

через 30 дней после инокуляции культуры иерсиний (5 млрд. м.к.) или бруцелл (2 млрд. м.к.) устанавливали перекрестную реакцию в РА.

При использовали бруцеллина ВИЭВ в благополучных по бруцеллёзу хозяйствах выявляли позитивные реакции с единым бруцеллезным антигеном в РА и РСК, а также в РБП у свиней и крупного рогатого скота. У исследованных животных позитивный результат на бруцеллёз (РА, РСК, РБП) у части животных сохранялся и при повторном исследовании через 15 – 20 дней и больше, что было основанием для постановки диагноза на бруцеллёз и в условиях благополучия зоны по бруцеллёзу проведения оздоровительных мероприятий (санитарный забой всех животных подозреваемых в заражении и т.д.). Однако, при дополнительном исследовании с R-бруцеллином, проведении диагностического забоя и бактериологических исследований с постановкой биопробы на морских свинках путем инокуляции материала от реагирующих в серологических реакциях животных, была получена негативная аллергическая проба, и культура бруцелл не выделена, но в четырёх случаях изолировали культуру *Y. enterocolitica*.

На основании вышеизложенного необходимо был разработан алгоритм таких исследований, который включал полный спектр доказательной базы, позволяющей осуществить верификацию диагноза (рисунок 1).

Заключение. При выявлении единично реагирующих на бруцеллёз животных доказана необходимость проведения комплекса дифференциально-диагностических исследований, составной частью которого являются серологических исследования сывороток крови с иерсиниозными антигенами.

Литература. 1. Серологическая и бактериологическая индикация иерсиний у животных / А. Ф. Бабкин [и др.] // Ветеринария. – Киев, 1988. – Вып. 63. – С. 20-24. 2. Бабкін, А. Ф. Методичні рекомендації з ієрсиніозу тварин (діагностика, диференційна діагностика неспецифічних реакцій з бруцельозними діагностикумами) / А. Ф. Бабкін, Л. Б. Івановська. – Суми : СНАУ, 2005. – 28 с. 3. Бусол, В. А. Этиология перекрестных реакций при бруцеллёзе и их дифференциация / В. А. Бусол, А. Ф. Бабкин, П. Н. Жованик // В кн: Бруцеллёз сельскохозяйственных животных. – Киев : Урожай, 1991. – С. 146–161. 4. Івановська, Л. Б. Вивчення перехресних серологічних реакцій між бактеріями *Y. enterocolitica* і *Brucella* / Л. Б. Івановська // Вісник Сумського ДАУ, серія «Ветеринарна медицина». – 2001. – Вип. 6. – С. 52-54. 5. Івановська, Л. Б. Об этиологии неспецифических реакций на бруцеллезный антиген у лошадей / Л. Б. Ивановская // Материалы II НПК по болезням лошадей, 21-22.09.2001, Москва. – Москва, 2001. – С. 21. 6. Івановська, Л. Б. Епізоотологічний моніторинг та розробка серологічної діагностики ієрсиніозу тварин / Л. Б. Івановська // Дис. ... канд. вет. наук. – Х., 2007. – 239 с. 7. Методические рекомендации по уточнению диагноза и профилактике заболевания при выявлении в стаде единичных животных, реагирующих с бруцеллезными диагностикумами / А. Ф. Бабкин, Р. Э. Яновская, В. А. Орлова, Л. Б. Ивановская. – Киев : Урожай, 1990. – 16 с. 8. Наттерман, Х. Этиология и патогенез иерсиниоза / Х. Наттерман, Ф. Хорш // Ветеринария. – 1987. – № 10. – С. 76-78. 9. Шумилов, К. В. Современные данные об иерсиниозе животных / К. В. Шумилов, Л. П. Мельниченко, В. В. Селивестров // Ветеринария. – 1998. – № 4. – С. 7-13. 10. Das, A. Seroprevalence of *Yersinia enterocolitica* associated abortion in buffaloes with reference to its serological cross reaction with *Brucella abortus* / A. Das, V. Paranjape // Indian. Vet. J. – 1988. – V. 65. – № 6. – P. 469-474. 11. Serological cross reactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* O9-infected cattle / R. Kittelberger, M. Reichel, C. Staak [et al] // Vet. Microbiol. – 1997. – V. 57. – № 4. – P. 361-371. 12. Infection of cattle with *Yersinia enterocolitica* O:9 a cause of the false positive serological reactions in bovine brucellosis diagnostic tests / V. Weynants, A. Tibor, P. Denoel [et al] // Vet. Microbiol. – 1996. – V. 48. – № 1-2. – P. 101-112.

Статья передана в печать 18.03.2016 г.

УДК 615.282.84

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО ПРЕПАРАТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ.

Коба И.С., Решетка М.Б., Дубовикова М.С., Кобыляцкая Г.В.
ФГБНУ «Краснодарский НИВИ», г. Краснодар, Российская Федерация

Разработка и внедрение в ветеринарную практику новых препаратов для лечения острых и хронических эндометритов, обладающих эффективными фармакологическими свойствами, низкой токсичностью и хорошим антимикробным и антимихозным действием, является одним из приоритетных направлений в современной ветеринарной фармакологии и акушерстве. Выполненные экспериментальные исследования свидетельствуют, что разработанное средство по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76). Препарат не обладает раздражающим и сенсибилизирующим воздействием на ткани в зоне его применения. Проведенные опыты по влиянию препарата на биохимическую картину крови кроликов показали, что тестируемый нами препарат не только не оказывает отрицательного действия на функциональную деятельность внутренних органов, но и улучшает некоторых биохимических показателей крови. Проведенная антимикробная активность полученного средства *in vitro*, доказывает, что оно обладает высокой антибактериальной и фунгицидной активностью.

Development and deployment in veterinary practice of new preparations for treatment of sharp and chronic endometritis possessing effective pharmacological properties, low toxicity and good antimicrobial and anti-mycotic action is one of the priority directions in modern veterinary pharmacology and obstetrics. The executed pilot studies testify that the developed means on extent of impact on an organism of warm-blooded animals belongs to low-dangerous substances (the 4th class of danger). The preparation doesn't possess the irritating and sensibilizing impact on fabrics in a zone of its application. The made experiments on influence of a medicine on a biochemical picture of blood of rabbits showed that the preparation tested by us not only has no negative effect on functional activity of internals, but also improves some biochemical indicators of blood. The carried-out antimicrobial activity of the received means in vitro proves that it possesses high antibacterial and fungicide activity.

Ключевые слова: эндометрит, микозный эндометрит, микозы, токсикология, антимикробная активность.

Keywords: endometritis, mycotic endometritis, mycoses, toxicology, antimicrobial activity.

Введение. Известно, что беременность, являясь физиологическим состоянием, в то же время предъявляет повышенные требования к материнскому организму, обуславливая усиление процессов свободнорадикального окисления и иммунологическую депрессию, граничащих с патологическим процессом.

При современной промышленной технологии производства молока животные поставлены в жесткие условия содержания, увеличены стрессовые нагрузки и предрасположенность к акушерским и гинекологическим заболеваниям, усложнен индивидуальный контроль над состоянием функции половых органов. В таких условиях интенсивно развиваются тяжелые формы функциональных расстройств и воспалительных заболеваний органов репродукции, часто принимающих массовый характер и влекущих за собой длительное бесплодие, преждевременную выбраковку [1].

Одним из наиболее часто встречаемых заболеваний является острое и хроническое воспаление эндометрия у коров. В основном острый эндометрит проявляется как осложнение послеродового периода вследствие эндо- или экзогенного инфицирования слизистой оболочки матки условно-патогенной микрофлорой (бактериями, грибами), а хронический – вследствие некачественной профилактики и лечения острой формы [2].

Проводимые лечебные и профилактические мероприятия не всегда позволяют добиться ожидаемого эффекта, так как в настоящее время довольно часто встречаются эндометриты бактериально-микозной этиологии, о чем свидетельствуют данные ряда авторов, утверждающих, что при микробиологическом исследовании цервикальной слизи больных коров отмечается ее высокая контаминация патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, а также грибами [3, 4, 5]

Профилактика и лечение родовой и послеродовой патологии у коров представляет одну из важных проблем современной ветеринарной науки и практики. Выбор средств фармакокоррекции на сегодняшний день представлен достаточно широкой линейкой препаратов различного состава и механизма действия, однако далеко не все из них возможно использовать при лечении эндометритов бактериально-микозной этиологии, так как они не обладают антимикозным действием.

Поэтому разработка и внедрение в ветеринарную практику новых препаратов для лечения острых и хронических эндометритов, обладающих эффективными фармакологическими свойствами, низкой токсичностью и хорошим антимикозным действием, продолжают оставаться актуальными. При этом важным свойством современных препаратов, направленных на лечение послеродовых эндометритов, является способность проявлять широкий спектр фармакологической активности.

Материалы и методы исследований. Исследования фармакологических и токсикологических свойств разработанного нами препарата проводили в лаборатории акушерства и гинекологии с.-х. животных Краснодарского НИВИ, а также в Краснодарской межобластной ветеринарной лаборатории. Поставлены опыты на лабораторных животных согласно ГОСТу Р ИСО 10993-11-2009.

В опыте использовали 24 половозрелых беспородных белых крыс (12 самок и 12 самцов) массой 150-200 г (возраст 2,5-3,0 мес.). Животные были распределены на 4 группы по 6 крыс в каждой группе.

Препарат вводили подопытным животным перорально путем однократного внутрижелудочного введения с помощью шприца и иглы с наплавленной оливой. Концентрация действующих веществ в 1 мл была согласно прописи.

Крысам первой группы препарат вводили внутрижелудочно в дозе 4 мл. Крысам второй группы – в дозе 6 мл, третьей группе – 8 мл. Крысы четвертой группы служили контролем, животным этой группы вводили физ. раствор в объеме тестируемого препарата вводимого животным третьей группы.

Определение хронической токсичности проходило по следующей схеме.

Животные были подобраны и распределены по группам по принципу парных аналогов, содержались в идентичных условиях кормления и содержания. Количество животных в группах определяли целесообразностью объективной оценки полученных результатов и их статистической достоверности (n - не менее 5). В опыте участвовало 12 половозрелых беспородных белых крыс (6 самцов и 6 самок) массой 150-200 г. Крысам первой группы испытуемый препарат вводили в желудок при помощи шприца и зонда, в дозе 6 мл на 1 введение в течение 7 дней. За животными вели пристальное наблюдение, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит.

По истечении 7 дней после последнего введения препарата 3 крысы были подвергнуты эвтаназии и вскрыты, было изучено патологическое состояние внутренних органов. За остальными 3 крысами продолжали вести наблюдение в течение 3 недель, учитывая их поведение, общее состояние и аппетит. Крысы второй группы служили контролем, им препарат не вводили.

Определение сенсibilизирующего и раздражающего действия препарата проводили в двух сериях опыта. В первой серии опыта раздражающее действие определяли методом конъюнктивальных проб на трёх морских свинках согласно ГОСТу Р ИСО 10993.10-99.

Микробиологический анализ маточных выделений, полученный от больных эндометритом коз, исследовали в лаборатории акушерства КНИВИ, использовали пластины биохимические, дифференцирующие энтеробактерии и кокковые бактерии НПО «Диагностические системы» г. Нижний Новгород.

Микологические исследования согласно рекомендациям для врачей-микробиологов ветеринарных лабораторий «Лабораторная диагностика висцеральных микозов с.-х. животных» (1982). Проводились микробиологические исследования, в частности, по выделению полевых изолятов *Candida albicans* и *Aspergillus fumigatus*, используя общепринятые методики и питательные среды. Непосредственно при работе с грибом нами использовались такие среды, как: среда Сабуро, МПА с 2% глюкозой, Сусло-агар, Кандида-агар. Микологические исследования культур грибов проводили согласно рекомендациям для врачей-микологов ветеринарных лабораторий «Лабораторная диагностика висцеральных микозов сельскохозяйственных животных» (В.Н. Баринов, 1982).

Результаты исследований. О токсическом действии препарата судили по картине физиологического состояния, поведению животных, поедаемости корма в течение 14 дней. В результате токсических явлений и гибели у лабораторных животных за весь период наблюдения не отмечали. У опытных животных после введения препарата (в течение 1-4 часов) отмечали краткосрочное и слабо проявленное угнетение (видимо, связанное с насильственным введением значительного количества препарата), которое характеризовалось понижением подвижности, а также вялостью. В последующем активность животных восстановилась. Введение контрольным животным такого же объема физраствора вызывало аналогичную картину. Хроническую токсичность изучали также на крысах. В течение всего периода наблюдения за крысами первой группы каких-либо изменений в поведении, общем состоянии и аппетите не наблюдалось. Животные вели себя так же, как и животные из второй контрольной группы. На протяжении всего срока эксперимента гибели животных не наблюдалось.

При патологическом изучении внутренних органов крыс опытной группы каких-либо изменений в их структуре не наблюдалось. Расположение внутренних органов было правильным. Просвет трахеи и бронхов свободен. Ткань легких розового цвета. Слизистая оболочка желудка и кишечника серо-розового цвета без изъязвлений и кровоизлияний. Капсула почки легко снималась, мозговое и корковое вещество хорошо различимо на разрезе.

Следовательно, разработанное средство по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

В результате исследования сенсibilизирующего и раздражающего действия были получены следующие результаты: инсоляция препарата в нижней отдел конъюнктивального мешка вызывает покраснение конъюнктивы сразу после введения, которое исчезало через 10 мин. В продолжении дальнейшего наблюдения за животными нами не отмечалось помутнения роговицы глаза, радужная оболочка была без видимых изменений, также не отмечали хематоз (отек конъюнктивы) и выделений из глаз.

Во второй серии опыта определяли раздражающее действие методом кожных аппликаций. В ходе исследования не отмечалось у подопытных животных образование эритемы и отека кожи, в результате чего индекс первичного раздражения равен нулю.

Изучение сенсibilизирующего действия препарата методом максимального сенсibilизирующего воздействия. Исследование проводили на морских свинках. За животными вели наблюдение, отмечая наличие на коже в области аппликаций препаратом отека, эритемы и др.

Нами было отмечено, что спустя 24, 48 и 72 часа после провокационной пробы и снятия повязки положительных реакций кожи (отек, эритема, пузырь) не выявлено.

Таким образом, препарат не обладает раздражающим и сенсibilизирующим воздействием на ткани в зоне его применения.

Также нами были проведены опыты по влиянию препарата на биохимическую картину крови кроликов. Для этого нами бралась кровь из ушной вены кроликов до введения препарата (фон), затем в течение 7 дней препарат задавался в терапевтической дозе. Затем кровь брали на следующий день, после перорального введения препарата и через 7 дней.

Анализируя данные таблицы, мы отметили следующие изменения в показателях крови у кроликов после курса введения препарата. Повысились: общий белок - на 5,8% (4,4 г/л), щелочная фосфатаза - на 22% (8,5 Ед/л); понизились: мочевины - 46% (5,85 ммоль/л), глюкоза - на 38,1% (3,8 ммоль/л.), АЛТ - 5,5% (6 ЕД/л), АСТ - на 9,9% (6 ЕД/л), билирубин - на 80% (7,05 ммоль/л), креатинин - 25,3% (39,4 ммоль/л).

Сравнивая с показателями первого и второго исследования видно, что испытуемый препарат улучшил общую картину биохимических показателей.

Третье биохимическое исследование крови проводилось через 7 дней после последнего при-

менения испытуемого препарата. Проанализировав показатели первого и третьего исследования, видно, что повысился общий белок на 6,1%, щелочная фосфотаза - 20% (7,5 Ед/л), и понизились: мочевина - на 29,9% (3,8 ммоль/л), глюкоза - на 22,1% (2,2 ммоль/л), АЛТ и билирубин - на 4,6% и 77,8% соответственно, креатинин понизился до 17,2%.

В результате полученных данных мы наблюдали улучшение некоторых биохимических показателей крови и можем сказать, что наш препарат не оказывает отрицательного действия на функциональную деятельность внутренних органов.

Таблица 1 – Влияние препарата на биохимические показатели крови

Группы	До введения препарата (фон – 1 исследование)	После курса введения препарата (2 исследование)	Через 7 дней после последнего введения препарата (3 исследование)	Норма
Общий белок, г/л	71,3±5,9	75,5±7,9	75,7±7,9	54-75
Мочевина, ммоль/л	12,7±0,4	6,85±0,35	8,9±0,7	2,3-6,6
Глюкоза, ммоль/л	9,95±2,05	6,15 ± 0,45	7,75±0,75	6,1 15,9
ALT, Ед/л	108,5±19,5	102,5±18,5	103,5±0,5	26-60
AST, Ед/л	34±8,0	28±3	26,5±7,5	5-31
Щ. фосфотаза, Ед/л	37,5±2,5	46±5	45±5	19-173
Билирубин, ммоль/л	8,8 ± 0,3	1,75±0,15	1,95±0,45	3,4–8,5
Креатинин, ммоль/л	153,45±13,85	114,05 ±5,65	127±15,5	4–141,4

Проведенная антимикробная активность полученного средства *in vitro* с препаратами-аналогами (таблицы 2 и 3) доказывает, что оно обладает высокой антибактериальной и фунгицидной активностью.

Таблица 2 - Антибактериальная активность исследуемого препарата к микрофлоре, выделенной от больных эндометритом коров (в мм)

Препарат	Выделенная микрофлора						
	<i>S. boudi</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
1. Препарат	18,3±0,63	27,8±1,32	32,5±0,65	22,0±1,29	28,5±1,041	25,6±0,4	27±1,291
2. Рихометрин	17±0,41	15,3±1,84	26,7±1,70	–	20,25±0,62	22,2±0,6	16,5±1,01
3. Тетрасолвин	8±1,96	17±3,24	14,3±1,70	11,2±1,25	8±3,162	–	11,75±1,2

Примечание. n=4-кол-во изолятов.

Таблица 3 - Антимикозная активность исследуемого препарата к грибам, выделенным от больных эндометритом коров (в мм)

Фунгицидные средства	Выделенная микрофлора					
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>M. racemosus</i>	<i>A. sydowii</i>	<i>P. citrinum</i>
Препарат	17,3	16,8	15,8	16,3	14,7	19,7
Рихометрин	3,4	5,8	10,9	-	-	4,0

Заключение. Выполненные экспериментальные исследования свидетельствуют, что разработанное средство по степени воздействия на организм теплокровных животных относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76). Препарат не обладает раздражающим и сенсибилизирующим воздействием на ткани в зоне его применения. Проведенные опыты по влиянию препарата на биохимическую картину крови кроликов показали, что тестируемый нами препарат не только не оказывает отрицательного действия на функциональную деятельность внутренних органов, но и улучшает некоторые биохимические показатели крови.

Проведенная антимикробная активность полученного средства *in vitro* доказывает, что оно обладает высокой антибактериальной и фунгицидной активностью.

Литература. 1. Основные причины бесплодия коров в условиях молочных комплексов и некоторые направления решения проблемы / Р. Г. Кузьмич, В. В. Елисеев, А. С. Клименко, Н. Н. Макаренко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2014. – Т. 50. – Вып. 2, ч. 1. – С. 164-168. 2. Опыт применения пробиотического препарата «Моноспорин» в схемах лечения коров с хроническим эндометритом / И. В. Степанов, О. И. Зауолова, У. В. Сивкова, М. В. Ряпосова // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 3. – С. 8-9. 3. Субинволюция матки у коров и ее профилактика препаратом «Эндометромаг-био®» / А. Н. Лебедев, В. С. Авдеенко, Г. Г. Марченко, В. А. Сидоркин // Аграрный научный журнал. – 2012. – № 4. – С. 17-18. 4. Кротов, Л. Н. Роль микробного и грибкового факторов в этиологии и развитии послеродовых заболеваний у коров / Л. Н. Кротов // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2011. – № 2. – С. 58-61. 5. Ошуркова, Ю. Л. Опыт применения прибора *defa ritm-13* при лечении гнойного эндометрита у коров / Ю. Л. Ошурков, Е. С. Баруздина, А. Ф. Мякишин // Молочно-хозяйственный вестник. – 2014. – № 4 (16). – С. 22-28.

Статья передана в печать 14.03.2016 г.