных сил организма. По итогам проведённых исследований выделенную культуру можно отнести к виду *Escherichia coli*.

На последнем этапе исследования проводили определение чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков на чашках Петри с МПА. Результаты отражены в таблице 36.

Таблица 36 - Определение чувствительности выделенных бактерий к антибиотикам

№	Антибиотик	Культуры бактерий, выделенная из прямой кишки поросят	
		Диаметр зоны задержки роста, мм	Степень чувствительности
1	Ампициллин	0	устойчив
2	Эритромицин	14	устойчив
3	Рифампицин	12	устойчив
4	Цефазолин	22	4
5	Цефатоксим	36	2
6	Офлоксацин	40	1

Продолжение таблицы 36			
7	Тетрациклин	10	устойчив
8	Доксициклин	43	1
9	Стрептомицин	0	устойчив
10	Азитромицин	0	устойчив
11	Полимиксин	24	3

Таким образом, выделенная культура проявляла чувствительность к доксициклину и достаточно высокую поли устойчивую к другим антибактериальным препаратам. Исследования общего и биохимического анализа крови пороят до проведения терапевтических мероприятий представлены в таблицах 37, 38.

Таблица 37- Результаты общего анализа крови пороят до проведения терапевтических мероприятий

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
WBC	x10 <sup>9</sup> /L	34,9±3,32	29,1±2,09	30,2±2,86	29,4±2,77
LYM	x10 <sup>9</sup> /L	19,1±1,88	12,6±0,85	12,1±3,16	17,9±1,86
MID	x10 <sup>9</sup> /L	9,4±1,08	2,9±0,64	8,1±0,73	7,5±0,73
GRA	x10 <sup>9</sup> /L	6,4±4,17	13,6±1,30	10±1,42	4±0,94
LYM	%	57,6±9,66	45,8±1,25	42,4±25,81	63,2±11,22
MID	%	29,3±2,55	11,1±0,49	28,8±7,19	27,4±3,06
GRA	%	13,1±9,24	43,1±3,76	28,8±11,01	9,4±10,78
RBC	x10 <sup>12</sup> /L	14,6±0,86	12,43±0,01	10,19±0,60	10,66±0,97
HGB	g/L	214±3,33	192±3,54	157±14,16	155,60±20,17
MCHC	g/L	261±26,46	270±2,83	270±11,26	262,20±10,45
MCH	Pg	14,7±2,36	15,4±0,49	15,4±0,61	14,44±0,74
MCV	Fl	56,1±1,19	57,2±1,20	57,1±1,66	55,06±1,25
RDW-CV	%	16,6±3,09	17,2±1,48	15,5±0,72	16,02±0,71
RDW-SD	Fl	46,5±3,93	49,2±2,90	44,2±2,45	44,16±2,26
HCT	%	81,9±1,58	71,1±1,22	58,1±3,74	59,08±5,82
PLT	x10 <sup>9</sup> /L	681±129,15	312±12,03	132±74,08	261,40±79,16
MPV	Fl	7±0,90	7,8±0,07	7±1,00	7,44±0,38



Продолжение таблицы 37					
PDW	Fl	11,1±1,36	10±0,14	8±2,73	8,70±0,85
PCT	%	0,545±0,10	0,242±0,04	0,092±0,08	0,20±0,07
P-LCR	%	17±11,52	21,2±0,21	7,9±6,60	15,90±4,27

Таблица 38 - Результаты биохимического исследования крови поросят до проведения терапевтических мероприятий

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
АЛТ	Е/л	73±3,8	81±6,52	94±5,60	83±3,79
АСТ	Е/л	66±6,4	71±6,29	79±1,50	67±5,13
Амилаза	Е/л	68±3,02	57±2,13	50±4,04	67±3,24
Глюкоза	ммоль/л	2,69±0,04	1,99±0,73	1,54±0,52	2,56±0,08
Креатинин	ммоль/л	171,8±6,0	159±12,65	152,4±11,53	97,1±10,58
Мочевина	ммоль/л	4,5±0,5	5,3±0,53	4,6±0,03	3,7±0,52
Щелочная фосфатаза	Е/л	236±10,1	304±12,08	248±11,68	286±10,06
Белок	г/л	53,2±1,2	54,1±2,80	51,7±2,82	53,0±2,20
Альбумин	г/л	16,1±1,9	16,8±1,52	15,6±1,06	16,2±1,31
Глобулин	г/л	37,1±1,6	37,3±1,31	36,1±1,90	36,8±1,48

В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг при лечении гастроэнтерита свиней. У животных на 2 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния, прекращение диареи, повышение аппетита. На 3 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Полное выздоровление наступало через  $4 \pm 0,2$  дня. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались. При бактериальных посевах отмечалось выявление нормальной микрофлоры. Токсигенные штаммы кишечной палочки отсутствовали.

Достаточно быстрое восстановление кишечного пищеварения можно объяснить содержанием в препарате «Доксициклин - комплекс» в качестве активно действующего вещества – лактулозу. Известно, что, лактулоза,

захватывается и метаболизируется бактериями толстой кишки, способными усваивать лактулозу. При этом продукты бактериального метаболизма лактулозы сдвигают рН среды в толстой кишке в кислую сторону, угнетая тем самым рост и размножение патогенных микроорганизмов и создавая более благоприятную среду для размножения «полезных» сапрофитных бактерий в толстой кишке. В данном случае лактулоза создает препятствие бурному размножению *E. Coli*, тем самым снижая образование токсичных продуктов метаболизма. А закисление среды толстого отдела кишечника при бактериальном метаболизме лактулозы, также угнетает процессы гниения в толстой кишке, сдвигает баланс гниения и брожения в сторону преобладания бродильных процессов и снижает образование токсичных продуктов гниения белков, в частности, аммиака.

У животных первой и второй опытной и контрольной групп, выздоровление наступало на  $7 \pm 0,03$ ;  $5,23 \pm 0,02$  и  $5,24 \pm 0,02$  день соответственно.

Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтерита поросят в суточной дозе 10 мг/кг.

Вместе с этим через 7 дней после начала эксперимента отмечается положительная динамика общего анализа крови всех групп подопытных поросят (таблица 40). Отмечается снижение лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина и гематокритной величины до физиологических значений, что указывает на регидратацию организма подопытных поросят.

Наряду с этим отмечается положительная динамика и биохимического состава крови животных (таблица 41). Наблюдается снижение индикаторных ферментов печени, что указывает на стабилизацию клеточных мембран гепатоцитов. Динамика снижения щелочной фосфатазы в сторону физиологических значений указывает на регенерацию эпителия кишечной стенки и как следствие восстановление кишечного пищеварения. Данный факт подтверждается повышением сывороточных белков в организме

поросят. Результаты изучения терапевтической эффективности препаратов изложены в данных таблицы 39.

Таблица 39 - Терапевтическая эффективность применения препаратов «Доксициклин-комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении гастроэнтерита у поросят

Группа животных	Препарат	Дозировка, кратность применения	Терапевтический эффект		Сроки выздоровления (сутки)
			n	%	
1 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг 2 р/д	8	80,0	7 ±0,03
2 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг 2 р/д	9	90,0	5,23±0,02
3 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг 2 р/д	10	100,0	4,41±0,03
Контроль (n = 10)	«Доксимаг - О 10%»	10 мг/кг 2 р/д	9	90,0	5,24±0,02

Таблица 40 -Результаты общего анализа крови поросят после проведения терапевтических мероприятий

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
WBC	x10 <sup>9</sup> /L	25,65±6,32	22,01±3,41	17,54±4,68	18,03±4,59
LYM	x10 <sup>9</sup> /L	13,89±2,88	11,87±2,10	11,18±3,24	8,00±1,71
MID	x10 <sup>9</sup> /L	2,90±1,08	3,19±1,03	2,24±0,75	3,60±1,12
GRA	x10 <sup>9</sup> /L	8,86±4,17	6,95±1,96	4,12±1,39	6,43±2,17
LYM	%	57,32±9,66	55,65±8,21	64,03±5,38	45,20±2,15
MID	%	12,12±2,55	15,15±2,90	13,13±3,64	20,05±3,84
GRA	%	30,56±9,24	29,20±6,71	22,84±4,91	34,75±5,79
RBC	x10 <sup>12</sup> /L	5,62±0,74	6,58±0,57	7,29±3,01	7,07±7,07
HGB	g/L	99,50±8,19	104,17±3,82	109,00±36,82	101,60±101,6
MCHC	g/L	304,75±26,00	286,33±9,56	271,20±5,50	260,00±260,0
MCH	Pg	17,78±1,16	15,90±0,88	15,22±1,08	14,38±14,38
MCV	fl	58,53±1,42	55,53±1,39	56,08±3,87	55,32±55,32
RDW-CV	%	15,38±0,26	16,22±0,32	16,32±1,50	16,72±16,72
RDW-SD	fl	45,03±0,60	45,00±1,31	45,74±4,09	46,24±46,24
HCT	%	32,93±4,85	36,45±2,46	40,40±14,43	39,08±39,08
PLT	x10 <sup>9</sup> /L	281,75±231,7	294,50±50,42	435,20±183,8	277,00±277,0
MPV	fl	7,20±0,98	7,63±1,00	9,26±3,18	7,76±7,76
PDW	fl	7,23±0,45	10,57±2,44	12,00±3,57	10,02±10,02
PCT	%	0,21±0,17	0,23±0,06	0,45±0,37	0,23±0,23
P-LCR	%	16,73±9,38	20,47±12,66	33,78±22,65	22,76±22,76

Таблица 41 - Результаты биохимического исследования крови поросят после проведения терапевтических мероприятий

Показатели	Ед. изм.	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
АЛТ	Е/л	63±6,7	57±5,69	49±1,64	51±3,27
АСТ	Е/л	48±2,6	46±1,29	52±1,55	48±1,50
Амилаза	Е/л	76±1,05	36±1,12	45±1,07	64±2,03
Глюкоза	ммоль/л	3,84±0,8	4,64±0,73	3,92±0,43	3,67±1,04
Креатинин	ммоль/л	96±5,1	130±12,65	94±4,73	77±4,36
Мочевина	ммоль/л	5,3±0,9	4,06±0,29	3,8±1,37	4,7±0,09
Щелочная фосфатаза	Е/л	175±5,1	182±4,53	165±5,13	170,7±2,31
Белок	г/л	62,5±2,1	60,7±2,28	67,8±3,02	65,4±2,18
Альбумин	г/л	25,4±1,1	25,7±2,80	26,4±1,37	23,9±1,52
Глобулин	г/л	37,1±2,0	35±1,52	41,4±1,06	41,5±1,83

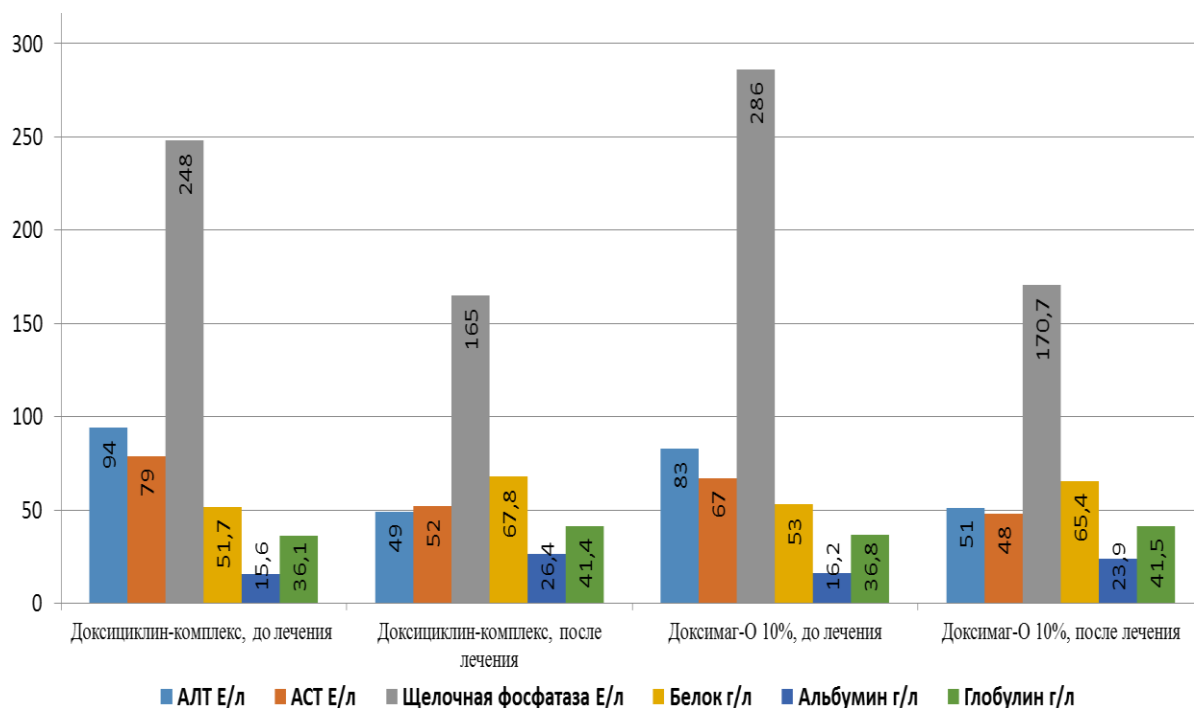


Рис. 23 Динамика биохимических показателей крови поросят 3 опытной группы («Доксициклин - комплекс» 10 мг/кг) и контрольной группы («Доксимаг - О 10%» 10 мг/кг) при лечении гастроэнтерита

Данные исследований приведенные свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтерита поросят в суточной дозе 10 мг/кг. На основании

полученных результатов рекомендовано применение препарата «Доксициклин - комплекс» в свиноводстве для лечения гастроэнтерита у поросят.

### **3.4 Экономическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» в свиноводстве при лечении бронхопневмонии и гастроэнтерита у поросят**

Экономическая эффективность применения препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят в дозировке 10 мг/кг 2 р/д в сравнении с препаратом «Доксимаг - О 10%» составила 5,1 руб. на 1 руб. затрат. Экономическая эффективность применения препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении гастроэнтерита поросят в дозировке 10 мг/кг 2 р/д по сравнению с препаратом «Доксимаг - О 10%» составила 3,2 руб. на 1 руб. затрат.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препарат «Доксициклин - комплекс», содержащий в своем составе доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, а в качестве вспомогательных веществ: лактулозу – 100 мг/мл и солюфор – до 1 мл, представляет собой более новый и безопасный препарат, который относится к 3 классу опасности - малотоксичные препараты, не обладает аллергизирующим и местно раздражающим действием. После перорального введения, доксициклин хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте поросят, достигая максимальных концентраций (1,8 – 2 мкг/мл) в крови через 0,5-2 часа и сохраняется в крови, в терапевтических концентрациях до 20-24 часов.

2. Высокую антибактериальную активность препарат «Доксициклин-комплекс» проявил к культурам *Bacillus pseudoanthracis*, *Klebsiella pneumoniae*. Среднюю антибактериальную активность - к культурам *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli.*, *Staphylococcus aureus*.

3. Пероральное введение препарата «Доксициклин - комплекс» птице в дозировке 8 мг/кг в течение 20 дней не вызывает выраженных изменений гематологических и биохимических показателей. Патоморфологические изменения в печени характеризуются умеренно выраженной гиперемией кровеносных сосудов, незначительным нарушением балочной структуры ткани, сохранением тинкториальных свойств и наличием очагов зернистой дистрофии.

4. Препарат «Доксициклин - комплекс» показал наибольшую терапевтическую эффективность при лечении бронхопневмоний и гастроэнтеритов у поросят по сравнению с препаратом сравнения «Доксимаг - О 10%», поскольку обладает комплексным действием, обусловленным входящими в его состав бромгексином и лактулозой.

5. Применение препарата «Доксициклин - комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг в течение 7 дней показало 100% эффективность при лечении бронхопневмонии у поросят: у животных на 4 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния животных, повышение аппетита. На

6 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы, выздоровление наступало через  $7 \pm 0,2$  дней. При этом наблюдалась нормализация гематологических и биохимических показателей крови, в частности снижение количества лейкоцитов с  $37,20 \pm 1,81$  до  $16,90 \pm 2,41 \times 10^9/L$ , показателей АЛТ с  $81 \pm 4,60$  до  $55 \pm 1,74$  Е/л, повышение количества эритроцитов с  $3,6 \pm 0,24$  до  $7,16 \pm 0,42 \times 10^9/L$ , гемоглобина с  $76,0 \pm 1,98$  до  $110,00 \pm 8,11$  г/л, гематокритной величины с  $23,3 \pm 1,23$  до  $41,50 \pm 3,42\%$ .

6. Применение препарата «Доксициклин - комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг в течение 5 дней показало 100% эффективность при лечении гастроэнтерита у поросят: у животных на 2 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния, прекращение диареи, повышение аппетита. На 3 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Выздоровление наступало через  $4 \pm 0,2$  дня, при этом наблюдалась нормализация биохимических и гематологических показателей крови, в частности снижение показателей АЛТ с  $94 \pm 5,60$  до  $49 \pm 1,64$  Е/л, АСТ с  $79 \pm 1,50$  до  $52 \pm 1,55$  Е/л, щелочной фосфатазы с  $248 \pm 11,68$  до  $165 \pm 5,13$  Е/л, количества лейкоцитов с  $30,2 \pm 2,86$  до  $17,54 \pm 4,68 \times 10^9/L$ , увеличение альбумина с  $15,6 \pm 1,06$  до  $26,4 \pm 1,37$  г/л.

7. Экономическая эффективность применения препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении бронхопневмонии у поросят в дозировке 10 мг/кг 2 р/д в сравнении с препаратом «Доксимаг - О 10%» составила 5,1 руб. на 1 руб. затрат. Экономическая эффективность применения препарата «Доксициклин - комплекс» при лечении гастроэнтерита поросят в дозировке 10 мг/кг 2 р/д по сравнению с препаратом «Доксимаг - О 10%» составила 3,2 руб. на 1 руб. затрат.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения бронхопневмонии у поросят рекомендовано применение препарата «Доксициклин - комплекс» перорально с питьевой водой, индивидуальным или групповым методом в суточной дозе 10 мг/кг, разделённой на 2 приёма с интервалом 12 часов, в течение 7 дней.

2. Для лечения гастроэнтерита у поросят рекомендовано применение препарата «Доксициклин - комплекс» перорально с питьевой водой, индивидуальным или групповым методом в суточной дозе 10 мг/кг, разделённой на 2 приёма с интервалом 12 часов, в течение 4 дней.

3. Научные положения и практические рекомендации, вытекающие из материалов диссертационной работы, использовать в учебном процессе по дисциплинам: внутренние незаразные болезни, фармакология, клиническая диагностика.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альберт А. Избирательная токсичность. - М.: Медицина, 1989. Т. 2. 400 с.
2. Антибиотики в амбулаторной практике: некоторые проблемы // Клиническая фармакология и терапия. – 2000.– т. 9, № 2.– стр. 3 – 6.
3. Антибиотики в амбулаторной практике: некоторые проблемы//Клиническая фармакология и терапия. – 2000.– т. 9, № 2.– стр. 3 – 6.
4. Антибиотики и их продуценты: Сб. ст. М., 1975.
5. Антибиотики-полипептиды (структура, функция, биосинтез) / Под ред. Н.С. Егорова. М., 1987.
6. Баранова И. П., Егоров Н.С, Стоянова Л.Г. Низин, условия образования и получения препарата: Обзор // Антибиотики и химиотерапия. 1997. Т. 42, № 3. С. 37-46.
7. Беленький М.А. Эксперименты количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1983, 71с.
8. Белоусов Ю. Б., Моисеев В. С., Лепахин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия.– М.: «Универсум».– 1993.
9. Беро Р., Кастилио Ж. Д., Генеольт Л. Проблема антибиотикорезистентности //«Ветеринар» – № 2.– С. 28 – 34.
10. Бессарабов Б.Ф., Мельникова И.И., Сушкова Н.К // Болезни птиц. 2009 г. 2-е изд. 448 с.
11. Биохимическая оценка эффективности липосомальных форм фенотерола при бронхопневмонии у крыс / А.Г. Корякова, Н.В. Кулакова, С.С. Кобелев [и др.] // Хим.-Фарм. Журн. 2000. Т. 34. С. 3-5.
12. Гейл И. Ф. и др. Молекулярные основы действия антибиотиков / Хим.-Фарм. Журн. 2002. Т. 38. С. 3-7.
13. ГОСТ 12.1.007-76. «ССБТ Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности», М.,1976..

14. Данилевская Н. В. Пименов Н. В. Проблема антибиотикорезистентности на примере лечения сальмонеллеза у домашних голубей // «Российский ветеринарный журнал». – 2005. – № 4. – С. 21 – 25.
15. Данилевская Н. В. Пименов Н. В. Проблема антибиотикорезистентности // «Российский ветеринарный журнал». – 2006. – № 2. – С. 21 – 25.
16. Егоров Н.С, Баранова И.П. Бактериоцины. Образование, свойства, применение: Обзор // Антибиотики и химиотерапия. 1999. Т. 44, № 1. С. 33-40.
17. Енгашев С.В., Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин - комплекс» при болезнях органов пищеварения у молодняка свиней // Ветеринарная патология. 2013. № 4 (46). С. 24-31.
18. Инфекционные болезни в XXI веке: некоторые проблемы // Клиническая фармакология и терапия. – 2001, № 10. – С. 4 – 10.
19. Инфекционные болезни в XXI веке: некоторые проблемы//. Клиническая фармакология и терапия. – 2001, № 11. – С. 10 – 22.
20. Каган Ю.С.// Профилактическая токсикология. Т.2, часть 1, М.,1984, 219с.
21. Катцунг Б.Г. Базисная и клиническая фармакология. - М., -СПб.: Бином-Невский Диалект, 1998. Т. 1. 611 с.
22. Климов В.В., Кологривова Е.Н., Черевенко Н.А. и др. Иммунная система и основные формы иммунопатологии, - Ростов-на-Дону; Феникс, 2006. 224 с.
23. Краснопольский Ю.М., Гольбец И.И., Сенников Г.А. Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизмов их действия // Хим.-Фарм. Журн. 1981. № 7. С. 13-23.
24. Кузнецов А.Ф., Свины: Содержание, кормление и болезни. Изд 1-е 2007., 544с.
25. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Изд. 4-е, перераб. и доп. - М., «Медицина», 1978. 394 с.
26. Лефковитс И.С., Пернис Б.А. Методы исследований в иммунологии. - М.: «Мир». 1981. 486 с.

27. Лимаренко А.А., Дубров И.С., Туймасуков А.А., Забашта С.Н., Болезни сельскохозяйственных птиц. Справочник. 2004, 448с.
28. Лимаренко А.А., Болотский И.А., Баранников А.И. Болезни свиней 2008 640с
29. Липосомальная форма диамидина: снижение токсичности / Б.А. Тимофеева, И.М. Болотин, Л.П. Степанова [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. 1991. Т. 36. С.34-36.
30. Липосомы и другие наночастицы как средства доставки лекарственных веществ / А.П. Каплун, Ле Банг Шон, Ю.М. Краснопольский [и др.] // Вопросы медицинской химии. 1999. № 1. С. 1-11.
31. Ломакин. М.С Иммунобиологический надзор / МЛ. Ломакин. - М.: Медицина, 1990. 256 с.
32. Лопатин П.В., Сафонов В.П., Литвинова Т.П. Использование неводных растворителей для приготовления инъекционных растворов // Хим.-Фарм. Журн. 1972. № 11. С. 36-47.
33. Лоуренс Д.Р., Беннетт П.Н. Клиническая фармакология. - М.: Медицина, 1993. Т. 1. 638 с.
34. Лоуренс Д.Р., Беннетт П.Н., Браун М.Дж. Клиническая фармакология. - М.: Медицина, 2002. 680 с.
35. Машковский М. Д. Лекарственные средства.– 15-е изд., перераб., испр. и доп.-М.: ООО «Новая волна», 2005, 1200 с.
36. Машковский М. Д. Лекарственные средства.– 15-е изд., перераб., испр. и доп.-М.: ООО «Новая волна», 2005, 1200 с.
37. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 123 с.
38. Меньшиков В.В. Клиническая лабораторная аналитика / под ред В.В. Меньшикова. -М.: Лабинформ. РАМЛД, 1999. Т.2. 352 с.
39. Меньшиков В.В. Клиническая лабораторная аналитика / под ред В.В. Меньшикова. -М.: Лабинформ. РАМЛД, 1999. Т.2. 352 с.
40. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. - Л.: Медицина, 1969.

С. 72 -90.

41. Методические рекомендации по исследованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Москва, 1979. 75 с.

42. Методические указания по применению унифицированных и биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. — Москва, 2004. 123 с.

43. Методические указания по применению унифицированных и биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. — М., 2004. 123 с.

44. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия). Под ред. проф. И.В. Саноцкого, М., Медицина.,1970.

45. Миронов В.А. и др. Биосинтез авермектинов: физиологические и технологические аспекты: Обзор // Антибиотики и химиотерапия. 1997. Т. 42, №3. С. 31-36.

46. Мултых И.Г., Молодова Е.А.. // Возбудители клинически значимых бактериальных инфекций. Клин. лаб. диагн. 1994, N5, С. 44-45.

47. Навашин С.М., Фомина И.П., Рациональная антибиотикотерапия. Медицина. 1982. 496с

48. Навашин СМ. Отечественному пенициллину 50 лет: история и прогнозы// Антибиотики и химиотерапия. 1994. Т. 39, № 1. С.3-10.

49. Навашин СМ., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. М., 1982.

50. Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., Вихоть Н.Е. Иммунология: Практикум. - Киев: Вища. шк., 1989. 304 с.

51. Пер. с англ.; под ред. Г.Ф. Гаузе. М., 1975. Ланчини Д., Паренти Ф. Антибиотики / Пер. с англ. М., 1985. Производство антибиотиков / Под ред. СМ. Навашина и др. М.,1970.

52. Петров И.В., Васильева П.П., Куршаков Т.С. [и др.] Стандартизированные методы обследования иммунной системы человека (определение розеткообразующих клеток, иммуноглобулинов, гетерофильных

антител и фагоцитоза): Метод. рекомендации. - М.: 1984. 14 с.

53. Петрякин Ф.П., Петрова О.Ю. Болезни молодняка животных 2014 352с

54. Пименов Н. В. Антибиотико резистентность сальмонелл, выделенных от домашних голубей / Пименов Н. В., Данилевская Н. В. // «Ветеринария».–2006.– № 9. С. 20 – 24.

55. Пименов Н. В. Антибиотико резистентность сальмонелл, выделенных от домашних голубей/Пименов Н. В., Данилевская Н. В.//«Ветеринария».–2006.– № 9. С. 20 – 24.

56. Получение и некоторые свойства липосомного препарата 2,4-ди(1-метил-3-гидроксибутил) дейтеропорфирина-IX / Решетников А.В., Жигальцев И.В., Коломейчук С.Н. [и др.] // Биоорг. хим., 1999. Т. 25. С. 782-790.

57. Постановка исследований по гигиеническому нормированию пром. аллергенов в воздухе рабочей зоны. Методические указания, Рига, 1980.

58. Русанов А.И. Мицеллообразование в растворах поверхностно активных веществ. - Санкт-Петербург: Химия, 1992. 280 с.

59. Сазыкин Ю. О. Антибиотики как биологические реагенты // Итоги науки и техники. Сер. Биол. химия. Т. 20. М., 1984.

60. Сазыкин Ю.О., Швеца А.К., Иванов В.П. Механизмы резистентности к макролидам у их продуцентов и эубактерий: Обзор // Антибиотики и химиотерапия. 1998. Т. 43, № 6. С. 32-40.

61. Сазыкина К.И. Применение комплексного антибиотического препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии у свиней // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. № 1-4 (20). С. 78-80.

62. Сазыкина К.И. Разработка комбинированного лекарственного препарата на основе доксициклина и изучение его терапевтических свойств // В сборнике: Биотехнология. Взгляд в будущее Материалы III Международной научной Интернет-конференции: в 2 томах. Казань, 2014. С. 91-93.

63. Сазыкина К.И. Эффективность препарата «Доксициклин – комплекс» при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. № 1-4 (20). С. 77-78.

64. Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Изучение переносимости оральной формы антибиотика доксициклина 10% // В сборнике: Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии Материалы Международной научно-практической конференции. ФГБОУ ВПО "Саратовский государственный аграрный университет". 2013. С. 232-234.

65. Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Изучение хронической токсичности оральной формы антибиотика доксициклина 10% // В сборнике: Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии. Материалы Международной научно-практической конференции. ФГБОУ ВПО "Саратовский государственный аграрный университет". 2013. С. 235-238.

66. Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Ларионов С.В., Козлов С.В. Изучение эмбриотоксического действия антибактериального препарата «Доксициклин – комплекс» // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 3;

67. Сазыкина К.И., Енгашев С.В., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. Конструирование комплексного антибактериального препарата на основе доксициклина, лактулозы и бромгексина // Ветеринарная патология. 2013. № 4 (46). С. 83-88.

68. Сазыкина К.И., Козлов С.В. Сравнительная эффективность некоторых антибактериальных препаратов при лечении респираторных заболеваний у свиней // В сборнике: «Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии» Материалы Международной научно-практической конференции ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова" 2014. С. 209-213.

69. Сидоренко СВ. Перспективы контроля распространения антибиотикорезистентности// Антибиотики и химиотерапия. 1998. Т. 43, № 7. С. 3-6.

70. Сидоркин В.А., Гавриш В.Г., Егунова А.В., Убираев С.В. Болезни свиней

## 544С «Аквариум»

71. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Мухина З.Н. и др. Клиническая фармакология и фармакотерапия, - СПб., 1998. 122с.
72. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Мухина З.Н. и др. Клиническая фармакология и фармакотерапия, - СПб., 1998. 122 с.
73. Соловьева О. В. Рациональные подходы к антибиотикотерапии у животных при хирургических вмешательствах. // «Российский ветеринарный журнал».- 2006.- № 1.- С. 35 – 40.
74. Соловьева О. В. Рациональные подходы к антибиотикотерапии у животных при хирургических вмешательствах.//«Российский ветеринарный журнал».- 2006.- № 1.- С. 35 – 40.
75. Сохин. А.А. Иммунотерапия инфекционных заболеваний /А.А. Сохин // Прикладная иммунология. - К: Здоровье, 1984. С.213-232.
76. Страчунский Л. С. Состояние антибиотикорезистентности в России//. Клиническая фармакология и терапия.- 2000, № 2.- С. 6 – 9.
77. Страчунский Л. С. Состояние антибиотикорезистентности в России//. Клиническая фармакология и терапия – 2000, № 2.- С. 6 – 9.
78. Теновер Ф.С. Глобальная проблема антимикробной резистентности. Русский медицинский журнал. 1996,Т.3, N4, С. 217-219.
79. Торчилин В.П., Клибанов А.Л. Липосомы как средства направленного транспорта лекарств // Российский химический журнал. 1987. Т. 32. С. 502-514.
80. Федоров Ю.Н. Иммунодефициты домашних животных / Ю.Н. Федоров, О.А. Верховский - М., 1996. 95 с.
81. Фримель Г.А. Иммунологические методы. - М.: «Медицина». 1987. 472 с.
82. Хрестова Н.Л., Апуховская Л.И., Гурин Н.М. Изучение биологической активности витамина D<sub>3</sub> в липосомах // Хим.-Фарм. Журн. 1990. № 1. С. 52-55.
83. Швец В.И., Краснопольский Ю.М. Липиды в лекарственных препаратах // Хим.-Фарм. Журн. 1987. № 1. С. 17-25.
84. Щербаков Г.Г.,Ковалёв С.П., Яшин А.В., Винникова С.В. Внутренние болезни животных. 2012. 496с.

85. Эффективность липосомальных форм цитостатиков / А.Л. Дранов, А.С. Дудниченко, И.А. Мезин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1996. № 1. С. 85-89.
86. A combination of poloxamers increases gene expression of plasmid DNA in skeletal muscle / P. Lemieux, N. Guerin, G. Paradis [et al.] // Gene Therapy. 2000. V. 7. P. 986-991.
87. A novel reactive polymeric micelle with aldehyde groups on its surface / C. Scholz, M. Lijima, K.A. Kataoka [et al.] // Macromol. 1995. V. 53. P. 283-318.
88. A novel reactive polymeric micelle with aldehyde groups on its surface / C. Scholz, M. Lijima, K.A. Kataoka [et al.] // Macromol. 1995. V. 53. P. 283-318.
89. Agatonovic-Kustrin S., Glass B.D., Wisch M.H. Strategy for the development of a thermodynamically stable oral microemulsion // Curr. Drug Discov. Technol. 2004. V. 1. P. 165-171.
90. Ahuja A. Mucoadhesive Drug Delivery Systems, Khar K.R., Ali J. // Drug Develop. Ind. Pharm. 1997. V. 23. P. 489-515.
91. Allen T.M., Hausen C.B. Pharmacokinetics of stealth conventional liposomes: effect of dose // Biochim. Biophys. Acta. 1991. V. 1068. P. 133-141.
92. Almgren M. Mixed micelles and other structures in the solubilization of bilayer lipid membranes by surfactants // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1508. P. 146-163.
93. Bashkirova E.V., Putina S.N., Sazykina K.I., Staroverov S.A., Volkov A.A., Kozlov S.V. Chronic toxicity study of injection drug for the treatment and prevention of liver disease in animals // XVIth ISAH 2013 Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production» may 5-9, 2013, -C. 227. China.
94. Bernas T., Dobrucki J.W. The role of plasma membrane in bio-reduction of two tetrazolium salts, MTT, and CTC // Arch. Biochem. Biophys. 2000. V. 380. P. 108-116.
95. Betina V. The chemistry and biology of antibiotics. Amsterdam; Oxford; New York, 1983.
96. Biodegradable nanoparticle mediated antigen delivery to human cord blood



derived dendritic cells for induction of primary T cell responses / M. Diwan, P. Elamanchili, H. Lane [et al.] // *J. Drug Target.* 2003. V. 11. P. 495-507.

97. Block copolymer – based formulation of doxorubicin. From cell screen to clinical trials / V.Y. Alakhov, E. Klinskii, S. Li [et al.] // *Coll. Surf. B.* 1999. V. 16. P. 113-134.

98. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery / G. Gaucher, M. H. Dufresne, V.P. Sant [et al.] // *J. Contr. Rel.* 2005. V. 109. P. 169-188.

99. Carrion C., Domingo J.C., de Madariaga M.A. Preparation of long-circulating immunoliposomes using PEG-cholesterol conjugates: effect of the spacer arm between PEG and cholesterol on liposomal characteristics // *Chem. Phys. Lipids.* 2001. V. 113. P. 97-110.

100. Catherine M. Goodman, Catherine D. McCusker, Tuna Yilmaz Toxicity of Gold Nanoparticles Functionalized with Cationic and Anionic Side Chains // *Bioconjugate Chem.* 2004. №15. P. 897-900.

101. Cationic microparticles are an effective delivery system for immune stimulatory CpG DNA / M. Singh, G. Ott, J. Kazzaz [et al.] // *Pharm. Res.* 2001. V. 18. P. 1476-1479.

102. Chow A. W., Patten V., Guze L. B. Comparative Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Minocycline, Doxycycline, and Tetracycline // *Antimicrobial agents and chemotherapy.*-1975 Vol.7, No.1, p.46-49

103. Chow A. W., Malkasian K. L., Marshall J. R., Guze L. B. Acute Pelvic Inflammatory Disease and Clinical Response to Parenteral Doxycycline // *Antimicrobial agents and chemotherapy.*-1975.- Vol.7, No.2.-p.133-138

104. Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery / G.F. Paciotti, L. Myer, D. Weinreich [et al.] // *Deliv.* 2004. №11. P. 169–183.

105. Cremophor EL mediated alteration of paclitaxel distribution in human blood: Clinical pharmacokinetic implications / A. Sparreboom, L. van Zuylen, E. Brouwer [et al.] // *Cancer. Res.* 1999. V. 59. P. 1454-1457.

106. Croubels S., De Baere S., De Backer P. Practical approach for the stability

testing of veterinary drugs in solutions and in biological matrices during storage // *Anal. Chim. Acta*. 2003. V. 483. P. 419-427.

107. Current status and potential application of ISCOMs in veterinary medicine / B. Morein, K.-F. Hu, I. Abusugra // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004. V. 56. P. 1367-1382.

108. Dionysius D.A., Grieve P.A., Milne J.M. Forms of lactoferrin: their antibacterial effect on enterotoxigenic *Escherichia coli* // *J. Dairy Sci.* 1993. V. 76. P. 2597-2606.

109. Dionysius D.A., Milne J.M. Antibacterial peptides of bovine lactoferrin: purification and characterization // *J. Dairy. Sci.* 1997. V. 80. P. 667-674.

110. Duncan R. The dawning era of polymer therapeutics // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003. V. 2. P. 347-360.

111. Enfors W., Eriksson G. Comparison of oral ampicillin and doxycycline in the treatment of uncomplicated gonorrhoea // *Brit. J. vener. Dis.* -1975.- 51.-p.99

112. Formation of theophylline monohydrate during the pelletisation of microcrystalline cellulose – anhydrous theophylline blends / J. Herman, J.P. Remon, N. Visavarungroj [et al.] // *Int. J. Pharm.* 1988. V. 42. P. 15-18.

113. Free radical scavenging efficiency of nano-Se in vitro / Bo Huang, Jinsong Zhang, Jingwu Hou [et al.] // *Free Radical Biology & Medicine*. 2003. Vol.35. №. 7. P. 805–813.

114. Ghosh P. Gold nanoparticles in delivery applications // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008. doi:10.1016. addr.2008.03.016.

115. Gregoriadis G. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems // *Trends in Biotechnol*, 1995. V 13. P. 527-537.

116. Griffin M.O., Fricovsky E., Ceballos G., Villarreal F. Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature // *Am J Physiol Cell Physiol*. -2010.- 299(3): P.539–548.

117. Grob P.J. Immunostimulantien und Infektionskrankheiten /P.J. Grob, A. Fontana // *Ther. Umschr.* 1982.V.32. №.9. P 668-674.

118. Haensler J., Verdelet C., Sanchez V. Intradermal DNA immunization by using jet-injector in mice and monkey // *Vaccine*. 1999. V. 26. P. 628-638.

119. Hypersensitizing effect of Pluronic on cytotoxic activity, transport, and subcellular distribution of doxorubicin in multi drug-resistant cells / A. Venne, R. Mandeville, A.V. Kabanov [et al.] // *Cancer Res.* 1996. V. 56. P. 3626-3629.

120. Immune response with biodegradable nanospheres and alum: studies in rabbits using staphylococcal enterotoxin B-toxoid / M.P. Desai, J.M. Hilfinger, G.L. Amidon [et al.] // *J. Microencapsulation.* 2000. V. 17. P. 215-225.

121. Immune responses to orally administered PLGA microparticles: influence of oil vehicles and surfactive agents / I. Gutierrez, R.M. Hernandez, M. Igartua [et al.] // *J. Microencapsulation.* 2003. V. 20. P. 525-536.

122. Immunostimulatory activity of lactotransferrin and maturation of CD4- CD8- murine thymocytes / M. Zimecki, J. Mazurier, M. Machnicki // *Immunol. Lett.* 1991. V. 30. P. 119-124.

123. Issues and challenges in developing long-acting veterinary antibiotic formulations / Y. Sun, D.W. Scruggs, Y. Peng [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004. V. 56. P. 1481-1496.

124. Jiunn L.H., Anthony L.H.Y. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development // *Pharm. Rev.* 1997. V.49. P. 403-449.

125. Kakizawa Y., Kataoka K. Block copolymer micelles for delivery of genes and related compounds // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2002. V. 54. P. 203-222.

126. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological and biological significance // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2001. V. 47. P. 113-131.

127. Kataoka K., Kabanov A. *Polymeric Micelles in Biology and Pharmaceutics.* - Amsterdam: Elsevier, 1999. 342 p.

128. Macfarlane S., Macfarlane G. T., Cummings J. H. Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract // *Aliment Pharmacol Ther.* -2006. -V.24.-p. 701-714

129. Martinek K., Yatsimirskii A.K., Levashov A.V. The kinetic theory and the mechanisms of micellar effects on chemical reactions // In: *Micellization, Solubilization and Microemulsions* / Ed.: Mittal K.L. - New York: Plenum Press, 1977. P. 489-505.

130. Matsuda Y., HoboS., Naito H. Transferability of Cephalothin to the Alveolar Cavity in Thoroughbreds // J. Vet. Med. Sci. -1999.- 61(3).-p. 209–212,

131. Melik-NubarovN.S., Kozlov M.Yu. Evaluation of partition coefficients of low molecular weight solutes between water and micelles of block copolymer of ethylene oxide based on dialysis kinetics and fluorescence spectroscopy // Colloid Polym. Sci. 1998. V. 276. P. 381-387.

132. Nagarajan R., Barry M., Ruckenstein E. Unusual selectivity in solubilization by block copolymer micelles // Langmuir. 1986. V. 2. P. 210-215.

133. Naidu A.S. Lactoferrin: Natural, Multifunctional, Antimicrobial. - Boca Raton, FL: CRC Press, 2000. 86 p.

134. Niskanene M. Explaining the dissolution properties of theophylline pellets by their microstructure // Pharm. Technol. Int. 1992. V. 9. P. 20-28.

135. Onanuga A.,Temedie T. C. Multidrug-resistant Intestinal *Staphylococcus aureus*among Self-medicated Healthy Adults in Amassoma, South-South, Nigeria // J health populnutr .-2011.-29(5).-p. 446

136. Paciotti G.F., Kingston D.G.I., Tamarkin L. Colloidal gold nanoparticles: a novelnanoparticle platform for developing multifunctional tumor-targeted drug delivery vectors // Drug Dev. Res. 2006. №67. P. 47–54.

137. Pattarino F., CarlottiM.E., Gasco M.R. Topical delivery systems for azelaic acid: Effect of the suspended drug in microemulsion // Pharmazie. 1994. V. 49. P. 72-73.

138. Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations / S.R. Byrn, R.R. Pfeiffer, M. Ganey [et al.] // Pharm. Res. 1995. V. 12. P. 945-954.

139. Plasmid DNA encoding human carcinoembryonic antigen (CEA) adsorbed onto cationic microparticles induces protective immunity against colon cancer in CEA-transgenic mice / Y. Luo, D. O'Hagan, H. Zhou [et al.] // Vaccine. 2003. V. 21. P. 1938-1947.

140. Pluronic p85 enhances the delivery of digoxin to the brain: in vitro and in vivo studies / E.V. Batrakova, D.W. Miller, S. Li [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001. V. 296. P. 551-557.

141. Polyvalent Oligonucleotide Gold Nanoparticle Conjugates as Delivery Vehicles for Platinum(IV) / Warheads Shanta Dhar, Weston L. Daniel, David A. Giljohann [et al.] // J. AM. CHEM. SOC. 2009. №. 131. P. 14652–14653.

142. Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan / S.T. Lim, G.P. Martin, D.J. Berry [et al.] // J. Contr. Rel. 2000. V. 66. P. 281-292.

143. Putina S.N., Bashkirova E.V., Sazykina K.I., Staroverov S.A., Volkov A.A., Kozlov S.V. Designing of injectable dosage form for the treatment and prevention of liver disease in animals // XVIth ISAH 2013 Congress «Animal hygiene, health and welfare as corner stones of sustainable animal production» may 5-9, 2013, -C. 226. China.

144. Putney S.D., Burke P.A. Improving protein therapeutics with sustained-release formulations // Nat. Biotechnol. 1998. V. 16. P. 153-157.

145. Rangel-Yagui C.O., Pessoa A. Jr., Tavares L.C. Micellar solubilization of drugs // J. Pharm. Pharm. Sci. 2005. V. 8. P. 147-163.

146. Sazykina K.I., Zhirkov I.V., Staroverov S.A., Volkov A.A., Kozlov S.V. Efficiency of “Doxycycline – complex” preparation for treatment of gastrointestinal diseases in swine // Proceedings of the 23 International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress June 8 – 11, 2014. Cancun, Quintana Roo, Mexico

147. Speiser P.P. Nanoparticles and liposomes: a state of the art // Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1991. V 13. P. 337-342.

148. Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products / M. Christian, U. Isele, P. Van Hoogevest [et al.] // J. Contr. Rel. 2002. V. 85. P. 1-15.

149. The mechanism of liposome accumulation in infarction / T.N. Palmer, V.J. Caride, M.A. Caldecourt [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. 1984. V. 797. P. 363-368.

150. Van Zuylen L., Verweij J., Sparreboom A. Role of formulation vehicles in taxane pharmacology // Inv. New. Drug. 2001. V. 19. P. 125-141.

151. Vesicle reconstitution from lipid-detergent mixed micelles / M. Ollivon, S. Lesieur, C. Grabielle-Madelmont [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1508. P.

34-50.

152. Yokoyama M. Block copolymers as drug carriers // *CRC Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier. Syst.* 1992. V. 9. P. 213-248.

153. Zhang X., Jackson J.K., Burt H.M. Determination of surfactant critical micelle concentration by a novel fluorescence depolarization technique // *J. Biochem. Biophys. Meth.* 1996. V. 31. P. 145-150.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

WBC (white blood cells — белые кровяные тельца) — лейкоциты в абсолютных числах

RBC (red blood cells — красные кровяные тельца) — эритроциты в абсолютных числах

HGB (Hb, hemoglobin) — гемоглобин, концентрация в цельной крови

HCT (hematocrit) — гематокрит

PLT (platelets — кровяные пластинки) — тромбоциты в абсолютных числах

MCV - средний объем эритроцита

MCH – среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците

MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците

MPV (mean platelet volume) — средний объем тромбоцитов

PDW — относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму

PCT (platelet crit) — тромбокрит

LYM% (LY%) (lymphocyte) — относительное содержание лимфоцитов.

LYM# (LY#) (lymphocyte) — абсолютное содержание лимфоцитов.

MID% — относительное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.

MID# — абсолютное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.

GRA% — относительное (%) содержание гранулоцитов.

GRA# — абсолютное содержание гранулоцитов.

RDW-SD — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму.

RDW-CV — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму.

P-LCR — коэффициент больших тромбоцитов.

АЛТ – аланинаминотрансфераза.

АСТ – аспартатаминотрансфераза.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1



**УТВЕРЖДАЮ**

Директор ФГУП учхоз «Муммовское»  
РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева

**Д.В. Ворников**

«21» марта 2013 г.

### АКТ № 1

#### **Испытания препарата «Доксициклин-комплекс» производства ООО «НВЦ Агроветзащита» для лечения болезней желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии у свиней**

Мы, нижеподписавшиеся, зав. кафедрой «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» профессор Волков А.А., профессор кафедры «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» Староверов С.А., доцент кафедры «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» Козлов С.В., мл. научный сотрудник ЦКП «Молекулярная Биология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» Фомин А.С. с одной стороны и Главный ветеринарный врач ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ - МГСХА им. К.А. Тимирязева Романов Александр Михайлович и Главный зоотехник ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева Бушкин Сергей Игоревич с другой стороны, составили настоящий акт в том, что в период с 10 июня 2013 г. по 20 июня 2013 г., были проведены исследования по изучению терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» производства ООО «НВЦ Агроветзащита» при лечении свиней с болезнями желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии.

Опыт по титрации терапевтической дозы препарата «Доксициклин-комплекс» содержащего доксициклина гиклат - 100 мг/мл и бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, лактулозу - 10 мг/мл. проводили на базе ФГУП учхоз «Муммовское» Саратовской области. Объектами исследований являлись 40 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Крупная белая», в возрасте 3 мес.), спонтанно заболевшие колибактериозом. Средняя живая масса животных составляла 30 кг.

Диагноз на данное заболевание ставили комплексно: учитывали анамнестические, эпизоотологические и клинические данные, а так же результаты бактериологического лабораторного исследования смывов из прямой кишки на вирулентные штаммы энтеробактерий.

По результатам диагностики сформировали три опытных и одна контрольная группы по 10 голов в каждой.

Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин-комплекс» применяли согласно



инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 5 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).

Препарат «Доксициклин-комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

1. Животным первой группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 150 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 1,5 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
2. Животным второй группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 210 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 2,1 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
3. Животным третьей группы (n=10) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 300 мг на одно животное массой 30 кг. Для этого, 3 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл. подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
4. Животным четвертой группы (n=10) вводился препарат сравнения Доксимаг - О 10% из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 5 дней.

**Таблица 1** - Схема титрации доз и кратности применения препаратов «Доксициклин-комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии у свиней

Группа животных	Препарат	Доза препарата	Кратность применения	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин - комплекс»	5 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического лабораторного исследования смывов из прямой кишки.
2 опытная	«Доксициклин - комплекс»	7 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
3 опытная	«Доксициклин - комплекс»	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	
Контрольная	Доксимаг - О 10%	10 мг/кг (n = 10)	2 р/д с интервалом 12 часов	

Результаты изучения терапевтической эффективности препаратов изложены в данных таблицы 2.

**Таблица 2** - Терапевтическая эффективность применения препаратов «Доксициклин-комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении болезней бактериальной этиологии у свиней

Группа животных	Препарат	Дозировка, кратность применения	Терапевтический эффект		Сроки выздоровления (сутки)
			n	%	
1 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг 2 р/д	8	80,0	7 ±0,03
2 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг 2 р/д	9	90,0	5,23±0,02
3 опытная (n = 10)	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг 2 р/д	10	100,0	4,41±0,03
Контрольная (n = 10)	Доксимаг - О 10%	10 мг/кг 2 р/д	9	90,0	5,24±0,02

В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг при лечении колибактериоза свиней (табл. 2). У животных на 2 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния, прекращение поноса, повышение аппетита. На 3 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Полное выздоровление наступало через  $4 \pm 0,2$  дня. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались. При бактериальных посевах отмечалось выявление нормальной микрофлоры. Токсигенные штаммы кишечной палочки отсутствовали.

У животных 1, 2 опытных и контрольной групп, выздоровление наступало на  $7 \pm 0,03$ ;  $5,23 \pm 0,02$  и  $5,24 \pm 0,02$  день соответственно.

Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении колибактериоза поросят в суточной дозе 10 мг/кг.

Рекомендовано применение препарата «Доксициклин-комплекс» в свиноводстве для лечения болезней желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии.

**Зав. кафедрой «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» профессор**

**Профессор ФГБОУ ВПО «Саратовского ГАУ»**

**Главный ветеринарный врач ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева**

**Главный зоотехник ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева**



**Волков А.А.**

**Староверов С.А.**

**Романов А.М.**

**Бушкин С.Н.**



Для титрования доз и расчёта оптимальной терапевтической дозировки, препарат «Доксициклин-комплекс» применяли согласно инструкции по применению (перорально с питьевой водой, индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 7 дней). Для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор для выпаивания добавляли сахар – песок (100 г. сахара на литр раствора).

Препарат «Доксициклин-комплекс» вводили животным орально в следующих дозировках:

1. Животным первой группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 5 мг/кг живой массы, что составило 200 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
2. Животным второй группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 7 мг/кг живой массы, что составило 280 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 2,8 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
3. Животным третьей группы (n=5) препарат давали в суточной дозе 10 мг/кг живой массы, что составило 400 мг на одно животное массой 40 кг. Для этого, 4 мл препарата «Доксициклин-комплекс» предварительно растворили в 1000 мл подслащённой воды и делили данный объём на 2 выпаивания по 500 мл.
4. Животным четвертой группы (n=5) вводился препарат сравнения Доксимаг - О 10% из расчёта 10 мг/кг (1 мл на 10 кг) массы в течение 7 дней.

**Таблица 1** - Схема титрации доз, кратности применения препаратов «Доксициклин-комплекс» и «Доксимаг - О 10%» при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии у поросят

Группа животных	Препарат	Доза препарата	Кратность применения	Контролируемые параметры
1 опытная	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг (n = 5)	2 р/д	Результаты клинического осмотра животных, лабораторного исследования крови, бактериологического лабораторного исследования смывов из носовых ходов
2 опытная	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
3 опытная	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	
Контрольная	Доксимаг - О 10%	10 мг/кг (n = 5)	2 р/д	

Результаты изучения терапевтической эффективности препаратов изложены в данных таблицы 2.

**Таблица 2** - Терапевтическая эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» и препарата сравнения «Доксимаг - О 10%» при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии у поросят

Группа животных	Препарат	Дозировка, кратность применения	Терапевтический эффект		Сроки выздоровления сутки
			n	%	
1 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	5 мг/кг 2 р/д	3	60,0	9 ±0,03
2 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	7 мг/кг 2 р/д	4	80,0	8,23±0,02
3 опытная (n = 5)	«Доксициклин-комплекс»	10 мг/кг 2 р/д	5	100,0	7,41±0,03
Контрольная (n = 5)	Доксимаг - О 10%	10 мг/кг 2 р/д	4	80,0	8,24±0,02

В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии у поросят (табл. 2). У животных на 4 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния животных, повышение аппетита. На 6 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Полное выздоровление наступало через  $7 \pm 0,2$  дней. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались. При бактериальных посевах из носовых ходов выявляли нормальную микрофлору.

У животных 1, 2 опытных и контрольной группы, выздоровление наступало на  $9 \pm 1$ ;  $8,23 \pm 0,02$  и  $8,24 \pm 0,02$  день соответственно.

Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении респираторных заболеваний смешанной бактериальной этиологии у поросят в суточной дозе 10 мг/кг.

Рекомендовано применение препарата «Доксициклин-комплекс» в свиноводстве для лечения болезней органов дыхательной системы бактериальной этиологии у свиней.

Зав. кафедрой «Терапия, акушерство и фармакология» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» профессор

Профессор ФГБОУ ВПО «Саратовского ГАУ»

Главный ветеринарный врач ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева

Главный зоотехник ФГУП учхоз «Муммовское» РГАУ-МГСХА им. К.А. Тимирязева



Волков А.А.

Староверов С.А.

Романов А.М.

Бушкин С.Н.