

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧЕРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «КАЗАНСКАЯ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ  
МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ Н.Э. БАУМАНА»

*На правах рукописи*

**МИНГАЛЕЕВ ДАНИЛ НАИЛЬЕВИЧ**

**НОВЫЕ СРЕДСТВА И МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА  
МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора ветеринарных наук

Научный консультант:  
доктор ветеринарных наук,  
профессор **Равилов Р.Х.**

Казань 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	16
1.1 Туберкулез крупного рогатого скота .....	16
и его социально – экономическое значение .....	16
1.2 Противотуберкулезные препараты и их характеристика .....	30
1.3 Побочные действия противотуберкулезных препаратов .....	39
1.4 Теоретические и экспериментальные предпосылки.....	56
практического применения химиофилактики в зоне массового распространения туберкулеза крупного рогатого скота.....	56
2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.....	67
2.1 Материалы и методы исследований.....	67
2.2 Результаты собственных исследований.....	76
2.2.1 Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан .....	76
2.2.2 Определение туберкулостатической активности Тубофена, изоциануратов, триазинов и $\alpha, \omega$ – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканов .....	89
2.2.2.1 Определение туберкулостатической активности Тубофена.....	89
2.2.2.2 Оценка бактерицидных свойств Тубофена .....	92
2.2.2.3 Определение туберкулостатической активности изоциануратов .....	94
2.2.2.4 Определение туберкулостатической активности триазинов .....	106
2.2.2.5 Определение туберкулостатической активности $\alpha, \omega$ – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил) алканов.....	110
2.2.3 Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к Тубофену, Линаролу, Аликону и Линаролу Ф-1 .....	114
2.2.4 Определение противомикробной и фунгистатической активности Тубофена, Аликона, Линарола и Линарола Ф-1 .....	118
2.2.5 Изучение фармако-токсикологических свойств .....	120
2.2.5.1 Изучение фармако-токсикологических свойств Тубофена .....	120

2.2.5.1.1	Определение параметров острой токсичности Тубофена на белых мышах .....	120
2.2.5.1.2	Определение параметров острой токсичности Тубофена на белых крысах .....	122
2.2.5.1.3	Изучение субхронической токсичности и кумулятивных свойств Тубофена.....	123
2.2.5.1.4	Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Тубофена.....	124
2.2.5.1.5	Изучение аллергенных свойств Тубофена .....	125
2.2.5.1.6	Оценка потенциальной опасности проявления эмбриотоксических и тератогенных свойств Тубофена .....	126
2.2.5.2	Изучение фармако-токсикологических свойств Аликона .....	129
2.2.5.2.1	Определение параметров острой токсичности Аликона .....	129
2.2.5.3	Изучение фармако-токсикологических свойств Линарола .....	131
2.2.5.3.1	Определение параметров острой токсичности Линарола.....	131
2.2.5.3.2	Изучение субхронической токсичности и кумулятивных свойств Линарола .....	132
2.2.5.3.3	Изучение местно-раздражающего действия Линарола.....	133
2.2.5.3.4	Изучение влияния Линарола на антитоксическую функцию печени.....	135
2.2.5.3.5	Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Линарола.....	136
2.2.5.4	Изучение фармако-токсикологических свойств Линарола Ф-1 .....	140
2.2.5.4.1	Определение параметров острой токсичности Линарола Ф-1 на белых мышах.....	140
2.2.5.4.2	Определение параметров острой токсичности Линарола Ф-1 на белых крысах .....	141
2.2.5.4.3	Изучение местно-раздражающего действия Линарола Ф-1 .....	143
2.2.5.4.4	Изучение хронической токсичности Линарола Ф-1.....	143
2.2.5.4.5	Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Линарола Ф-1 .....	145

2.2.5.4.6 Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств Линарола Ф-1 на белых крысах .....	149
2.2.5.4.7 Изучение фармакокинетики Линарола Ф-1 .....	152
2.2.6 Изучение противотуберкулезной активности Тубофена <i>in vivo</i> .....	158
2.2.6.1 Изучение профилактической активности Тубофена на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок.....	158
2.2.6.2 Влияние Тубофена на гематологические показатели морских свинок при химиопрофилактике туберкулеза .....	162
2.2.6.3 Патоморфологическое изучение профилактического действия Тубофена на экспериментальной модели туберкулеза .....	165
2.2.6.4 Лекарственная устойчивость микобактерий выделенных от морских свинок профилактируемых Тубофеном .....	172
2.2.7 Изучение противотуберкулезной активности Линарола <i>in vivo</i> .....	173
2.2.7.1 Изучение профилактической активности Линарола на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок.....	173
2.2.7.2 Патоморфологическое изучение профилактического действия Линарола на экспериментальной модели туберкулёза .....	176
2.2.7.3 Изучение терапевтической противотуберкулезной активности Линарола на модели острого экссудативно-некротического туберкулеза мышей.....	190
2.2.8 Изучение противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 <i>in vivo</i> .....	193
2.2.8.1 Изучение терапевтической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 при лечении экспериментального туберкулеза у морских свинок.....	193
2.2.8.2 Влияние Линарола Ф-1 на гематологические показатели крови морских свинок при лечении экспериментального туберкулеза.....	196
2.2.8.3 Влияние Линарола Ф-1 на биохимические показатели сыворотки крови морских свинок при лечении экспериментального туберкулеза .....	198
2.2.9 Применение Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 для специфической профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота .....	199
2.2.9.1 Изучение профилактической противотуберкулезной	

активности Тубофена в производственных условиях .....	200
2.2.9.2 Изучение профилактической противотуберкулезной активности Линарола в производственных условиях.....	206
2.2.9.3 Изучение профилактической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 в производственных условиях .....	210
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	221
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ.....	253
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	254
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	255
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	302

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Увеличение производства продукции скотоводства и повышение ее качества является первоочередной задачей современного животноводства, решить которую можно не только путем совершенствования систем кормления и содержания скота, внедрения новых форм организации производства, повышения генетического потенциала животных, но и созданием стойкого благополучия хозяйств по инфекционным болезням. Несмотря на успехи, достигнутые в борьбе с туберкулезом сельскохозяйственных животных, эта инфекция остается одной из ведущих, наиболее сложных и экономически значимых в инфекционной патологии, причиняя огромный ущерб народному хозяйству и представляя серьезную опасность населению.

Прогноз о возможности искоренения туберкулеза, высказанный экспертами Всемирной организации здравоохранения в 1969 году, не оправдался как в мировом масштабе, так и в отдельных странах и регионах (Шуршков Ю.Ю., 2006; Muhlberger G., 1995; Heifets L., 1999; Healing T., 2000; Pfyffer G., 2001; Torossian A., 2006). Туберкулез не удалось ликвидировать ни в одной стране мира. На Земном шаре ежегодно заболевают туберкулезом более 8 миллионов человек и почти 2,5 миллиона - умирает (Капков Л.П., 2004; Шилова М.В., 2005; Хожиматов Х.О., 2014; Toungousova O.S., 2002).

Правительством Российской Федерации принято Постановление от 1 декабря 2004 г. № 715 «Об утверждении перечня социально-значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих», где туберкулез занимает 1-ое место в перечне социально-значимых заболеваний и 13-ую позицию в перечне заболеваний, представляющих опасность для окружающих

Разработка, постоянное совершенствование и внедрение в нашей стране системы ветеринарных противотуберкулезных мероприятий позволили локализовать и ликвидировать эту болезнь во многих регионах, а где-то значительно улучшить эпизоотическую обстановку. Однако способность микобактерий туберкулеза длительное время сохраняться в объектах внешней

среды, высокая устойчивость их к воздействиям различных неблагоприятных факторов, а также восприимчивость к возбудителю практически всех позвоночных животных, птиц и человека делают эту инфекцию трудноискоренимой. Кроме того, сложность борьбы с этим заболеванием состоит в отсутствии специфических лечебных и надежных профилактических средств защиты молодняка, неполноценности проводимых ветеринарно-санитарных мероприятий и недостаточной эффективности существующих мер борьбы (Овдиенко Н.П., 2004, 2009; Смолянинов Ю.И., 2008; Нуратинов Р.А., 2014; Баратов М.О., 2017).

В распространении туберкулёза значительную роль играет молоко и молозиво от больных коров, особенно при отсутствии у них клинических признаков болезни. Молодняк крупного рогатого скота инфицированный микобактериями туберкулёза в молочном периоде, реагирует на туберкулин в основном только по достижении случного возраста, поэтому профилактика туберкулёза у телят является основой эффективного и активного предупреждения туберкулёза (Кузин А.И., 1982; Донченко, А.С. 1983, 2004; Колосов А.А., 2001; Хамзин Р.А., 2006).

В связи с этим, в последние годы появилась острая необходимость разработки новых, более эффективных и надежных комплексных систем борьбы с туберкулезом, в том числе с использованием средств химиопрофилактики, так как добиться положительных результатов иным путем в условиях промышленного ведения отрасли, при высокой концентрации скота на крупных фермах и комплексах, практически невозможно (Хайкин Б.Я., 1990; Мироненко Е.Е., 1990; Смолянинов Ю.И., Кошечев Н.Н., 2001; Донченко Н.А., 2005, 2008).

**Степень разработанности темы.** Эффективное применение противотуберкулёзных препаратов в медицине дало основание для испытания таковых и в ветеринарной практике. В этом направлении проведены работы учёными Украины (Андрющенко В.В., 1969; Ротов В.И., 1974, 1982; Чепуров К.П. и др., 1977), Казахстана (Омарбеков Е.О., 1972; Федосеев В.С. и др., 1976; Новак Д.Д., 1980; В.И. Пионтковский и др., 1980), Таджикистана (Михайлова К.И. и др.,

1977), Белоруссии (Кузнецов В.А., 1966; Балашенко С.Г., 1978; Тузова Р.В., 1978), Узбекистана (Ли Л.Б., 1980; Исаков М.Т., 1985), Молдавии (Жабоедов А.Н. и др., 1978; Кузьева В.А. и др., 1982), Российской Федерации (Василенко К.Ф., 1964, 1983; Кравец А.Т., Зубаткин В.А., 1983; Хайкин Б.Я., 1980, 1990; Щёткин А.А., 1983; Донченко Н.А., 2008). На основании полученных данных все вышеуказанные авторы отмечали высокую профилактическую эффективность производных изоникотиновой кислоты в борьбе с туберкулёзом животных.

За всю историю борьбы с туберкулезом разработано большое количество antimикобактериальных препаратов, причем самому «молодому» из них – рифампицину, на сегодняшний день уже более 50 лет (Перельман М.И., 2007; Мишин В.Ю., 2007; Zhang Y., Yewt W., 2011).

Более чем полувековое использование основных противотуберкулезных препаратов, антропогенная селекция генетических перестроек микобактерий вследствие беспорядочного назначения врачами субоптимальных режимов лечения и неудовлетворительная приверженность к лечению со стороны пациентов, главным образом, привело к развитию клинической формы лекарственно-устойчивого туберкулеза. Современные доминирующие сценарии развития такой формы болезни вызывают особую тревогу и представляют ощутимую угрозу борьбе с туберкулезом в глобальном масштабе. Лекарственно-устойчивые микобактерии являются серьезным вызовом эффективной противотуберкулезной работе, эта форма болезни не поддается лечению стандартным набором препаратов и грозит развитием пандемии устойчивых форм возбудителя (Мишин, В.Ю., 2003, 2009; Zignol M., Hosseini M.S. et al., 2006; Zhang Y., Yewt W., 2011).

Кроме того, в последние годы участились сообщения о том, что противотуберкулезные препараты, используемые для профилактики и лечения туберкулёза, не свободны от побочного действия и, как фармакологические средства, обладают определённой биологической активностью, способной вызывать изменение показателей обмена веществ и структурно-функционального состояния органов и систем, а при передозировке сопровождаться отравлением и

даже летальным исходом (Бальцева Л.Б. и др., 1990; Ерохин В.В. и др., 1991; Саджая Л.А., 1999; Борисова М.И. и др., 2003; Лысов А.В., 2006; Гриценко Н.С., 2009; Мордык А.В., 2010; Мишина А.В., 2012; Баласанянц Г.С., 2014).

В этих условиях становится очевидной необходимость поиска и создания новых лекарственных препаратов, способных предотвратить развитие множественной лекарственной устойчивости у микобактерий туберкулеза, снизить частоту побочных действий и тем самым повысить эффективность химиопрофилактики и этиотропной терапии (Хайкин Б.Я., Литовченко А.Н. и др., 1990; Ушакова В.А., 2007; Израилова Г.Г., 2011; Степанян И.Э., 2013; Бочарова И.В., 2014; Меньшикова Л.А., 2016).

В связи с вышеизложенным, в Институте органической и физической химии имени А.Е. Арбузова - обособленном структурном подразделении ФИЦ КазНЦ РАН синтезированы соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен) и ещё 3 группы новых химических соединений: изоцианураты, триазины и  $\alpha, \omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканы. Нами изучены противотуберкулезная активность этих средств, минимальные ингибирующие концентрации, выбраны среди них наиболее эффективные в отношении микобактерий туберкулеза химические соединения, определены их фармако-токсикологические свойства, обоснованы профилактические дозы, изучена эффективность препаратов при туберкулёзе животных, а также разработаны на этой основе методы химиопрофилактики заболевания у молодняка крупного рогатого скота.

**Цель и задачи.** Целью работы явилось изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- Провести анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан.

- Определить минимальную ингибирующую концентрацию синтезированных препаратов в отношении микобактерий туберкулеза.

- Определить лекарственную устойчивость микобактерий туберкулеза к синтезированным препаратам.

- Изучить противомикробную и фунгистатическую активность соединений – лидеров.

- Дать фармако-токсикологическую оценку изучаемым соединениям.

- Определить дозы и изучить профилактическую эффективность исследуемых препаратов на экспериментальной модели туберкулеза.

- Изучить в производственных условиях профилактическую эффективность исследуемых препаратов на телятах при туберкулезе крупного рогатого скота.

- Разработать научно-обоснованную систему профилактических противоэпизоотических мероприятий при туберкулезе крупного рогатого скота с использованием предложенных препаратов.

**Научная новизна.** Впервые проведен ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан в период с 1960 по 2016 годы. Впервые установлены однонаправленная тенденция изменения эпизоотического процесса при туберкулезе крупного рогатого скота, коэффициент заболеваемости и цикличность возникновения новых очагов туберкулезной инфекции, составлена картограмма и определен нозоарел болезни в республике.

Определены туберкулостатические свойства и минимальные ингибирующие концентрации для ряда новых препаратов: соли бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен), 45-ти соединений относящихся к изоциануратам, 3-х - относящихся к триазинам, 34-х – относящихся к  $\alpha,\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканам.

На основании проведенных исследований из каждой группы новых соединений выделены «соединения – лидеры», определены их острая и субхроническая токсичность, аллергизирующие, кумулятивные,

эмбриотоксические и тератогенные свойства. Выяснено влияние новых препаратов на лекарственную чувствительность различных штаммов микобактерий туберкулеза, изучена их противомикробная и фунгистатическая активность.

Впервые изучена специфическая химиопрофилактическая и химиотерапевтическая активность Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 на экспериментальной модели туберкулеза у белых мышей и морских свинок, установлены дозы и схема их применения. В производственных условиях доказана их химиопрофилактическая активность в отношении микобактерий туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота молочного периода онтогенеза. Установлено, что новые препараты, наряду с низкой токсичностью, способствуют повышению устойчивости животных к микобактериям туберкулёза и предупреждают развитие туберкулёзного процесса у инфицированных животных.

Приоритет и научная новизна исследований подтверждена патентами на изобретения:

1. № 2281939 «Соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен), обладающая противотуберкулезным действием и способ ее получения», зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20.08.2006 г.;

2. № 2424235 «Изоцианураты, обладающие противотуберкулезной активностью», зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20.07.2011 г.;

3. № 2431633 «Триазины, обладающие противотуберкулезной активностью», зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20.10.2011 г.;

4. № 2591256 « $\alpha$ ,  $\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканы, обладающие противотуберкулезной активностью и  $\alpha$ ,  $\omega$  – бис(метоксикарбонилметилсульфинил или сульфонил)алканы для их получения» зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 29.06.2015 г.

Проект «Соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен), обладающая противотуберкулезным действием и способ ее получения» награжден дипломом «50 лучших инновационных идей для Республики Татарстан» и дипломом в номинации «100 лучших изобретений России». Проект «Изоцианураты, обладающие противотуберкулезной активностью» награжден дипломом республиканского конкурса «Лучшее изобретение 2011 года».

**Теоретическая и практическая значимость** диссертационной работы заключается в разработке и внедрении в ветеринарную практику новых противотуберкулезных препаратов: Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 для профилактики туберкулёза у телят молочного периода онтогенеза в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах (акты производственных испытаний 24.09.2004 г.; 18.09.2008 г.; 10.12.2010 г.; 28.12.2011 г.; 18.08.2016 г.). Установлено, что вышеперечисленные препараты обладают выраженными антимикобактериальными свойствами и их применение в течение 2-х месяцев в неблагополучных по туберкулёзу хозяйствах обеспечивает высокий профилактический эффект.

По результатам исследования подготовлены:

- Инструкция по применению нового противотуберкулезного средства «Линарол» в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), утвержденное Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан от 18 июня 2010 года;

- Временные ветеринарные правила по применению нового противотуберкулезного средства «Линарол Ф-1» в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), утвержденное Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан от 8 декабря 2015 года.

Основные положения диссертации используются в учебном процессе ряда профильных ВУЗов: на кафедре эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»; кафедре эпизоотологии имени В.П. Урбана, кафедре микробиологии,

вирусологии и иммунологии, кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»; кафедре ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»; кафедре болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; кафедре инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский государственный аграрный университет; кафедре инфекционных болезней ФГБОУ ВО Южно - Уральский государственный аграрный университет; кафедре ресурсосберегающих технологий производства продукции сельского хозяйства и лесного комплекса ФГБОУ ДПО «Татарский институт переподготовки кадров агробизнеса».

**Методология и методы исследования.** Для достижения основной цели диссертационной работы и обоснования применения полученных результатов использованы адекватные методологические приемы и доступные методы исследования. Методологические подходы основаны на актуальности, целях и задачах исследований, анализа данных отечественных и зарубежных публикаций по теме диссертации и результатов собственных исследований.

В работе использованы эпизоотологические, клинические, патоморфологические, микробиологические, гематологические, биохимические, фармакологические и токсикологические методы. В проведении экспериментальных работ использовали белых мышей, белых крыс, морских свинок, кроликов и телят черно-пестрой породы.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан характеризуется эндемичностью, линия многолетнего тренда, имеет тенденцию к нарастанию;
- исследованные химические соединения обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза, а

некоторые из них достигают уровня минимальной ингибирующей концентрации туберкулостатика первого ряда – изониазида;

- новые туберкулостатики Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 обладают выраженным бактериостатическим действием на референтные и лекарственно - устойчивый штаммы микобактерий;

- препараты Тубофен, Аликон, Линарол и Линарол-Ф1 обладают избирательным антибактериальным действием, только в отношении микобактерий туберкулеза;

- изучаемые «соединения-лидеры» не обладают острой и субхронической токсичностью, местно-раздражающими, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами. Согласно ГОСТу 12.1.007.76 относятся к IV классу опасности - незначительно опасные химические вещества;

- при воспроизведении экспериментальной модели туберкулеза на лабораторных животных Тубофен, Линарол и Линарол Ф-1 проявляют достаточно высокий профилактический эффект;

- пероральное назначение Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 молодняку крупного рогатого скота в течение молочного периода онтогенеза обеспечивает надежную защиту животных от заражения микобактериями туберкулеза и позволяет провести гарантированное выращивание на фермах неблагополучных хозяйств здоровых телят, в том числе полученных от коров больных туберкулезом.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов исследования, основных положений и научных выводов диссертации подтверждена большим объемом проведенных экспериментов на лабораторных и сельскохозяйственных животных, а также широким спектром методических приемов. Объективность научных положений и выводов подтверждается применением биометрической обработки экспериментальных данных. Тема диссертации, направления исследований и их результаты рассмотрены, обсуждены и одобрены на заседаниях методического, научно-технического и Ученого совета ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ (2003 – 2017 гг.). Материалы диссертации доложены и получили положительную оценку на ежегодных

итоговых научно-производственных конференциях ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ (Казань, 2003 – 2017 гг.); конференции молодых ученых и специалистов Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана (Казань, 2004); Международной научно-практической конференции, посвященной 75- и 85-летию образования зооинженерного факультета (Казань, 2005, 2015); на научной сессии Академии наук РТ (Казань, 2005); Всероссийской конференции «Инновации молодых ученых сельскому хозяйству» (Москва, 2006); Московском международном ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Москва, 2010); Antimicrobial Drug Discovery Conference (Spain, Madrid, 2013); Всероссийской научно-методической конференции с международным участием, посвященной 85-летию Ивановской государственной сельскохозяйственной академии имени Д.К. Беляева (Иваново, 2015); Международной научно-практической конференции «Инновационные решения в ветеринарной медицине, зоотехнии и биотехнологии в интересах развития агропромышленного комплекса» (Казань, 2017).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, в том числе 15 статей в изданиях, включенных в перечень ВАК Министерства образования и науки РФ, и одна статья, входящая в базу данных Scopus. Получено 4 Патента РФ (№ 2281939, № 2424235, № 2431633, № 2591256), разработаны и утверждены на Республиканском уровне 2 инструкции по применению Линарола и Линарола Ф-1, подготовлены и изданы 2 монографии, в которых отражены основные положения и выводы диссертации.

**Объём и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 334 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращённых терминов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 58 таблицами и 30 рисунками. Список литературы включает 455 литературных источника, в том числе 118 - зарубежных авторов.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Туберкулез крупного рогатого скота и его социально – экономическое значение

В настоящее время в мире сложилась неблагоприятная эпидемическая и эпизоотическая ситуация по туберкулезу. Это относится как к развитым, так и к развивающимся странам. Туберкулез признан Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) глобальной проблемой, наносящей колоссальный экономический и биологический ущерб. ВОЗ было объявлено, что туберкулез вышел из-под контроля и находится в «критическом положении во всем мире» (Шевченко Ю.Л., 2000; Валиев Р.Ш., 2009; Нечаева О.Б., 2013; Скорняков С.Н. с соавт., 2014; Barry С.Е. et al., 2009).

Социально – экономическое значение туберкулеза настолько велико, что соизмеримо по своим негативным последствиям, пожалуй, с любым стихийным бедствием, техногенной или биологической катастрофой. Так, если после второй мировой войны, в период с 1945 по 1993 годы, в мире в различных военных конфликтах погибло 23 миллиона военнослужащих и гражданских лиц, то за тот же период времени 150 миллионов человек умерли от трех наиболее значимых и широко распространенных болезней – туберкулеза, малярии и СПИДа (Смирнов А.М., 2004).

Учитывая эпидемиологическую ситуацию в мире на рубеже 2-го и 3-го тысячелетий, ВОЗ (Resolution WHO 44.8/2004 г.) и Международный союз борьбы с туберкулезом, объявили туберкулез «проблемой всемирной опасности» и «экологическим бедствием XXI века», а 24 марта (в этот день Роберт Кох доложил об открытии им возбудителя туберкулеза Берлинскому обществу физиологов) – Всемирным днем борьбы с туберкулезом.

Заболеваемость туберкулезом в мире остается высокой, по данным ВОЗ в 2012 году туберкулез явился причиной смерти 1,4 миллиона человек за год (WHO, 2012). Только в РФ за 2011 год (Степанян И.Э. и соавт., 2013) было зарегистрировано 111000 впервые выявленных случаев и рецидивов туберкулеза,

что составило всего 2,2% от зарегистрированных во всех странах мира, 5,2% от зарегистрированных в 22 странах с наибольшим бременем туберкулеза (4679000 случаев), но 41,1% от зарегистрированных в Европейском регионе ВОЗ. Таким образом, заболеваемость туберкулезом в РФ выглядит скромно по сравнению с мировой и одновременно высока по сравнению с европейской.

На сегодняшний день туберкулез по данным ВОЗ является одной из 10 ведущих причин смерти в мире. Согласно оценкам, в 2015 году туберкулезом заболели 10,4 млн. человек, в том числе 5,9 миллиона (56%) мужчин, 3,5 иллиона (34%) женщин и 1 миллион (10%) детей. С 2014 по 2015 год темпы снижения заболеваемости туберкулезом составили во всем мире лишь 1,5%. В 2015 г. от туберкулеза умерли 1,4 миллиона человек, а также 0,4 миллиона человек, живших с ВИЧ-инфекцией. С 2000 г. по 2015 г. во всем мире благодаря лечению туберкулеза были предотвращены 49 миллионов случаев смерти, однако еще сохраняются серьезные пробелы в сфере диагностики и лечения. В 2015 году национальные власти и ВОЗ были уведомлены о 6,1 миллионов новых случаев заболевания туберкулезом (Доклад ВОЗ о глобальной борьбе с туберкулезом, 2016 г.).

Туберкулез продолжает оставаться одной из наиболее сложных и экономически значимых патологий не только в медицине, но и в сельском хозяйстве, а в частности в животноводстве. В начале XXI века неблагоприятная эпизоотическая ситуация по туберкулезу животных, особенно крупного рогатого скота, сохраняется во многих регионах мира. Степень распространения туберкулеза среди крупного рогатого скота в различных странах и даже в отдельных районах одной страны различна (Хамзин Р.А., 2006; Овдиенко Н.П. с соавт., 2004, 2009).

В 40 – 60-х годах прошлого века во многих развитых странах Европы, туберкулез получил широкое распространение и представлял серьезную проблему ветеринарно–медицинского значения. Так, заболеваемость туберкулезом крупного рогатого скота в Дании достигала 76,7%, Италии – 76, Германии – 76 – 80% (Meissner J., 1967).

По данным Международного эпизоотического бюро (МЭБ), в мире за 1959 – 1967 годы зарегистрировано свыше 98334 тысяч очагов туберкулеза крупного рогатого скота и более 17250 тысяч отдельных случаев. На Европу приходилось 53,3% вспышек, на Азию – 1,03% и 55,35% отдельных случаев, на Африку соответственно 5,25 и 0,11%, на Америку – 40,19 и 44,53%. Следовательно, на долю стран Европы и Америки приходилось 93,72% очагов туберкулеза, зарегистрированных в мире. Благодаря изолированному географическому положению Австралийского материка, туберкулеза среди крупного рогатого скота на нем не регистрируется.

Из 27 стран Европейского континента туберкулез крупного рогатого скота в указанный период зарегистрирован в 26. Из приходящихся на Европу числа вспышек этого заболевания, свыше 85,5% зарегистрировано в странах с интенсивным развитием скотоводства и стойловым содержанием скота – Болгарии, Венгрии, Польше, Югославии и других. В целом по Европе наметилась четкая тенденция снижения числа очагов туберкулеза крупного рогатого скота, количество их в 1967 году уменьшилось по сравнению с 1959 годом более чем в 4 раза, а страны Скандинавского полуострова – Нидерланды, Бельгия, Англия и другие полностью освободились от этого заболевания (Бакулов И.А., Таршис М.Г., 1971).

Эпизоотическая ситуация в мире по туберкулезу крупного рогатого скота и к 1970 году оставалась сложной, а за 1972 – 1980 годы – она только ухудшилась (Качанова С.П., 1979). Однако в дальнейшем, согласно сведениям ежегодников ФАО, ВОЗ, МЭБ за пять лет с 1980 по 1985 годы из 27 стран Европы, 25 практически освободились от этой инфекции (Шишков В.П., Качанова С.П. и соавт., 1986).

Существенные успехи в борьбе с туберкулезом крупного рогатого скота достигнуты и у нас в стране, за 10 послевоенных лет заболеваемость туберкулезом животных снизилась более чем в 22 раза (Юсковец М.К., 1963). Уже к концу 60 годов две союзные республики, 6 автономных и 10 областей являлись благополучными по туберкулезу. В 17 краях и областях, 5 автономных и 5

союзных республиках заболеваемость скота не превышала 0,1%. В 34 областях, 2 краях, 4 автономных и 4 союзных республиках заболеваемость была не выше 0,5% и лишь в 33 областях количество животных, реагирующих на туберкулин, было более половины процента.

Число неблагополучных по туберкулезу пунктов, выявляемых ежегодно в стране в 1966 – 1970 годы, сократилось в 3 раза по сравнению с 1961 – 1965 годами (Коваленко Я.Р., 1977).

Несмотря на достигнутые успехи в борьбе с туберкулезом крупного рогатого скота, в некоторых зонах нашей страны это заболевание и в настоящее время продолжает оставаться довольно распространенным. Так в 2002 году тревожная обстановка оставалась в Северо-Кавказском регионе и Поволжье. Значительное количество неблагополучных пунктов отмечалось в Волгоградской области – 31, Саратовской области – 17, Приморском крае – 16, Краснодарском крае – 15, Новосибирской области – 15, Оренбургской области – 14, Северной Осетии – 13, Ростовской области – 12. В остальных неблагополучных регионах количество неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов колебалось от 1 до 10 (Овдиенко Н.П. и соавт., 2002).

Анализ данных Международного эпизоотического бюро (ОИЕ) за 2003 – 2007 годы показывает, что туберкулез крупного рогатого скота продолжают регистрировать во всех климатогеографических зонах мира и в настоящее время он остается важнейшей и труднейшей социально-экономической мировой проблемой. Сохраняется серьезная опасность дальнейшего распространения болезни. В странах, считающихся благополучными, вновь появляются эпизоотические очаги.

Только за 2003 год в 65 странах мира (за исключением России) выявили 14277 очагов и 54170 больных туберкулезом животных. 82,5% очагов и 53,8% больных животных выявили в странах Европы, 11,1% очагов и 15,7% больных в странах Америки, 2,6% очагов и 18,2% больных животных в странах Австралии и Океании. В 2004 году продолжало увеличиваться выявление эпизоотических очагов и больных животных. Выявили 19171 эпизоотический очаг и 88014

больных животных, что на 34,2% и 62,4% соответственно больше, чем в 2003 году. В наиболее экономически развитых странах отмечаются, в основном, спорадические случаи заболевания. Страны же Южной Америки, Азии и Африки, не имеющие материально-технической базы, достаточной для осуществления программы оздоровления животноводства от туберкулеза, являются наиболее проблемными зонами (Овдиенко Н.П. и соавт., 1990, 2004).

В России, в период «перестройки» и перехода к рыночным отношениям происходили изменения и в хозяйственной деятельности сельскохозяйственных предприятий. В это время происходит разукрупнение хозяйств, создаются небольшие фермы, увеличивается поголовье в личных хозяйствах граждан. В некоторых субъектах Российской Федерации функционируют животноводческие комплексы по разведению крупного рогатого скота. В стране резко сокращается его поголовье, за последнее десятилетие количество крупного рогатого скота, в том числе коров, сократилось на 33% (Рождественский И.К., 2007). Комплектование хозяйств животными, часто происходит без учета эпизоотической обстановки. Отмечены случаи комплектования мелких фермерских хозяйств за счет поголовья неблагополучных по туберкулезу сельскохозяйственных предприятий. Значительное количество племенных животных завозится из зарубежных стран, в которых отмечены случаи заболевания животных туберкулезом. Только в 2006 году из 21 зарубежной страны в 56 субъектов РФ было завезено 57,5 тысяч голов племенного скота (Крюков С.В. и соавт., 2008).

Несмотря на происходящие в это время глобальные перемены в жизни страны, эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в РФ с 1988 года начинает постепенно улучшаться. Так, если в течение 1988 года, на территории страны было 2242 неблагополучных по туберкулезу пункта, в которых заболело 182985 животных, то в 2007 году неблагополучных пунктов было 116 и заболело 4056 животных, что соответственно на 94,8% и 97,8% меньше. Коэффициент очаговости снизился на 57,2%, выявление патологических

изменений, характерных для туберкулеза у убитого скота, снизился на 98,1%. (Овдиенко Н.П. и соавт., 2009).

Сведения об улучшении эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в стране, на примере Центрального федерального округа отражены и в работах Смолянинова Ю.И. и Лопунова С.В. (2008, 2009). По данным авторов эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота на территории Центрального федерального округа РФ характеризуется тенденцией стабильного улучшения по всем основным эпизоотологическим показателям. В динамике с 2000 по 2006 годы, количество неблагополучных пунктов сократилось в 6 раз, а заболеваемость в 1,4 раза.

Однако, улучшение эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в стране в целом, зачастую не совпадает с таковой в отдельных ее регионах.

Так Жуков А.П. (2006) сообщает, что при оценке сложившейся эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота на территории Оренбургской области, начиная с 1999 года, количество неблагополучных пунктов находится на высоком уровне и не имеет тенденции к снижению, несмотря на регулярно проводимый комплекс противоэпизоотических мероприятий. За 13 лет (с 1991 по 2004 годы) во всех районах области было исследовано 23940596 голов крупного рогатого скота, из них 57423 головы прореагировало позитивно.

По данным Баратова М.О. (2017) туберкулез крупного рогатого скота в Республике Дагестан носит стационарный характер и имеет тенденцию к распространению, что связано с социально-экономическими преобразованиями и особенностями вертикальной зональности. Удельный вес неблагополучных пунктов, по данным автора, составляет 8,4%, заболевших животных – 17,3%.

В настоящее время, согласно данным официального сайта «Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору» ([www.fsvps.ru](http://www.fsvps.ru)) ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в РФ эндемичная. В 2013 году выявлено

22 неблагополучных пункта, в 2014 – 7, в 2015 и 2016 годах по 11 пунктов соответственно.

При изучении эпизоотологии туберкулеза крупного рогатого скота необходимо учитывать и зональные особенности эпизоотического процесса при данном заболевании, в зависимости от географических особенностей местности, о которых сообщают многие авторы (Александров Н.А., 1973; Новак Д.Д. и соавт., 1985; Джупина С.И. и соавт., 1986; Хайкин Б.Я. и соавт., 1991, Кисленко В.Н., 1972, 2001; Кузлякин С.А., 2003; Beveridge W.J., 1983).

Водолазский Д.К. и Трибанин А.С. (1976) указывают на широкое распространение туберкулеза в зонах с засоленными и солонцеватыми почвами, а также в засушливых районах. По данным Ярбаева Н. (1984, 1993) в Таджикистане большинство районов с широким распространением туберкулеза расположены на равнине. Нуратинов Р.А. (2004, 2014) и Баратов М.О. (2007) также отмечают, что в Республике Дагестан, болезнь приурочена к центральной равнинной зоне, где располагаются более 70% неблагополучных хозяйств, зарегистрированных за последние 23 года.

Таким образом, анализируя географическое распространение туберкулеза крупного рогатого скота на земном шаре, можно заключить, что несмотря на осуществление ряда программ по ликвидации этого заболевания, ареал его простирается в пределах обширных территорий четырех континентов, продолжает наносить значительный экономический ущерб и во многом определяет эпидемиологическое неблагополучие.

Основной причиной сравнительно большой заболеваемости людей туберкулезом, вызванного микобактериями бычьего вида, является их подверженность массивному заражению при тесном контакте с больным туберкулезом скотом (Наубетьярова А.Н., 1982; Сафарян М.Д. и соавт., 2010).

О взаимосвязи инфекционных болезней человека и животных известно давно. Так до 30-х годов прошлого столетия в ряде западных стран (Великобритания, Франция, Италия, Испания и другие) бычий вид возбудителя

был причиной туберкулеза в 20 – 25 % случаев у взрослых и в 30 – 40% случаев у детей (Таршис М.Г., 1971).

Передача туберкулезной инфекции бычьего вида возможна через необезвреженные продукты от больных туберкулезом животных (молоко, мясо), а также аэрогенно и контактным путем у лиц, работающих с заразным материалом и ухаживающих за больными животными (Wigle W.B., Ashleu M.T, 1972). На основании данных клинического обследования больных бычьим видом туберкулеза людей Алимбекова О.А. (1989) считает, что нет особых правил для микобактерий бычьего вида. Подобно человеческому виду он может проникать в организм человека любыми путями, включая алиментарный, аэрогенный и контактный, вызывая при этом поражения того или иного органа.

Различный уровень заболеваемости туберкулезом крупного рогатого скота на территории нашей страны обусловил различную частоту обнаружения возбудителя туберкулеза бычьего вида от больных внелегочными формами туберкулеза людей. Заболеваемость людей бычьим видом в Омской области составляла 9,2%, Новосибирской – 3,9%, Кемеровской – 1,9% и Томской – 0,9% (Тарасов А.С., 1986).

В отдельных регионах нашей страны больной туберкулезом крупный рогатый скот представляет серьезную эпидемиологическую опасность, а больные туберкулезом люди, в свою очередь, представляют известную опасность для сельскохозяйственных животных, которые в дальнейшем могут служить источником возбудителя туберкулеза человеческого вида. В настоящее время в бактериологических лабораториях противотуберкулезных диспансеров редко идентифицируют до вида штаммы культур выделенных из проб патологического материала полученного от больных людей, хотя результаты подобных исследований имеют весьма большое диагностическое, лечебное и профилактическое значение. Кроме того, типирование культур изолятов может позволить пролить свет и в отношении определения источников возбудителя инфекции, особенно в случаях выяснения значения бычьего туберкулеза в патологии человека.

Так Нуратинов Р.А. и соавторы (2011) при исследовании 715 проб мокроты от больных туберкулезом людей изолировали 154 штамма культуры. При идентификации их до вида, выяснилось, что большинство выделенных культур – 109 (70,8%) относятся к *M. tuberculosis*, 36 (23,4%) - к *M. bovis* и 9 культур (5,8%) остались неопределенными. Таким образом, проведенные исследования показали высокий уровень заболевания людей туберкулезом, вызванным возбудителем бычьего вида.

Прогноз о возможности искоренения туберкулеза, высказанный экспертами Всемирной организации здравоохранения в 1969 году, не оправдался как в мировом масштабе, так и в отдельных странах и регионах (Шуршков Ю.Ю., 2006; Muhlberger G., 1995; Heifets L., 1999; Healing T., 2000; Pfyffer G., 2001; Torossian A., 2006). Во всем мире в настоящее время зарегистрировано 17,3 миллиона больных туберкулезом людей (Хожиматов Х.О., 2014). Как сообщает ВОЗ, ежесекундно инфицируется возбудителем туберкулеза один человек, в течение года вновь инфицируются около 1% населения мира (Toungoussova O.S., 2002).

Период длительного снижения и стабилизации показателя заболеваемости туберкулезом после второй мировой войны в последние годы сменился повсеместным увеличением заболеваемости. Туберкулез не удалось ликвидировать ни в одной стране мира. В мире ежегодно заболевают туберкулезом более 8 миллионов человек и почти 1/3 из них умирает. В ближайшее время на планете погибнет около 30 миллионов человек (Капков Л.П., 2004; Шилова М.В., 2005).

Помимо социальной опасности, туберкулез является и экономически значимой для общества инфекционной болезнью. В медицине экономические потери от туберкулеза обусловлены преждевременной смертью больных людей, частичной или полной утратой трудоспособности, зачастую приводящей к инвалидности, колоссальными материальными и трудовыми затратами здравоохранения и общества в целом (Джусунбеков А.Д. с соавт., 1985; Мельник В.М., Волошина В.В., 2004; Ондар Э.А. с соавт., 2006; Титаренко Л.В., 2011; Oxlade O., 2011).

По расчетам экономистов здравоохранения, в результате заболевания туберкулезом одного человека, у которого диагноз поставлен своевременно, экономический ущерб для общества составляет 2,8 тысяч рублей (здесь и далее в «Обзоре литературы» данные указаны в ценах, соответствующих периодам публикации сообщений), при несвоевременном установлении диагноза – 10,9 тысяч рублей, при запущенном инфекционном процессе – 24,6 тысяч рублей (Шефер Л.Б., 1977).

При заболевании одного человека туберкулезом в активной форме, обусловленного заражением *M. tuberculosis*, экономические потери оцениваются в 3960 рублей, *M. bovis* – 4570 рублей, что объясняется более длительным и тяжелым течением инфекционного процесса, а также повышением летальности в 7,2 раза (Курманбаев К.К., 1982; Шефер Л.Б. с соавт., 1986, 1987).

Кроме прямых экономических потерь, непомерно высоки трудовые и материальные затраты общества на борьбу с туберкулезом. Сюда следует отнести расходы на широкую сеть специализированных лечебных и оздоровительных учреждений (диспансеры, санатории), синтез и производство новых химиотерапевтических препаратов и массовую вакцинопрофилактику заболевания среди населения, финансирование государственных противотуберкулезных программ и другие. Однако, большинство этих видов затрат трудно выразить в денежном эквиваленте (Шиндлер Е.М., 1987).

Туберкулез продолжает оставаться одной из наиболее сложных и экономически значимых проблем инфекционной патологии не только в медицине, но и в сельском хозяйстве. Учитывая огромную социально-экономическую значимость заболевания, попытки определения экономического ущерба, причиняемого туберкулезом крупного рогатого скота, предпринимались в различные периоды как зарубежными, так и отечественными исследователями.

При широком распространении туберкулеза среди крупного рогатого скота в зонах длительного неблагополучия потери только мясных и молочных продуктов составляют свыше 25% от объема их производства, что в денежном выражении исчисляется десятками и сотнями миллионов рублей (Ротов В.И. с

соавт., 1978). По данным ВОЗ, экономические потери при туберкулезе крупного рогатого скота достигают в неблагополучных зонах 20% всей стоимости произведенной мясной и молочной продукции (Шишков В.П. с соавт., 1991).

Никитин В.Я. и Студенцов А.П. (2000) у больных туберкулезом коров, отмечают сокращение сроков их продуктивного использования, потерю племенных качеств животных, повышение яловости и нарушение полового цикла, что в свою очередь приводит к снижению удоев и выходу приплода.

Сведения о средних экономических потерях продукции от больного туберкулезом крупного рогатого скота, зачастую несопоставимы, так как представлены в разных показателях и получены в различных хозяйственно-экономических условиях ведения животноводства. Ниже, рассмотрим ряд примеров, свидетельствующих о высоком негативном влиянии туберкулеза на экономические показатели, в частности на продуктивность скота в животноводстве некоторых стран мира.

В животноводстве Венгрии снижение прироста живой массы больного туберкулезом молодняка крупного рогатого скота составило 10%, потери живой массы дойных коров – 15 кг, животных мясного направления – 25 кг, молочной продуктивности – 10 – 12%. При этом около 5% больных животных, оставленных в стаде, впоследствии становились непригодными к воспроизводству (Denes L., 1983).

Ориентировочные экономические расчеты, проведенные в Институте здравоохранения Польши, показали, что потери молока от больных туберкулезом коров в целом по стране определяются сотнями миллионов литров и ежегодно, по причине обнаружения характерных для туберкулеза патологических изменений, при убое животных выбраковывается и утилизируется не менее 1,5 тысяч тонн мяса (Lipnicki I., 1961).

По данным Никитина И.Н. (1976, 1989), снижение среднего удоя больных туберкулезом коров составляет в среднем 1,56 кг, а потери молока за период передержки в хозяйстве 360,8 кг. Снижение прироста живой массы больного туберкулезом молодняка крупного рогатого скота, составляет 108 грамм в сутки.

Кроме того, рядом авторов изучалось не только влияние заболевания на экономические потери продукции, а были предприняты попытки определения фактического размера экономического ущерба. Так в США ежегодные экономические потери, причиняемые туберкулезом всех видов сельскохозяйственных животных, достигали 80 миллионов долларов, Франции – 20 миллионов франков и ФРГ – 33 миллионов марок (Villegas D.M., 1965).

В Болгарии годовые экономические потери, причиненные туберкулезом животных, вычисленные на основании приблизительной рыночной стоимости животноводческой продукции, за 4 года в период с 1960 по 1963, составили 2,2 миллиона левов (Георгиев С., Божилов Б., 1967).

В Италии экономические потери от туберкулеза крупного рогатого скота в 1979 году составили 10 миллиардов лир (Ghilardi G., 1982). В Нигерии только за счет выбраковки и утилизации различных видов животных на боенских предприятиях, ежегодные экономические убытки достигали 7 миллиардов долларов (Alonge D.O. et al., 1984).

Ухудшение эпизоотической ситуации и высокий экономический ущерб, причиняемый туберкулезом животных в различных странах мира, способствовал разработке плановых государственных программ по профилактике и ликвидации туберкулеза сельскохозяйственных животных. Активная профилактика туберкулеза животных в этих странах, по заключению Vallette L. (1984), стоит очень дорого, но болезнь, если не проводить профилактических мероприятий, экономически обходится еще дороже. При этом стоимость комплекса профилактических мероприятий оценена автором лишь в 0,1 стоимости всех возможных экономических потерь причиняемых туберкулезом.

Так, во Франции экономическая эффективность противотуберкулезных мероприятий в животноводстве с 1955 по 1974 годы составила 477 миллионов франков (Brochart M. et al., 1979), а к 1983 году суммарные предотвращенные потери исчислялись более чем 1,8 миллиарда франков (Шишков В.П. с соавт., 1991). Результаты расчета экономической эффективности государственных плановых мер борьбы с туберкулезом в Италии за 1965 – 1979 годы показали, что

уже за первый год чистый доход составил 243 миллиарда лир, а в 1979 – 359 миллиарда лир (Ghilardi G., 1982). При этом окупаемость капитальных вложений на борьбу с туберкулезом крупного рогатого скота в 1979 году составила 247% (Lahaye I., 1982). В Венгрии благодаря полному искоренению туберкулеза крупного рогатого скота в 1981 году на противоэпизоотических мероприятиях сэкономлено 15,8 миллионов форинтов, при этом предотвращенный экономический ущерб превысил затраты в 14 раз (Denes L., 1983).

В нашей стране, обобщающие результаты специальных экономических исследований и данные о размерах экономического ущерба, причиняемого туберкулезом крупного рогатого скота отражены в работах Донченко А.С., Никитина И.Н., Смолянинова Ю.И. и других. Так, по данным Смолянинова Ю.И. с соавторами (2006), в Российской Федерации за 1961-2003 годы суммарный экономический ущерб, причиненный туберкулезом крупного рогатого скота превысил 84,9 миллиарда рублей. Наибольший экономический ущерб, причиненный туберкулезом крупного рогатого скота за 1985-2003 годы (18 лет) наблюдался в Поволжском (7,9 миллиарда рублей), Северо-Кавказском (6,7 миллиарда рублей) и Западно-Сибирском (3,7 миллиарда рублей). В Поволжском экономическом районе самыми неблагополучными за период анализа (1985-2003 годы) как по заболеваемости, так и по количеству неблагополучных пунктов являются Саратовская и Волгоградская области, сумма экономического ущерба в которых составила соответственно 1,4 и 3,1 миллиарда рублей; в Северокавказском – Ростовская область (2,8 миллиарда рублей), Ставропольский (1,3 миллиарда рублей) и Краснодарский (1,1 миллиарда рублей) края; в Западно-Сибирском – Омская (1,4 миллиарда рублей), Новосибирская (1,3 миллиарда рублей) и Тюменская (847,7 миллиарда рублей) области.

За период с 1961 по 2003 годы потеря продуктов животноводства (молоко, мясо, приплод), обусловленных заболеванием крупного рогатого скота туберкулезом, в РФ составила: молока – 15265,5 тысяч тонн, мяса – 1616,4 тысяч тонн и 3522,9 тыс. голов приплода. По данным авторов (Смолянинов Ю.И., Донченко А.С., Бордюг В.Ф. и др., 2005), только за период с 1987 по 2003 годы на

мясоперерабатывающих предприятиях России по причине туберкулеза подвергнуто санитарной переработке и утилизировано свыше 726 тыс. голов крупного рогатого скота различных половозрастных групп. При этом экономический ущерб от этих видов потерь выразился в сумме 252,6 миллиона рублей, в том числе 231,7 миллиона рублей от снижения качества мясной продукции, 20,9 миллиона рублей вследствие технической утилизации туш с генерализованными формами поражений. Таким образом, общие затраты на противоэпизоотические мероприятия при туберкулезе крупного рогатого скота в РФ за 1961-2003 годы составили не менее 27,4 миллиарда рублей. При этом только на туберкулинизацию скота израсходовано 691,8 миллиона рублей.

Только в Центральном Федеральном округе (ЦФО) экономический ущерб, причиненный туберкулезом крупного рогатого скота, по заключению Смолянинова Ю.И. и Лопунова С.В. (2008, 2009) в период с 2000 по 2006 годы, в сопоставимых ценах, составил 209,8 миллиона рублей. Экономика животноводства ЦФО при заболевании туберкулезом 10,8 тысяч голов крупного рогатого скота потеряла 28428,1 тонн молока, 638 тонн мяса в живой массе и 5,9 тысяч голов приплода.

Затраты на противоэпизоотические мероприятия при туберкулезе крупного рогатого скота в ЦФО РФ за 2000 – 2006 годы составили 69 миллиона рублей, с преобладанием расходов на санитарный ремонт животноводческих помещений (38%) и пастеризацию молока (31%). В результате плановых оздоровительных мероприятий в округе, за исследуемый период предотвращенный экономический ущерб составил 125,2 миллиона рублей. Предотвращены потери 16974 тонн молока, 381 тонна мяса в убойной массе и 3,6 тысяч голов приплода.

Таким образом, исходя из анализа научной литературы, туберкулез как общебиологическая проблема в начале XXI века остается важной международной и национальной проблемой. Эпидемиологическая и эпизоотическая ситуации по туберкулезу продолжают оставаться напряженными, что является бесспорным доказательством необходимости комплексного изыскания и дальнейшего совершенствования мер профилактики и ликвидации этой инфекционной болезни.

Решение проблемы туберкулеза людей и животных в создавшейся обстановке зависит от усилий ученых и практиков медицинского и ветеринарного профилей. Это явится достойным вкладом в решение продовольственной программы нашей страны и способствует выполнению задач по росту поголовья скота, увеличению продукции животноводства высокого санитарного качества и ликвидирует эпидемиологическую опасность.

## 1.2 Противотуберкулезные препараты и их характеристика

В настоящее время существует большое количество противотуберкулезных препаратов, и их современная классификация основана на эффективности влияния их на возбудителя. Противотуберкулезные препараты разделяют на две основные группы -таблица 1.

Таблица 1 - Противотуберкулезные препараты (Классификация ВОЗ, 1998)

Группа препаратов	Русское название	Общепринятое сокращение	Международное название препарата
Препараты I ряда (основные)	Изониазид	H	Isoniazid
	Рифампицин	R	Rifampicin
	Пиразинамид	Z	Pyrazinamid
	Этамбутол	E	Ethambutol
	Стрептомицин	S	Streptomycin
Препараты II ряда (резервные)	Протионамид	Pt	Prothionamide
	Канамицин	K	Kanamycin
	Амикацин		
	Капреомицин		
	Циклосерин	Cs	Cycloserine
	Рифабутин		
	ПАСК	PAS	Para - aminosalicylicacid
	Фторхинолоны (офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин)		

К первой группе относят изониазид, рифампицин, этамбутол, пиразинамид, стрептомицин. Их называют основными, или препаратами первого ряда. Эти препараты используют в основном для лечения больных, у которых туберкулёз был выявлен впервые, и при этом возбудитель чувствителен к данным лекарственным средствам. К препаратам второго ряда относят протионамид, этионамид, рифабутин, аминосалициловую кислоту, циклосерин, фторхинолоны: офлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин, канамицин, капреомицин.

Препараты второго ряда называют резервными. Их применяют для лечения больных туберкулёзом в случаях, когда возбудитель устойчив к препаратам первого ряда или при непереносимости этих лекарственных средств. В настоящее время в связи с утяжелением течения туберкулёза, ростом лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза обе группы противотуберкулёзных препаратов следует рассматривать как основные и необходимые (Перельман М.И., 2007, Мишин В.Ю., 2007).

Одним из основных предрасполагающих факторов использования всех антимикробных средств было и остается - минимальная ингибирующая концентрация (МИК) препарата. Перечень МИК некоторых противотуберкулезных препаратов, год их открытия и основные механизмы действия отражены в таблице 2 (Zhang Y., Yew W., 2011).

По данным, отраженным в таблице 2 видно, что самому «молодому» из всех вышеперечисленных противотуберкулезных препаратов 1 и 2 ряда – рифампицину, на сегодняшний день уже более 50 лет. Поэтому создание новых фармацевтических препаратов, обладающих антимикобактериальными свойствами и позволяющих повысить эффект химиотерапии и химиопрофилактики туберкулеза, является весьма актуальной задачей (Хайкин Б.Я., Литовченко А.Н. и др., 1990; Ушакова В.А., 2007; Израилова Г.Г., 2011; Степанян И.Э., 2013; Бочарова И.В., 2014; Меньшикова Л.А., 2016).

За последнее время наши познания о молекулярной основе действия лекарственных средств стали намного шире. Ниже мы приводим информацию по этой теме.

Таблица 2 – МИК, год открытия и механизм действия противотуберкулезных препаратов

№ п/п	Препарат	Год открытия	МИК мкг/мл	Механизм действия
1	Изониазид	1952	0,02 – 0,2	Торможение биосинтеза миколовой кислоты и др. эффекты
2	Рифампицин	1966	0,05 - 1	Торможение синтеза РНК
3	Пиразинамид	1952	16 -50	Погашение оболочечной энергии
4	Этамбутол	1961	1 - 5	Торможение синтеза арабиногалактанта
5	Стрептомицин	1944	2 - 8	Торможение синтеза белка
6	Амикацин/ Канамицин	1957	2 - 4	Торможение синтеза белка
7	Хинолоны	1963	0,5 – 2,5	Торможение ДНК-гиразы
8	Этионамид	1956	2,5 - 10	Торможение синтеза миколовой кислоты
9	ПАСК	1946	1 - 8	Торможение синтеза фолиевой кислоты и железа

Изониазид (INH) является наиболее распространенным противотуберкулезным препаратом первого ряда. С тех пор, как он был открыт в 1952 году, INH неизменно оставался главным компонентом в составе всех эффективных схем лечения заболевания туберкулезной и латентной туберкулезной инфекции (Промышлянский А.М., Шендерова Р.И., 1975; Архипова О.П. и др., 1977; Каланходжаев А.А., Гамзаева Н.Ф., 1991; Хальбаева И.В., Корякин В.А. и др., 1995; Визель А.А., 1998; Мишин В.Ю., Степанян И.Э., 2000; Смолянинов Ю.И., Кошечев Н.Н., 2001). *M. tuberculosis* очень чувствительна к изониазиду (при МИК 0,02 – 0,2 мкг/ мл). Специфическое действие препарата проявляется только против туберкулезных палочек в стадии размножения, но против бактерий, не участвующих в репликации, или в анаэробной среде его активность отсутствует (Zhang Y., Yew W., 2011).

Изониазид – гидразид изоникотиновой кислоты или гидразид – 4 – пиридин карбоновой кислоты по данным М.Д. Машковского (1980), имеет следующие синонимы ГИНК, Тубазид, Andrazide, Chemiazide, Cotinazide, Rimicid, Rimiffon и другие.

Изониазид – белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Легко растворим в воде, трудно растворим в 95<sup>0</sup> спирте, очень мало растворим в хлороформе, практически не растворим в эфире. Водные растворы стерилизуют при 120<sup>0</sup>С в течение 12 минут. Изониазид выпускается в порошке и в виде таблеток. Хранят препарат при температуре не выше 18<sup>0</sup>С в сухом тёмном месте (список Б).

Толчком для синтеза ГИНК послужили исследования Schorin, который установил противотуберкулезную активность никотинамидов, один из которых, изониазид, нашёл широкое применение во всех странах мира (Клебанов М.А., 1967). Изониазид - высокоактивный препарат, его строгая специфичность и высокая бактериостатическая активность по отношению к микобактериям туберкулёза, а также способность проникать через клеточные мембраны расположенные интрацеллюлярно, привлекают пристальное внимание исследователей. Изониазид обладает выраженным бактериостатическим действием на микобактерии туберкулёза, но при этом наибольший эффект отмечается по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium bovis*. Для них ингибирующие концентрации изониазида составляют 0,01 – 0,1 мкг/мл (Смирнов Г.А., 1969; Машковский М.Д., 1984; Перельман М.И., Корякин В.А., 1996; Yoshikawa T.T. et al., 1982; Grosset J., 1985). Препарат обладает не только бактериостатическим, но и бактерицидным действием (Драбкина Р.О., 1963; Пилипчук Н.С., 1968 и др.). В пробирочных опытах установлено, что жизнеспособность микобактерий уменьшается через 5 дней в 1000 раз при их контакте с 0,2 мкг/мл изониазида, с 2 мкг/мл – через 2,5 дня и с 20 мкг/мл через 2 дня. Следовательно, бактерицидная активность производных ГИНК мало зависит от их концентрации, этим она и отличается от других антибактериальных препаратов. Изониазид в больших концентрациях действует на жизнеспособность как активных, так и покоящихся клеток, а небольшие дозы действуют только на размножающиеся культуры (Клебанов М.А., 1967). Mackaness G., Smith P. (1952) в эксперименте с тканевыми культурами обнаружили полную задержку размножения туберкулёзных микобактерий в макрофагах кролика под

воздействием изониазида в концентрации 0,1 мкг/мл. ГИНК не только задерживает рост, но и приводит к значительным изменениям морфологических, биохимических, культуральных и биологических свойств туберкулёзных микобактерий. По сообщению Околелова В.И., Мартынова Е.С., Когана Б.И., Татаринова А.П. (1990), изониазид в концентрации 0,9 и 0,11 мкг/мл на плотной питательной среде вызывает изменения субмикроскопической организации микобактерий туберкулёза и изменение формы от круглой до звездчатой. Клеточная стенка под воздействием изониазида теряет трёхслойное строение и выявляется как однородная культура.

На микобактерии туберкулёза птичьего вида препарат действует слабее, МИК (минимальная ингибирующая концентрация) – около 100 мкг/мл (Вейсфейлер Ю.К., 1975; Tsukamura M.A., 1987). На сапрофитные микобактерии не действует вообще, хотя некоторые авторы считают, что для них МИК равна 150 мкг/мл (Коронелли Т.В., 1984). Все другие микроорганизмы обладают абсолютной устойчивостью к этому препарату (МИК 600 мкг/мл) (Смирнов Г.А., 1969; Визель А.А., 1998).

По данным Машковского М.Д. (1998), профилактическая активность изониазида проявляется в дозе 5 – 10 мг/кг массы тела в сутки, а лечебная – 5 – 15 мг/кг массы тела в сутки. Изониазид в лечебной дозе способствует обратному развитию специфических изменений даже в случае применения препарата на фоне генерализованной формы туберкулёзной инфекции (Платонов Г.Е., 1962).

Бактериостатическое действие изониазида Платонов Г.Е. (1962) объясняет результатом блокады, вытеснением им из обменных процессов туберкулёзных микобактерий, химически и структурно сходной с ним никотиновой кислоты, являющейся для них фактором роста. Кроме этого, выражено действие на фермент каталазу туберкулёзных микобактерий, активность которой значительно снижается по мере удлинения сроков применения препарата. Менее выражено снижение активности фермента пероксидазы. В совокупности все эти явления вызывают снижение жизнедеятельности микобактерий и делают их более доступными для разрушения ферментами защитных систем организма.

Изменение тинкториальных свойств бактериальной стенки микобактерий после воздействия изониазида свидетельствует об уменьшении содержания в ней липидов, что в конечном итоге приводит к потере вирулентности возбудителей туберкулеза и снижению их способности сенсibilизировать организм (Смирнов Г.А., 1969).

В последнее время механизм действия изониазида связывают с угнетением синтеза миколовых кислот, входящих в состав клеточных стенок микобактерий (Коган Б.И. и др., 1990; Юнг Д.Б., 2002; Winder F.G., Collins P.V., 1970; Tokayama P. et al., 1972; Tokayama K., 1974).

По данным Перельмана М.И. (2004), механизм действия изониазида на микобактерии туберкулеза основан на подавлении синтеза их ДНК, фосфолипидов и нарушении целостности клеточной стенки. Препарат образует соединения с вне- и внутриклеточными катионами железа, жизненно важными для микобактерий, и блокирует окислительные процессы. В высоких концентрациях изониазид оказывает бактерицидное действие.

Большая работа по изучению механизма действия изониазида проводилась и зарубежными исследователями. Так, по данным Zhang Y. (2000), изониазид представляет собой пролекарственную форму, активация которой достигается под действием фермента каталазы-пероксидазы (KatG), кодируемого геном *katG*, в целях образования множества высоко реактивных частиц, в дальнейшем атакующих целую группу мишеней внутри палочки *M. tuberculosis*. Реактивные частицы, продуцируемые в результате KatG-опосредованной активации изониазида, включают в себя такие реакционно-способные частицы кислорода, как супероксид, пероксид и гидроксильный радикал, окись азота (Timming G. et al., 2004) и такие химически активные органические частицы, как ацильный радикал или анион изоникотиновой кислоты, и определенные электрофильные частицы (Rawat R. et al., 2003).

Основной мишенью ингибирования изониазида является фермент InhA (редуктаза еноил-ацилпереносящего белка), участвующий в элонгации жирных кислот в процессе синтеза миколовой кислоты. Активные частицы (ацильный

радикал или анион изоникотиновой кислоты), полученные в результате KatG-опосредованной активации изониазида, вступают в реакцию с НАД(Н) (никотинамидадениндинуклеотидом) для формирования изониазид-НАД аддукта и затем атакуют InhA. Проведенные исследования показали, что аддукты изониазид-НАД(Ф) реагируют и с другими мишенями белков помимо InhA, такими как DfrA (НАДФН-зависимая дигидрофолат-редуктаза, участвующая в синтезе ДНК) (Argyrou A., Jin L. et al., 2006).

Исследования Теммере В.А. (1961), Шмелёва Н.А. (1966), Наубетьярова А.Н. (1966), Янкуненса Н.Ю. (1966), Гребенника А.И. (1967), Буткина Т.К. (1969), Процюк Р.Г., Петренко В.И. (1985), Каркищенко Н.Н., Хронько В.В. и др. (1988) показали, что изониазид обладает исключительной диффузной способностью. Введённый в организм перорально, легко всасывается из желудочно-кишечного тракта, легко проникает через гематоэнцефалический барьер и уже через 1 – 4 часа может быть обнаружен во всех органах и тканях. Концентрация ГИНК быстрее нарастает в крови, затем в тканях лёгкого, далее в тканях печени, селезёнки почек и мышц. Изониазид выводится главным образом с мочой (76,8% введенного количества). Половину выводимого количества препарата составляет ацетоформа. Изониазид – единственный препарат, проникающий через фиброзную капсулу лимфатических узлов, в том числе обызвествлённых. Именно поэтому изониазид является обязательным препаратом при проведении профилактических и противорецидивных курсов химиотерапии (Васильев Н.А. др., 1990). Поскольку выведение изониазида с калом весьма незначительно, следует полагать, что оставшая часть препарата превращается в организме в соединения, не содержащие гидразиновой группы (Ильяхин В.И., 1968).

Изониазид дезактивируется в организме путем гидролиза и ацетилирования ферментом N-ацетилтрансферазой. Ацетилирование – важный путь метаболизма многих веществ, в структуру которых входит NH<sub>2</sub> группа. Скорость инактивации заложена в генетическом коде индивидуума и зависит от единственного гена. По скорости инактивации ГИНК люди разделяются на «быстрых инактиваторов», имеющих период полураспада препарата менее 1 часа, и «медленных

инактиваторов», имеющих период полураспада ГИНК более 3 часов. В США среди лиц негроидной популяции быстрое ацетилирование отмечено в 52%, среди европеоидной – 48%, но особенно часто у эскимосов – 95%. Среди японцев эта величина составляет 88%, таитян – 72%, тогда как среди британцев – 38%, шведов – 32%, египтян – 18%. Большинство европейцев медленные ацетиляторы (Томан К., 1980; Лоуренс Д., Бенитт П., 1993).

Рифампицин (RMP) является важным препаратом первого ряда для лечения туберкулеза. Он обладает бактерицидными свойствами по отношению к *M. tuberculosis*, при МИК в диапазоне от 0,05 до 1 мкг/мл на плотных или жидких питательных средах, но на яичных средах уровни МИК выше (МИК - 2,5 - 10 мкг/мл). Рифампицин сохраняет свою активность как против размножающихся бактерий, так и бактерий в стационарной фазе роста при низкой метаболической активности. Последняя связана со своим высоким обеззараживающим действием *in vivo*, что коррелирует с ее способностью сокращать период лечения туберкулеза с 12-18 месяцев до 9 месяцев (Mitchison D.A., 1985). Рифампицин мешает синтезу РНК, связываясь с  $\beta$ - субъединицей РНК-полимеразы. РНК-полимераза представляет собой олигомер, состоящий из минимального фермента, который образован из четырех цепей  $\alpha 2\beta\beta'$  совместно с  $\sigma$ -субъединицей исключительно для запуска транскрипции, исходящей от промоторов. Сайт связывания рифампицина находится в обратном направлении от каталитического центра и физически блокирует элонгацию цепи РНК.

Пиразинамид (PZA) является важным препаратом первого ряда наряду с изониазидом и рифампицином. Ему принадлежит уникальная роль в сокращении срока лечения туберкулеза с 9-12 месяцев, как это было раньше, до 6 месяцев, поскольку он уничтожает популяцию стойких микобактерий в кислой рН-среде в очагах поражения, которую не способны ликвидировать другие препараты (Mitchison D.A., 1985). Пиразинамид представляет собой необычный противотуберкулезный препарат, обладающий высоким уровнем обеззараживающей активности *in vivo* (Zhang Y., Mitchison D., 2003), но не имеющий какого-либо действия против туберкулезных палочек в нормальных

условиях выращивания культуры при почти нейтральном рН. Препарат обладает специфической активностью против *M. tuberculosis* только при кислом рН (например, на уровне 5,5). Даже при кислом рН (5,5) действие пиразинамида довольно слабое при МИК в пределах 6,25 - 50 мкг/мл. Активность пирозинамида усиливается при недостатке кислорода или в анаэробных условиях (Wade M.M., Zhang Y., 2004) и под воздействием препаратов, нарушающих нормальный энергетический статус мембран, как например, слабых кислот и энергетических ингибиторов, как например, DCCD (дициклогексилкарбодиимида) (Wade M.M., Zhang Y., 2006).

Пирозинамид является пролекарственной формой, предполагающей его превращение в активный метаболит – пиразиную кислоту (РОА) посредством фермента пиразинамидазы/никотинамидазы, кодируемого геном *pnсA* палочки *M. tuberculosis* (Scorpio A. et al., 1996). Образующаяся во внутриклеточном пространстве РОА выходит на поверхность клетки благодаря пассивному переносу и нарушенному оттоку. Внеклеточная кислая рН способствует формированию незаряженной протонированной РОА, которая затем, проникая через мембрану, обуславливает накопление РОА и нарушение трансмембранного потенциала у *M. tuberculosis*. Протонированная РОА доставляет протоны в клетку и, в конечном счете, может вызвать цитоплазматическое подкисление и разряжение мембраны через коллапсирование движущей силы протонов, что негативно влияет на перенос частиц через мембрану. Мишень воздействия пиразинамида имеет отношение к трансмембранному энергетическому обмену, хотя конкретная мишень все еще остается неопределенной.

Этамбутол (EMB) [(S,S')-2,2' (этилендиимино) ди-1-бутанол] является препаратом первого ряда, который используется в сочетании с изониазидом, рифампицином и пиразинамидом для профилактики возникновения лекарственной устойчивости. Параметры МИК препарата в отношении *M. tuberculosis* находятся в диапазоне 0,5-2 мкг/мл. Этамбутол это бактериостатический препарат, который обладает специфическим действием против размножающихся микобактерий и не оказывает никакого влияния на

микроорганизмы, не участвующие в репликации. Этамбутол препятствует биосинтезу арабиногалактана в клеточной стенке (Takayama K., Kilburn J., 1989). Он тормозит процесс полимеризации арабинана, арабиногалактана и липоарабиноманнана в оболочке клетки и индуцирует накопление D-арабинофуранозил-Р- декапренола, являющегося промежуточным продуктом биосинтеза арабинана (Mikusov K. et al., 1995; Wolucka B. et al. 1994). Арабинозилтрансфераза, кодируемая геном *embB* и представляющая собой фермент, который участвует в синтезе арабиногалактана, была предложена в качестве мишени этамбутола в штаммах *M. Tuberculosis* (Telenti A. et al., 1997). В случае *M. tuberculosis* на ген *embB*, который структурирован в виде оперона с *embC* и *embA* в порядке следования *embCAB*, *embC*, *embB* и *embA*, приходится более 65% взаимной идентичности аминокислот, и эти гены предположительно отвечают за кодирование трансмембранных белков.

Стрептомицин представляет собой антибиотик класса аминогликозидов, обладающий специфической активностью против самых разных видов бактерий, в том числе *M. tuberculosis*. Стрептомицин уничтожает интенсивно размножающиеся туберкулезные палочки при МИК в диапазоне 2 – 4 мкг/мл (Heifets L., 2005), но он остается пассивным по отношению к не участвующим в размножении или внутриклеточным микобактериям. Препарат тормозит процесс синтеза белков за счет связывания с субъединицей 30S бактериальной рибосомы, обуславливая неправильное считывание информации мРНК при трансляции (Mitchison D.A., 1985).

### **1.3 Побочные действия противотуберкулезных препаратов**

Эффективность любого противотуберкулезного препарата оценивают не только по наличию бактерицидной активности, но и способности предотвращать развитие лекарственной устойчивости. История развития устойчивости к противотуберкулезным препаратам относительно непродолжительна и возникла всего 60 лет назад с появлением лекарственных средств для лечения туберкулеза (Long E.R., Ferebee S.H., 1950). В течение десятилетий эта проблема стала

очевидной в отдельных территориях среди пациентов, проходивших лечение в специализированных центрах промышленно развитых стран (Camínero J.A., 2008).

С открытием рифампицина в 1966 году и его широким использованием в период 1970-1990 гг. пациенты, которые к этому времени уже являлись носителями устойчивых к изониазиду штаммов *Mycobacterium tuberculosis* приобрели резистентность к рифампицину. Это положило начало постепенно разрастающейся проблеме туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), суть которого заключается в наличии резистентности, по меньшей мере, и к изониазиду, и к рифампицину, и в некоторых странах она достигала размеров эпидемии (данные World Health Organization, 2008). Излечение туберкулеза у этих больных сопряжено с трудностями, поскольку они инфицированы штаммами, обладающими устойчивостью к двум наиболее действенным противотуберкулезным препаратам. За последние два десятилетия из-за нарушения практики использования других препаратов противотуберкулезного действия, в частности препаратов фторхинолонового ряда, являющихся наиболее эффективными из серии препаратов второй линии, диапазон резистентности возбудителя туберкулеза возрос до широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ), определяемого как МЛУ плюс резистентность к любому препарату из ряда фторхинолонов и, как минимум, к одному инъекционному препарату второго ряда. Такой постепенный переход к современной эпидемии произошел всего лишь 15 лет назад, то есть во второй половине 1990-х годов, и ее распространение во всем мире происходило неравномерно. Таким образом, если во многих регионах эта ситуация вызывает опасение, то в целом ряде других территорий проблема МЛУ-ТБ едва ощутима и, возможно, никогда не достигнет эпидемических уровней (Camínero J.A., 2008, 2011).

Исследованиями, проведенными Kleeberg Н.Н. (1967) установлено, что в организме крупного рогатого скота, леченного изониазидом в течение 2 – 3 месяцев, было 46%, 4 – 6 месяцев – 28%, а в 7 – 10 месяцев – 19% устойчивых к изониазиду микобактерий. Однако Мироненко Е.Е. (1990) при пероральном

введении телятам изониазида в дозе 15 и 60 мг/кг массы, в течение 2 месяцев не выделял устойчивых к изониазиду микобактерий.

Изониазид обладает высокой способностью тормозить развитие лекарственной устойчивости (Mitchison D.A., 1985), но лекарственная устойчивость к изониазиду не всегда носит постоянный характер (Зыков М.П., 1976; Томан К., 1980) и имеет тенденцию к снижению (Ormerod L.P. et al., 1986; Cochi V. et al., 1987). Narimann-Helming (1977) и Badu Swai O., Aluoch J. A., Githui W.A. и другие (1988) утверждают, что при стандартной химиотерапии прогноз для больных с первичной устойчивостью к одному препарату – наиболее часто встречающемуся типу устойчивости – почти столь же благоприятен, как для больных с чувствительными микроорганизмами.

Жукова М.П. (1998), при анализе медицинской документации у 490 больных, отмечает, что наиболее часто первичная лекарственная устойчивость микобактерий туберкулёза наблюдалась к стрептомицину – 18,7% и тубазиду – 13,9%.

По данным Визеля А.А. (1998), изониазид-резистентные мутанты спонтанно встречаются с частотой 1 на  $10^5$  –  $10^6$  особей. Механизм развития устойчивости к изониазиду пока неизвестен. Однако недавние исследования молекулярных генетиков выявили наличие связи устойчивости к изониазиду с угнетением каталазной и пероксидазной активности. Это было доказано восстановлением или усилением чувствительности к изониазиду резистентных штаммов *M. smegmatis*, у которых методом геной инженерии был выделен ген *M. tuberculosis*, отвечающий одновременно за каталазу и пероксидазу. В двух штаммах *M. tuberculosis*, у которых этот ген был удален, возникла устойчивость к изониазиду.

По данным ЦНИИ туберкулеза РАМН (Чуканов В.И., 1998), у 50% впервые выявленных и ранее не леченных противотуберкулезными препаратами больных в мокроте определялись лекарственно – устойчивые микобактерии, из них у 27,7% имелась устойчивость к 2 основным противотуберкулезным препаратам – изониазиду и рифампицину.

Современные доминирующие сценарии развития лекарственно-устойчивого туберкулеза вызывают особую тревогу и представляют ощутимую угрозу борьбе с этой болезнью в глобальном масштабе. Лекарственно-устойчивый туберкулез является серьезным вызовом эффективной противотуберкулезной работе (Мишин, В.Ю., 2003; Zignol M., Hosseini M.S. et al., 2006).

В своем докладе о ходе работы по Глобальному проекту Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Международного союза борьбы с туберкулезом и легочными заболеваниями (МСБТЛЗ) «Эпиднадзор за развитием лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам» отмечено, что доля множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), означающая формирование резистентности одновременно к рифампицину и изониазиду, находилась в диапазоне от 0% до 22,3% у впервые выявленных больных. Наиболее высокая зарегистрированная доля МЛУ к противотуберкулезным препаратам составила 60% среди ранее леченных больных. Согласно расчетным данным, в 2006 г. насчитывалось 489 139 новых случаев МЛУ-ТБ, а глобальная доля такой устойчивости среди всех заболевших достигла 4,8%. Процент туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью, среди больных с МЛУ в разных территориях колебался в пределах от 0 до 30% в глобальном масштабе. Ежегодно во всем мире по расчетным данным возникает примерно 40 000 случаев широкой лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам (данные World Health Organization, 2008).

По данным ЦНИИОИЗ МЗ РФ за 2012 год, актуальной социально значимой проблемой в клинике туберкулеза стало резкое увеличение числа больных туберкулезом, вызванным возбудителем с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). В 2012 г. доля больных туберкулезом с МЛУ возбудителя среди впервые выявленных составила 16,2%. По данным Всемирной организации здравоохранения, показатели заболеваемости туберкулезом с МЛУ микобактерий туберкулеза (МБТ) достигли наивысшей отметки за всю историю наблюдений, причем они повышаются быстрее, чем это прогнозировалось. Эти формы туберкулеза не поддаются лечению стандартным набором противотуберкулезных

препаратов и грозят развитием пандемии устойчивых форм, поэтому поиск и создание новых лекарственных препаратов остаются актуальными направлениями для преодоления лекарственной устойчивости и средством повышения противотуберкулезной терапии (Бочарова И.В., 2014).

Понимание механизмов формирования устойчивости микобактерий к противотуберкулезным препаратам позволяет не только разрабатывать ускоренные методы молекулярной диагностики и создавать предпосылки для создания новых противотуберкулезных препаратов, но и содействовать осуществлению мер профилактики развития такой устойчивости (Zhang Y., Yew W., 2011).

Резистентность к изониазиду бывает чаще, чем к большинству противотуберкулезных препаратов при частоте в пределах 1 на  $10^5$ - $10^6$  палочек *in vitro*. Изониазид-устойчивые клинические изоляты *M. tuberculosis* нередко теряют фермент каталазы-пероксидазы, кодируемый геном *katG*, особенно в высокоустойчивых штаммах (при МИК  $> 5$  мкг/мл). Низкоустойчивые штаммы (при МИК  $< 1$  мкг/мл) нередко все же сохраняют активность каталазы. Мутация на уровне гена *katG* служит основным механизмом развития устойчивости к изониазиду (Middlebrook G., 1954; Winder F., 1982).

Мутация *KatG* S315T является наиболее распространенной в изониазид-устойчивых штаммах, на которую приходится 50-95% клинических изолятов. Резистентность к изониазиду может также происходить вследствие мутаций на участке промотора оперона *mabA/inhA*, обуславливая сверхпродукцию *InhA*, или в результате мутации на активном участке *InhA* может понижать аффинность *InhA* по отношению к аддукту изониазид - НАД. Мутации на уровне *inhA* или его участка промотора, как правило, ассоциируются с низкой устойчивостью (при МИК = 0.2 - 1 мкг/мл) и наблюдаются реже, чем мутации на уровне *katG* (Hazbon M.H., Brimacombe M. et al., 2006).

Устойчивые к изониазиду штаммы *M. tuberculosis*, в которых происходят мутации на уровне *inhA*, могут иметь дополнительные мутации в гене *katG*, что приводит к повышению уровней устойчивости к препарату. Мутации на уровне

*inhA* не только обуславливают развитие резистентности к изониазиду, но и вызывают перекрестную устойчивость к структурно-родственному препарату этионамиду (Heym B., Alzari P.M. et al., 1995).

Устойчивость к рифампицину происходит с частотой в диапазоне от 10<sup>-7</sup> до 10<sup>-8</sup>. Как и в случае с другими бактериями, мутации на определенном участке из 81 пары оснований гена *rpoB* обнаруживают в примерно 96% рифампицин-устойчивых изолятов *M. tuberculosis* (Telenti A., Imboden P. et al., 1993). Мутации в положениях 531, 526 и 516 относятся к наиболее часто наблюдаемым в рифампицин-устойчивых штаммах. Мутации на уровне гена *rpoB* обычно обуславливают высокую резистентность (при МИК > 32 мкг/мл) и перекрестную устойчивость ко всем препаратам рифамицинового ряда. Однако специфические мутации в кодонах 511, 516, 518 и 522 ассоциируются с низкой устойчивостью к рифампицину и рифапентину, но сохраняют чувствительность к рифабутину и рифалазилу (Williams D.L., Spring L. et al., 1998).

Интересным и в целом вызывающим беспокойство является результат наблюдения за поведением рифампицин-зависимых штаммов *M. tuberculosis* в клинических условиях. У этих штаммов был медленный рост на яичных питательных средах, но в присутствии рифампицина они размножались лучше. Рифампицин-зависимые штаммы каким-то образом проявляют общие черты с L-формами микобактерий. Строго говоря, эти штаммы не являются рифампицин-зависимыми, поскольку они все же способны очень медленно расти в отсутствие препарата. Это совершенно не похоже на определенно стрептомицин-зависимые штаммы, которые размножаются исключительно в присутствии стрептомицина (Zhong M., Wang Y. et al., 2002).

Одним из важных факторов снижения эффективности использования противотуберкулезных препаратов является также и развитие побочных реакций. По данным Перельмана М.И. (2004), у 10 – 15% больных осложняющим моментом противотуберкулезной химиотерапии являются побочные реакции. Они могут возникать при использовании всех известных противотуберкулезных препаратов, различаются лишь их характер и частота. Примерно у 4% больных

побочные реакции приобретают угрожающий характер и являются основанием для отмены препарата. В таблице 3 приведены противотуберкулезные препараты и наиболее важные противопоказания к их применению.

Таблица 3 - Противотуберкулезные препараты и противопоказания к их применению (Перельман М.И. и соавт., 2004)

Препарат	Причина противопоказания
Изониазид	Тяжелое поражение печени, эпилепсия, психозы
Рифампицин	Гиперчувствительность к рифампицину в анамнезе, почечная недостаточность, патология зрительного нерва
Пиразинамид	Тяжелое поражение печени, подагра
Стрептомицин, капреомицин, амикоцин	Поражение VIII черепного нерва, заболевания почек, беременность
Этамбутол	Патология зрительного нерва, катаракта, ретинит, почечная недостаточность
Протионамид	Патология желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, эпилепсия, психозы, беременность
Циклосерин, ПАСК	Психоз, хронический алкоголизм, беременность Заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания печени и почек, гипотиреоз
Тиоацетазон	Заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания печени, почек, органов кроветворения
Фторхинолоны	Гиперчувствительность к препаратам фторхинолонового ряда, беременность

По данным Bloss E., Kukša L. (2011), из 1027 пациентов больных туберкулезом и принимавших противотуберкулезные препараты у 807 (79%) наблюдалось, по меньшей мере, одно побочное проявление при медиане, в количестве трех проявлений на один случай. Среди наиболее распространенных побочных проявлений можно назвать тошноту (58%), рвоту (39%) и боль в животе (24%). Более тяжелые проявления, такие как эпизоды психиатрических расстройств (13%), гепатит (9%) и почечная недостаточность (4%), встречались относительно часто. Изменение дозировки препарата из-за возникшего побочного эффекта имело место в 201 (20%) случае, тогда как при ведении 661 (64%) больному хотя бы один препарат был отменен либо временно, либо постоянно.

Результаты этих исследований о том, что у 79% больных наблюдался хотя бы один связанный с лечением побочный эффект, перекликается с результатами исследований, проведенных в Томске и Стамбуле (Güngör G., Ozmen I. et al., 2005; Shin S.S., Pasechnikov A.D. et al., 2007) согласно которым у 69% и 73% случаев, соответственно, отмечался, как минимум, один побочный эффект.

Как и в случае с результатами обследования группы больных туберкулезом людей в Индии и США (Ghosh C.S., Thomas J. et al., 2007; Goble M., Iseman M.D. et al., 1993) было обнаружено, что побочные проявления, как правило, возникают на раннем этапе терапии, в частности, в начальные 6 месяцев лечения. Инъецируемые препараты, вводимые при лечении туберкулеза и нередко ассоциируемые с побочными эффектами, главным образом назначают лишь в первые 6 - 9 месяцев лечения, чем, собственно, и объясняется повышенная частота таких эффектов в этот период.

Чуканов В.И. (2001) считает, что побочные действия противотуберкулезных препаратов ограничивают возможности проведения полноценной химиотерапии, особенно при использовании стандартных курсов. Химиопрепараты, оказывая токсическое, сенсibiliзирующее действие на организм больного, могут вызывать различные побочные эффекты. Особенно часто они возникают при наличии сопутствующих заболеваний печени, желудка, почек, сердечно-сосудистой системы. Вместе с тем, автор не смог выявить существенного повышения частоты побочных реакций в зависимости от увеличения числа химиопрепаратов. Так, при применении 3 противотуберкулезных препаратов побочные реакции наблюдались у 17,5% больных, 4 препаратов – у 18,2%, 5 – у 22,7% больных. Однако побочный эффект химиопрепаратов в 2 - 3 раза чаще проявлялся у больных, имеющих сопутствующие заболевания. Десенсибилизирующие средства, кортикостероидные препараты, экстракорпоральные методы лечения позволили ликвидировать побочное действие химиопрепаратов у 64% больных без их отмены, и только у 36% больных пришлось заменять препарат, вызвавший побочный эффект.

При изучении частоты развития побочных реакций на противотуберкулезные препараты у 485 впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания Мордык А.В. (2010) установлено, что побочные реакции на противотуберкулезные препараты проявились у 102 впервые выявленных больных инфильтративным туберкулезом легких, у 62 из которых проведение химиотерапии осложнилось развитием явлений непереносимости. Основными патогенетическими факторами, способствующими их развитию, были эндогенная интоксикация, выраженная активация процессов свободнорадикального окисления, дисфункция вегетативной нервной системы, мембранодеструкция, нарушения адаптации и реактивности организма.

Для более детального изучения вопроса многообразия проявления побочных реакций на противотуберкулезные препараты, предлагаем максимально подробно изучить эту тему на примере наиболее распространенного противотуберкулезного препарата первого ряда – изониазида.

В зависимости от дозы препарата, наличия сопутствующих заболеваний и индивидуальной переносимости химиопрепарата, изониазид способен вызывать изменение показателей обмена веществ и структурно-функционального состояния органов и систем. На высокую токсичность изониазида при изучении его действия в эксперименте указывают многие исследователи: Витониль М.А., 1958; Бандиков В.И., Столяров Г.В., 1961; Семенов А.Д., Бабицкий М.А. и др., 1962; Смирнов Г.А., 1963; Ахундов Г.А., 1972, 1973, 1974; Челнокова Н.В., Островская Р.У. и др., 1982; Николаев В.П., 1986; Борисова М.И. и др., 2003; Астахова А.В., 2004; Мишин В.Ю., 2004, 2007; Шилова М.В., 2005; Мишина А.В., Чернова И.П. и др., 2012.

В связи с выраженной токсичностью, изониазид при передозировке может вызвать отравления, вплоть до летального исхода. В отечественной и зарубежной литературе описаны многочисленные случаи острого отравления после приёма различных доз изониазида, часть которых закончилась летально (Кулаго Г.В. и соавт., 1965; Карпюк Р.М., 1967; Орловский Б.И., Шипин Г.Е., 1967; Мягкова Т.В., 1968; Торбин И.М., Чернухина Е.В., 1968; Скибинский Н.Д., 1973; Гончаров

А.В., 1977; Сорокина Т.Т., Васильев А.В., 1976; Казанбиев Н.К. и др., 1989; Бальцева Л.Б. и др., 1990; Суханов Д.С., 2013; Баласанянц Г.С. с соавт., 2014; Iwainky H. et al., 1965).

Булавин С.П. (1982, 1983) установил, что изониазид является высокотоксичным соединением для мышей (ЛД<sub>50</sub> равна 178,0 ± 6,79 мг/кг), кроликов (ЛД<sub>50</sub> равна 203,0 ± 30 мг/кг), телят (ЛД<sub>50</sub> равна 215,0 ± 17,3 мг/кг) и обладает умеренной кумуляцией. В. Rubin, J. Burke (1953) отрицают кумулятивные свойства препарата при длительном введении его в организм животных.

Побочное действие изониазида клинически проявляется преимущественно в первые два месяца химиотерапии (Симонян Л.К., 1968; Рабухин А.Е., 1970). Авторы склонны объяснить это адаптацией организма к извне вводимым веществам. Вместе с тем клинические наблюдения, проведенные Шмелёвым Н.А. с соавторами (1974), свидетельствуют о том, что проявление отрицательного влияния противотуберкулёзных препаратов на макроорганизм, возможны и в более поздние сроки химиотерапии.

При первых экспериментальных испытаниях побочных действий изониазида Steenken, Wolinsky (1952), Benson M. et al. (1952) установили, что в больших дозах они токсичны в первую очередь для нервной системы и печени. Этот факт находит полное подтверждение в целой серии работ, выполненных значительно позже. Так, по данным Смирнова Г.А. (1977), Борисовой М.И. (2003), Brouet, Marche (1964), токсическое влияние изониазида на центральную нервную систему наблюдается у 4,5 – 20,5% людей подвергнутых химиотерапии. Оно проявляется в виде головной боли, головокружений, повышенной возбудимости, эйфории, нарушении сна, реже вегетативных расстройств – потливость, сухость во рту, запоры, затруднённое мочеиспускание и другие проявления (Визель А.А., 1998).

По данным Brouet, Marche (1964), выраженное отрицательное действие изониазида на нервную систему чаще наблюдается у пациентов с органическими

поражениями её или при повышении лечебной дозы в 5 раз (Литвиенко В.В., 1982; Jeanne C., 1965; Chibault F.D., 1973).

У лабораторных животных первые клинические симптомы отравления проявляются через 30 – 40 минут после введения токсической дозы препарата. У мышей, крыс, морских свинок и кроликов острое отравление проявляется в виде внезапного стремления к бегу, которое потом переходит в клонические, а затем титанические судороги (Беленький М.Л., Витониль М.А., 1954, 1958; Ахундов М.А., 1972, 1973; Булавин С.П., 1982; Rubin V. et al., 1952).

В основе механизма токсического действия на центральную нервную систему лежит способность вызывать дефицит фосфорилированной формы витамина В<sub>6</sub> – пиридоксальфосфата за счет образования непосредственной химической связи между гидразиновой группы изониазида и альдегидной группы пиридоксаля с образованием комплекса – пиридоксаль-изоникатингидразона. В результате подавляется активность пиридоксалькиназы, катализирующей превращение пиридоксаля и пиридоксина в соответствующие фосфаты. Поскольку пиридоксаль-5-фосфат является простетической группой аминотрансфераз и декарбоксилаз, ферментов, осуществляющих переаминирование и декарбоксилирование аминокислот, то в нервных клетках нарушаются процессы азотистого и энергетического обменов. Нарушение азотистого обмена ведет к снижению в нервных клетках концентрации гаммааминомасляной кислоты (ГАМАК) – тормозного медиатора центральной нервной системы и накоплению аммиака (Мамолат А.С., Ченушенко Е.Ф., 1975; Перельман М.И., 2004; Killam K., Bain J., 1957; Straub F., 1975). Свободный аммиак обладает сильной токсичностью для нервной системы, так как он способствует восстановительному аминированию альфакетоглутаровой кислоты в митохондриях и удалению её посредством этого из окислительно-восстановительных процессов цикла трикарбоновых кислот. Возникающий дефицит тормозного медиатора и накопление аммиака, ведущего к нарушению процессов дыхания в нервных клетках, обуславливает судорожные приступы (Guillerman J., 1964).

Торможение специфических декарбоксилаз приводит также к дефициту витамина РР, который необходим для действия ферментов моноаминоксидазы, гистаминазы и дегидрогиназы глютаминовой кислоты. В результате нарушается метаболизм серотонина, гистамина, адреналина, норадреналина, и создаются условия для их накопления в ткани мозга. Нарушение в нейронах соотношения нейромедиаторов и нейрогормонов по современным представлениям составляет патохимическую основу изменений функционального состояния различных структур мозга, нервно-психических и сердечно-сосудистых расстройств (Матлина Э.Ш., 1964; Щелкунов Е.Л., 1967; Капитонов Н.И., 1969; Александровский Ю.А., 1973; Машковский М.Д., 1984; Valzelli V., Garattini S.J., 1968).

Выраженное действие изониазида отмечается и на периферическую нервную систему. Частота возникновения периферических невритов прямопропорциональна повышению дозы вводимого препарата (Шмелёв Н.А., 1960; Рабухин А.Е., 1960; Церлюк П.П., 1974; Biehl J.P., Vieter R.W., 1954).

Бондаревым И.М. и Бартельсоном В.И. (1978) отмечено стимулирующее влияние изониазида на симпато-адреналовую систему в дозе 10 мг/кг, которая сопровождается резким повышением концентрации в крови адреналина и норадреналина. Об этом свидетельствуют данные Carattini S., Grassi C., Montegazza P., Morvill V. (1952), согласно которым при введении изониазида в больших дозах у морских свинок в надпочечниках резко уменьшается содержание аскорбиновой кислоты и увеличивается размер коркового и мозгового слоя (Маждраков Г.и Попхристов П.1973; Vivien J.et al., 1960; Olivas A., 1964).

Относительно побочного влияния изониазида на печень в литературе имеется большое количество противоречивых сведений. Так, согласно исследованиям, проведенным в первые годы применения изониазида, существенных изменений со стороны печени и почек обнаружено не было (Klee P., 1952; Biehl J., Nimitz H., 1954). Хотя имелись указания на то, что изониазид иногда вызывает желудочно-кишечные расстройства (тошноту, рвоту, поносы, запоры) и при этом встречаются нарушения функции печени и альбуминурия.

В отечественной и зарубежной литературе достаточно много сообщений о способности изониазида вызывать серьезные поражения печени (Фирсова Л.П., 1971; Шмелев Н.А., Степанян Э.С., 1977; Яценко Б.П., Мясников В.Г., 1982; Скакун Н.П., Шманько В.В., 1985; Николаев В.П. и др., 1986; Серов В.В., Лапиш К., 1989; Еврохин В.В. и др., 1991; Саджая Л.А., 1999; Вохминцева Л.В., 2009; Удут В.В. с соавт., 2012; Яценков А.И., 2013; Jollons D., Mitchel I., Potter W., 1973; Black M., Mitchell I., Zimmerman H., 1975; Biour M. et al., 1984).

Исследованиями Гуркина А.В., Азаряна Л.Т. и др. (1986) подтверждается, что при внутримышечном десятикратном введении изониазида телятам, в виде эмульсии, с интервалом 10 – 15 дней, в дозе 15 мг/кг массы тела, при гистологическом исследовании в печени и почках обнаружены множественные мелкоочаговые некрозы, а также отмечены пролиферативные и дистрофические изменения паренхимы органов. Поэтому использование изониазида даже в дозе 10 мг на 1 кг массы в течение 3 –4 месяцев требует определенной осторожности и контроля за состоянием этих органов.

Вероятность возникновения тяжелых гепатитов у лиц, принимавших изониазид для химиопрофилактики туберкулёза, послужила основанием для более детального изучения этой проблемы. Основательный, более глубокий подход к изучению побочного влияния изониазида на печень позволили установить, что осложнения после применения этого препарата возникают, как правило, у лиц, быстро метаболизирующих изониазид (Богдельникова И.В., Перельман М.И., 1997, 2004; Evans D.A. et al., 1960,1962; Dufour A. et al., 1964; Hannegren H. et al., 1970; Mitchell I., Thorgeirsson V., 1975).

По данным Pessaure D.и Benhamou J. (1979), гепатиты, вызванные изониазидом, возникают при длительном, ежедневном приеме его в дозах, превышающих 10 мг/кг массы тела. Как правило, гепатотоксические свойства изониазида возникают, когда концентрация его в сыворотке крови превышает 2 мкг/мл (Sauvajet J., Sainte-Laudy I., Canovate A., 1979).

Побочные влияния на печень проявляются в её морфологических и функциональных нарушениях. Так, Содиковым Э.С. и Гапонько Л.А. (1968)

установлено, что ежедневное введение изониазида морским свинкам в дозе 5 мг/кг в течение 60 дней вызывает в печени морфологические изменения, сопровождающиеся образованием микронекробиозов и микронекрозов, уменьшением содержания гликогена, РНК и меди. Функциональные расстройства печени сопровождаются нарушением антитоксической, обменной и секреторной функций. Так, Скакун Н.П. и Шманько В.В. (1985) при ежедневном введении изониазида крысам в дозе 20 мг/кг на 14 и 21 дни установили увеличение активности трансаминаз, которые являются биохимическим эквивалентом повреждения клеточных мембран и их органелл (Копылова Т.Н., Вицупе З.В., 1978). Наряду с этим происходило резкое торможение желчеобразования и умеренное иницирование перекисного окисления липидов клеточных мембран. При этом также изменялся химический состав желчи: снижалась концентрация желчных кислот, холестерина и билирубина. Однако Ортенберг Э.А., Жихарева А.И. (1980); Austerhoff A., Kindler V., Knop P. (1974); Bahre G., Kley R., Holzhueter H. (1975) при длительном применении изониазида не наблюдали повышения активности трансаминаз в сыворотке крови и в печени. Ерохин В.В., Панасек И.А. и Абрамович Н.В. (1991) при лечении 228 человек больных туберкулёзом легких отмечали лекарственный гепатит у 47 (16,3%). При этом морфологическая картина активного хронического лекарственного гепатита характеризовалась лестничными и мостовидными некрозами, гидропической и жировой дистрофией гепатоцитов, вплоть до образования жировых вакуолей.

Вместе с изучением гепатотоксичности изониазида, исследовались и вопросы патогенеза его токсического действия. Установлено, что гепатотоксичность присуща не изониазиду, а его метаболитам – моноацетилгидразину, диацетилгидразину и их нестабильным производным (Николаев В.П. и др., 1986; Timbrell J., Wright I., Baillie T., 1977; Pessayre D., 1982). Эти метаболиты легко взаимодействуют с макромолекулами гепатоцитов – белками, ферментами, нуклеозидами, глутатионом с образованием необратимых комплексов. Выключение из биохимических процессов значительного количества макромолекул гепатоцитов приводит к нарушению обмена веществ, энергии и к

изменению функционального состояния печени (Stone G., Rose M., Ryan A. et al., 1979).

Известно, что все процессы протекаемые в печени и лежащие в основе её функции, являются ферментозависимыми (Саратиков А.С., Скакун Н.П., 1977; Есипенко Б.Е., Жалило Л.И., Костромина А.П. и др., 1983). Поэтому блокада таких ферментов, особенно натрия-, калия-АТФаз, приводит к угнетению секреторной, антитоксической и обменной функций.

Механизм токсического действия изониазида на печень Lee S. и соавторы (2010) и Удут В.В. и соавторы (2012) объясняют тем, что в органе изониазид ацетируется N-ацетилтрансферазой с образованием N-ацетилизониазида, который затем превращается в изоникотиновую кислоту и моноацетилгидразин. Моноацетилгидразин подвергается N-гидроксилированию системой цитохрома P-450. В этой реакции появляется гидразин с высоким гепатотоксическим потенциалом. Изоникотиновая кислота заменяет никотиновую кислоту в реакциях синтеза никотинамидадениндинуклеотида (вместо НАД образуется изо-НАД) с нарушением дыхательной функции митохондрий.

Почки при отравлении изониазидом поражаются значительно реже, чем печень. В лечебных дозах изониазид практически не вызывает патологических нарушений в них (Greenblatt I., Kahn A., 1959), а если они возникают то носят казуистический характер (Ковалев Б.М., 1963).

Определённые сведения имеются о влиянии изониазида на железы внутренней секреции. Как указывают Angel R., Mayer S. и другие (1955), изониазид в больших дозах обладает выраженным антитиреоидным действием, которое сопровождается в снижении основного обмена. В малых количествах он вызывает у крыс и кроликов увеличение веса и повышение функциональной активности щитовидной железы (Фест Т.и др., 1962; Patiala I., Isoloto A., 1955; Pfeifer K., Vizi E., Satory E., 1964).

Препараты изоникотиновой кислоты, в том числе и изониазид, стимулируют гипофизарно-надпочечниковую систему, при этом они действуют как на гипофиз, усиливая выработку адренкортикотропного гормона, так и на

надпочечники (Изаболинская Р.М., 1956; Витониль М.А., 1957; Mordasini E., Eulenberger J., 1972).

По поводу побочного влияния изониазида на функции половых желез, единого мнения нет, и большинство исследователей склонны считать, что отрицательные влияния чаще наблюдаются при длительных применениях изониазида (Zolcinski A., 1962; Poulson E., Robson J., 1963; Y. Awad, 1965).

Изменения, возникающие под влиянием изониазида в нервной системе, инкреторной функции желез внутренней секреции, печени и других органов, своеобразно отражались на морфологических и биохимических показателях крови (Круминец Э.Н., Зайцева Е.И., 1954; Шмелев Н.А., 1959; Либерман С.С., 1960; Rubin V. Et al., 1952; Benson W., Stefko P., Roe M., 1952).

Установлено, что во время лечения ГИНК изменяется белковый состав сыворотки крови, причем содержание альбуминов существенно не меняется, а количество гамма-глобулинов в начале лечения сильно понижается, но через несколько дней возвращается к нормальному содержанию (Фирсова Л.П., 1971). Напротив, Гольбер Л.М. (1958) отмечал, после ежедневного введения изониазида кроликам в течение 30 дней, в дозе 20 мг/кг снижение количества альфа-глобулинов и увеличение гамма-глобулинов. Это подтвердил в своих исследованиях Ахундов Р.А. (1974).

Большое количество отечественных и зарубежных авторов указывает на способность изониазида повышать содержание сахара в крови (Гольбер Л.М., 1958; Изаболинская Р.М. и Когосова Л.С., 1959).

Имеются сведения о влиянии изониазида на показатели жирового обмена. Так, Гельбер Л.М. и Вальрат А.А. (1957), цитировано по Ахундову Р.А. (1974), при внутрибрюшинном введении изониазида кроликам в течение 30 дней, отмечали четкую тенденцию к снижению содержания в крови холестерина. Подобную картину наблюдал Ахундов Р.А. (1974). Однако в его опытах после 30 дней введения препарата содержание холестерина начинало увеличиваться и продолжало расти после прекращения введения препарата.

Наиболее обстоятельные исследования по выявлению побочных влияний изониазида на организм крупного рогатого скота провел Булавин С.П. (1982, 1983). Специальными исследованиями он установил, что максимально переносимая доза препарата для телят составляет 150, химиотерапевтическая – 10 мг/кг, индекс терапевтической широты – 15, что указывает на широкий предел безопасного применения его для крупного рогатого скота. Клинические симптомы острой интоксикации телят изониазидом автор объясняет нарушением функций центральной нервной системы, которые проявляются двигательным возбуждением, затем общим угнетением, угасанием зрительных и слуховых рецепторов, бронхоспазмом, слюнотечением, нарушением координаций движений, тремором скелетной мускулатуры и судорогами клонического и тетанического характера, парезами и параличами конечностей и явлениями асфиксии. При многократном введении изониазида в профилактической дозе 10 мг/кг и однократном - в дозе 100 мг/кг, автором не установлено существенных морфологических и биохимических изменений в крови животных.

#### **1.4 Теоретические и экспериментальные предпосылки практического применения химиопрофилактики в зоне массового распространения туберкулеза крупного рогатого скота**

Распространение туберкулезной инфекции в длительно неблагополучных стадах, настолько своеобразно, что принятые в практике меры приводят не к ликвидации туберкулеза, а лишь к ослаблению эпизоотической напряженности инфекции. Новые случаи заболевания животных туберкулезом заставляют держать подобное хозяйство, как неблагополучное, на особом режиме, в течение длительного времени, а в дальнейшем вынуждают применять более решительные меры, включая единовременную полную замену всего восприимчивого поголовья (Александров Н.А. и соавт., 1974, 1975, Сафин М.А. и соавт., 1992; Хазипов Н.З. и соавт., 1997; Баратов М.О. и соавт., 2007).

Переход на интенсивные методы ведения животноводства также создает новые проблемы и вызывает настоятельную необходимость разработки комплексных систем борьбы с туберкулезом, так как простыми методами добиться положительных успехов в условиях интенсификации и укрупнения хозяйств уже труднее. В этих условиях для борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота необходимо эпизоотологическое обоснование, использование всех средств и методов, имеющихся в нашем распоряжении (Джупина С.И., 1985, 1986, 1987; Смолянинов Ю.И. с соавт., 1986; Коромыслов Г.Ф., 1982, 1983; Урбан В.П., 1983; Косилов И.А. с соавт., 1987; Хайкин Б.Я., 1988; Сафин М.А. с соавт., 2002; Сатторов С.Ф., 2012; Ощепков В.Г. с соавт., 2013).

В подобных ситуациях верный путь к оздоровлению хозяйств - изыскание более эффективных методов борьбы, с включением в комплекс общих санитарно-оздоровительных мер и средств химиопрофилактики (Ротов В.И. и соавт., 1964; Хайкин Б.Я. и соавт., 1983; Донченко Н.А., 2008; Баратов М.О., 2017).

Открытие противотуберкулезных химиопрепаратов, обладающих бактериостатическими и бактерицидными свойствами, расширило возможности для борьбы с туберкулезом и успешно используется во всех странах мира для

лечения и профилактики туберкулеза у людей (Рабухин А.Е., 1970; Шебанов Ф.В., 1976; Фисенко В., 2006; Морозова Т.И. и соавт., 2013; Ким М.Е. и соавт., 2016).

Внедрению химиофилактики в ветеринарную практику первоначально мешали дефицит противотуберкулёзных препаратов и их дороговизна. Однако, с тех пор как выяснилось, что профилактический эффект достигается от сравнительно малых доз, внимание к этим средствам усилилось (Ротов В.И., 1964, 1974; Хайкин Б.Я., 1976).

Опыты по использованию изониазида для профилактики туберкулёза крупного рогатого скота были проведены вначале за границей, а затем в нашей стране. Так, Moretti В., Pedini В. (1953), Bartmann К. (1958), Rosati Т. (1959), Badiali L. (1962) провели опыты на телятах, содержащихся совместно с туберкулёзными коровами, у которых было доказано выделение возбудителей туберкулёза во внешнюю среду. При этом телятам внутримышечно вводили изониазид в дозе 10 мг/кг массы. При туберкулинизации телят и последующем убое было установлено наличие туберкулёзной инфекции у тех животных, которые не получали изониазида, и отсутствие туберкулёза у тех, которым вводили изониазид.

Опыты по химиофилактике туберкулёза с помощью применения изониазида в дозе 4 мг/кг в течение двух месяцев провёл Rosati Т. (1957) на 4 телятах, два из них получали препарат, а два были в контроле. Все телята содержались в контакте с коровами – бактериовыделителями. Через два месяца животные, не получавшие изониазид, дали положительные туберкулиновые реакции, а животные, которым вводили препарат, реагировали на туберкулин отрицательно. При вскрытии и проведении биопробы на морских свинках туберкулёз был обнаружен только у контрольных животных.

По сообщению Kleeberg Н. (1959) при даче изониазида 110 телятам, размещённым в скотном дворе среди туберкулёзных животных, получил отрицательные туберкулиновые пробы у всех подопытных телят. В 1967 году автор провёл опыт на 7000 головах крупного рогатого скота, среди которых 30% положительно реагировали на туберкулин. Через 7 – 10 месяцев непрерывной

дачи изониазида различным группам скота в дозах 10 – 20 мг/кг массы тела большинство ранее реагирующих животных (75%) утратили чувствительность к туберкулину. Распространение инфекции прекратилось в стадах через 2 месяца после дачи препарата.

О производственном применении изониазида при оздоровлении крупного рогатого скота от туберкулёза в Чехословакии сообщил Straka I. (1968). В крупном промышленном хозяйстве телятам перорально задавали препарат в дозе 10 мг/кг в течение 2 месяцев после рождения, при этом до 20 дневного возраста телята содержались совместно с туберкулёзными коровами. В этих условиях из 375 телят, которым давали препарат, 92,4% оказались здоровыми. В контрольной группе туберкулёзом заболело 44% телят.

С начала 60-х годов прошлого столетия и в последующие годы, в ветеринарной практике с целью химиопрофилактики туберкулеза сельскохозяйственных животных в нашей стране начато испытание изониазида, как одного из наиболее эффективных и обладающих высокой бактериостатической активностью туберкулостатиков, широко применяемого во фтизиатрии (Смирнов Г.А., 1969; Ротов В.И. и соавт., 1978; Хайкин Б.Я. и соавт., 1983). Изониазид, являясь наиболее эффективным синтетическим противотуберкулезным препаратом, отличается хорошей переносимостью при лечении больных туберкулезом людей (Васильев Н.А. с соавт., 1990; Перельман М.И. с соавт., 1990, 2004; Ушакова В.А., 2007; Израилова Г.Г., 2011).

Благодаря свойствам высокой бактериостатической и бактерицидной активности, способности проникать в клетки поражённых тканей и органов, отсутствие кумуляции и способности угнетать общую и специфическую резистентность организма, изониазид привлёк пристальное внимание ветеринарных учёных разных стран, которые использовали и используют его в экспериментах по разработке новых методов профилактики и лечения заразных и незаразных заболеваний сельскохозяйственных животных.

В нашей стране первые опыты по применению изониазида для профилактики туберкулёза телят провёл Андрущенко В.А. (1962, 1969). На 353

подопытных и 276 контрольных телятах показана его высокая профилактическая эффективность. Среди подопытных животных заболело 3,9%, а среди контрольных – 34,4%.

Ротов В.И., Богаевский В.М., Рубан М.Д. (1964), для профилактики туберкулёза использовали фтивазид, изониазид и ПАСК в дозах от 5 до 25 мг/кг массы. Дачу химиопрепаратов и заражение животных микобактериями бычьего вида проводили перорально через каждые 3 дня из расчета 1 мг/кг микобактерий бычьего вида. Опыты проводили в течение 5,5 месяцев. Подопытные и контрольные животные подвергались аллергическим исследованиям и контрольному убою. Все подопытные телята не реагировали на туберкулин, а у контрольных животных были выраженные положительные туберкулиновые реакции. При убое через 70, 115 и 160 суток после начала опыта у контрольных животных туберкулёз был подтверждён патологоанатомически, бактериологически и биопробой. У подопытных животных этими же методами туберкулёз не был установлен. При этом была показана высокая эффективность как комбинированного применения различных бактериостатических препаратов (фтивазид, тубазид, ПАСК), так и применение одного изониазида для профилактики заболевания животных туберкулёзом.

Ротов В.И. (1974, 1978) сообщил об оздоровлении 150 хозяйств в 6 областях УССР с использованием туберкулостатических препаратов.

О целесообразности химиофилактики у телят старшего возраста в случае опасности их заражения при контакте с неблагополучными по туберкулёзу животными сообщил Калишин Н.М. (1966).

Учитывая положительные результаты экспериментальных исследований в ряде неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота регионах страны, в системе оздоровительных мероприятий стали широко применять химиофилактику (Ли А.Б. с соавт., 1985; Хазипов Н.З., 1985; Гуркин А.В., 1986).

Так, в Кустанайской области (Казахстан) только в период с 1974 по 1979 годы практикуя химиофилактику изониазидом, выращено более 42,6 тысяч

здоровых телок и оздоровлено 12 крупных совхозов (Пионтковский В.И., 1980; Новак Д.Д., 1983).

За 1976 – 1982 годы в Северном Казахстане химиопрофилактикой тубазидом в системе оздоровительных мероприятий было охвачено 305,4 тысячи телок, выращено 180 тысяч здоровых коров и нетелей, что способствовало оздоровлению 30 крупных длительно неблагополучных по туберкулезу хозяйств. В технологии специализированных ферм по изолированному выращиванию ремонтных телок, в условиях повсеместного эпизоотического неблагополучия по туберкулезу крупного рогатого скота, химиопрофилактика туберкулеза, как вынужденное дополнительное мероприятие, позволила в 95,01 – 99,8% случаев вырастить здоровых ремонтных телок, полученных от коров неблагополучных стад, в том числе и от реагирующих на туберкулин (Пионтковский В.И., Сафин М.А., 1984).

В 1977 – 1979 годах в Омской области при использовании в общем комплексе противотуберкулезных мероприятий тубазидом, путем скармливания и подкожной инъекции в виде 20% эмульсии на рыбьем жире, оздоровлено от туберкулеза 7 хозяйств (Крюков С.Я., 1980).

В неблагополучных по туберкулезу хозяйствах Украины в течение 7 лет применения химиопрофилактики заболевания тубазидной и тубазидно-стрептомициновой эмульсией на витаминизированном кашалотовом жире и рафинированном подсолнечном масле было охвачено свыше 200 тысяч голов крупного рогатого скота, в результате чего оздоровлено 50 хозяйств, в которых через 6 лет не отмечено рецидивов туберкулеза (Дидовец С.Р. с соавт., 1980).

Ли А.Б. (1980) использовал изониазид в дозах 5 и 10 мг/кг для оздоровления ферм крупного рогатого скота, неблагополучных по туберкулезу в Узбекистане. Химиопрофилактика успешно проводилась на 11000 голов крупного рогатого скота.

Химиопрофилактику туберкулеза при выращивании молодняка, полученного от реагирующих на туберкулин коров в Казахстане, успешно проводили Баранников В.М., Кусаинова К.Т., Баркитова К.Е. (1980). Указанные авторы в

эксперименте на 116 подопытных и 104 контрольных животных показали высокую профилактическую эффективность изониазида при туберкулёзе молодняка крупного рогатого скота.

В хозяйствах Ростовской области, неблагополучных по туберкулёзу крупного рогатого скота, Гуркин А.В. (1980) использовал изониазид в дозах 0,6 г на животное (до 10 мг/кг массы). В опытах находилось 1447 животных различных возрастов, которым вводили препарат перорально и подкожно. Установлено, что его применение снижало заболеваемость животных туберкулёзом по сравнению с контролем от 1,8 до 8,6 раза.

Кравец А.Т., Хайкин Б.Я. и др. (1986) утверждают, что при применении тубазидной эмульсии на рыбьем жире при двукратном подкожном введении в течение месяца предохранило от туберкулеза 60% телят, зараженных микобактериями туберкулеза бычьего вида. Во всех случаях и при любом методе введения доза тубазидна должна быть не менее 10 мг на 1 кг массы животного. Проведенные ими исследования показали, что тубазид лучше применять в длительно неблагополучных по туберкулёзу крупного рогатого скота хозяйствах, курсами по 2,5 – 3 месяца и с такими же интервалами между ними до получения двух отрицательных результатов исследования. Применение препарата как профилактического средства в системе противотуберкулезных мероприятий, позволило им оздоровить от туберкулеза ряд хозяйств Омской области с тяжелой эпизоотической обстановкой.

Смолянинов Ю.И. и Кощеев Н.Н. (2001) в экспериментальных условиях установили 100% профилактический эффект применения изониазида в контролируемом опыте с предварительным 3-х кратным заражением возбудителем туберкулёза бычьего вида телят в двухнедельном возрасте. Заболевших животных, профилактируемых изониазидом в течение 45 дней после экспериментального заражения, не было и через 7 месяцев. Но в условиях производства эффективность изониазида оказалась несколько ниже. Это, по их мнению, связано с некоторыми условиями. Так, в хозяйствах с высокой степенью распространения туберкулёза среди всех возрастных групп животных (более

50%), опытные телята содержались не изолированно, а совместно с животными отделений, где проводились опыты. Такое содержание не исключало заражение телят возбудителем туберкулёза от больных животных, и после прекращения курса химиопрофилактики. После окончания курса химиопрофилактики прекращается и защитное действие изониазида и происходит перезаражение большинства животных. Поэтому в данной категории хозяйств среди животных, профилактируемых только изониазидом, в течение 35 дней заболело до 62,5%, а в контрольных – 78%. В то же время в хозяйствах с незначительным распространением туберкулёза (до 10%) заболеваемость в аналогичных группах составляла 1,5 – 2%. При условии изолированного содержания профилактируемых изониазидом телят, исключающего повторного заражения туберкулёзом, исследователи получали 100% профилактический эффект, при заболеваемости в контрольных группах от 8 до 10%.

В свою очередь Хайкин Б.Я., Литовченко А.Н. и другие (1990) при исследовании нового противотуберкулёзного препарата отметили, что при экспериментальном туберкулёзе телят, изониазид в дозах 25 – 50 мг/кг, задаваемый перорально в течение 60 дней, 4 раза в неделю, оказался менее активным и не предотвратил развитие патологического процесса туберкулёзного характера.

При туберкулезе животных испытаны различные способы введения в организм противотуберкулезных препаратов. С целью профилактики туберкулеза у телят раннего возраста тубазид рекомендовано вводить per os с молоком или водой, а животным старших возрастных групп – с комбикормом или в составе кормовых гранул (Кравец А.Т. с соавт., 1979; Ли А.Б., 1980, 1985).

Наряду с пероральным способом применения изониазида в чистом виде, были предложены туберкулостатические препараты для подкожного введения: тубазид в 20% водном растворе, тубазидно-стрептомициновая суспензия на рыбьем жире, пролонгированные формы на полимерной основе (Чепуров К.Л., 1978; Показий А.Г., 1987; Давыдова Т.Н. с соавт., 1990; Донченко Н.А., 2008). Кроме того, Зининой Н.Н. (1991) были предприняты попытки аэрозольного

применения водных растворов изониазида при экспериментальном туберкулезе морских свинок.

По данным Щелканова К.Г. и Аверихина А.И. (1986), тубазид, применяемый телятам подкожно в виде эмульсии из расчета 10 мг сухого вещества на 1 кг массы тела, 1 или 2 раза в месяц, не предохраняет животных от заражения туберкулезом. Противоположный результат показал опыт по применению телятам тубазид в виде порошка, которые ежедневно с молоком получали препарат в дозе по 0,2 г. При вскрытии телят через 7 месяцев после заражения во внутренних органах и лимфатических узлах туберкулезных изменений не установлено. Отмечена лишь незначительная гиперемия подчелюстных, заглоточных, бронхиальных и брыжеечных лимфатических узлов. Авторы утверждают, что тубазид применяемый в виде порошка из расчета 10 мг сухого вещества на 1 кг живой массы, ежедневно, в течение 1,5 месяцев, предохраняет животных от заражения туберкулезом.

По заключению ряда исследователей (Алюшин М.Т. с соавт., 1974; Ветра Ф.Я. с соавт., 1981), дальнейшее совершенствование химиопрофилактики туберкулеза животных возможно с использованием пролонгированных форм изониазида, присоединенного к полимерам, увеличения периода между введениями препарата и повышения их активности путем различных комбинаций.

На основании вышеизложенного, были предложены препаративные формы на пролонгированной основе для профилактики туберкулеза сельскохозяйственных животных. Так, для профилактики туберкулеза у телят разработан препарат Альдозон – аналог изониазида, синтезированный на углеродной матрице. Препарат оказался высокоактивным *in vitro* и *in vivo*, и значительно менее токсичным, чем изониазид, что позволило расширить диапазон его терапевтического действия, не опасаясь побочных реакций со стороны макроорганизма (Приймак А.А., 1987; Власова Е.Е. с соавт., 1988).

На полимерной основе изониазида был синтезирован и противотуберкулезный препарат Ветизон, не обладающий эмбриотоксическим и

тератогенным действием на организм самок белых крыс и развитие плода (Давыдова Т.Н., 1989, 1990).

Увенчались успехом попытки использования при туберкулезе крупного рогатого скота комбинированного и последовательного метода использования химиофилактических средств и вакцины БЦЖ (Хайкин Б.Я., 1980; Кравец А.Т. с соавт., 1980; Кощев Н.Н., 1989, 2000; Жумаш А.С. с соавт., 1995, 2006; Прокопьева Н.И. с соавт., 2006).

Так, Кощев Н.Н. (1989) и Кушалиев К.Ж. (1993), исследуя последовательное применение изониазида и вакцины БЦЖ, отмечали полную защиту телят от заражения высоковирулентной культурой возбудителя туберкулеза бычьего вида. Новорожденные телята в возрасте 10 – 15 дней получали с молоком изониазид один раз в сутки, в дозе 10 мг/кг массы животного в течение 35 дней. Через 10 дней после прекращения дачи изониазида телят вакцинировали вакциной ВЦЖ. По истечению 14 месяцев в неблагополучном хозяйстве с заболеваемостью туберкулезом до 5% всех возрастных групп животных, данный метод позволил защитить от заражения всех опытных телят. При этом в контрольной группе заболело 5,3% животных. В длительно неблагополучном хозяйстве с заболеваемостью туберкулезом более 50% коров и молодняка, метод последовательного применения изониазида и вакцины БЦЖ обеспечил защиту от заражения 77% телят, при этом в контрольной группе заболело 78% животных.

Несмотря на то, что большинство исследований было направлено на усовершенствование мер профилактики туберкулеза у крупного рогатого скота, положительные результаты использования изониазида как химиофилактического средства получены и в свиноводстве (Василенко К.Ф., 1975, 1983), мараловодстве (Капустин Л.А., 1969, 1970; Омарбеков Е.О. 1972), пушном звероводстве (Хайкин Б.Я., 1970, 1973), птицеводстве (Воробьев А.Н., 1973; Емельянов В.А., 1976).

Как химиотерапевтическое средство изониазид применяли и при лечении респираторных заболеваний. Наиболее обстоятельные исследования по

определению эффективности изониазида при бронхопневмонии телят провели Мустакимов Р.Г., Марантиди А.Г. (1979). Авторы испытали эффективность применения изониазида в сравнении с другими лекарственными средствами при лечении серозно-катаральной и катарально-гноющей пневмоний и установили высокий процент выздоровления (98,7 - 100) при всех способах лечения, в том числе с применением изониазида.

Результаты химиопрофилактики неспецифических бронхопневмоний у телят изониазидом, путём групповой дачи его внутрь в дозе 25 мг/кг массы 1 раз в неделю с 1 по 60 день жизни, в сравнении с новарсенолом показали, что заболеваемость телят сокращается в 1,7 раза, а по сравнению с чистым контролем – в 2,2 раза. При этом изониазид не оказывал тормозящего или стимулирующего влияния на рост и развитие телят, однако, способствует достоверному повышению содержания белка, глобулинов, каротина и витамина С. Литвенко В.В. (1982) при респираторных болезнях рекомендует телятам изониазид в дозе 15 мг/кг.

В большинстве своем препаративные формы противотуберкулезных средств, синтезированы на основе гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) и поэтому в определенной степени являются токсичными для организма человека и животных, вызывая функциональные и морфологические нарушения в органах и тканях (Лысов А.В. с соавт., 2006; Васильева О.А с соавт., 2008; Овчаренко Л.П. с соавт., 2009; Гриценко Н.С. с соавт., 2009; Израилова Г.Г., 2011). В связи с этим, поиск новых противотуберкулезных препаратов, а также средств и методов снижающих токсические свойства препаратов, весьма актуальны и в настоящее время (Донченко Н.А., 2003, 2008; Бочарова И.В., 2014).

С целью снижения токсичности в 1990 году Гладких С.П. (цит. по Мишиной А.В. с соавт., 2012) синтезирован новый препарат – феназид, который представляет собой хелатный комплекс двухвалентного железа и изониазида. При этом, благодаря блокаде хелатного центра молекулой железа, феназид окисляется в крови и не метаболизируется в печени, как изониазид. Феназид полностью лишен гепатотоксических побочных эффектов, практически не вызывает ангио- и

нейротоксических осложнений и с успехом применяется в РФ у больных туберкулезом с сопутствующей патологией печени, сердечно-сосудистой и нервной системы, а также у больных пожилого и старческого возраста (Мишин В.Ю., 2007; Хаертынова И.М., 2008).

Как аналоги изониазида также были синтезированы метазид и фтивазид, которые по сравнению с изониазидом, медленнее всасываются из желудочно-кишечного тракта и при их применении создается несколько меньшая концентрация ГИНК в крови. Применяют их при впервые выявленном туберкулезе легких внутрь, в комбинации с другими основными препаратами, в том числе при непереносимости изониазида, как альтернативные препараты (Мишин В.Ю. с соавт., 2007).

На основе изониазида был синтезирован туберкулостатический ветеринарный препарат пролонгированного действия – ниазон, который представляет собой прозрачный, вязкий водный раствор, в состав которого входят изониазид, гидразон изониазида, полимер – пролонгатор метилцеллюлоза, стабилизатор трилон-Б, антимикробные вещества и вода для инъекций (Донченко Н.А., 2008). Препарат, по данным авторов, не обладает эмбриотоксическим, тератогенным, мутагенным, гонадотоксическим, и аллергизирующим действием, не угнетает аллергическую активность к туберкулину и стабилен при хранении в течение года. Применение ниазона в системе оздоровительных мероприятий при туберкулезе крупного рогатого скота по схеме 20 мл/кг живой массы подкожно, 4 раза каждые 10 дней, а затем ежемесячно, до прекращения выявления реагирующих на туберкулин животных, позволяет оздоровить стадо в течение 12 - 16 месяцев (Донченко Н.А. с соавт., 2001, 2002).

Таким образом, приведенные экспериментальные и производственные материалы показали, что в условиях промышленного развития животноводства, когда существующие методы ликвидации туберкулеза бывают недостаточно эффективны, четкая и обоснованная система химиопрофилактики в общем оздоровительном комплексе, может способствовать получению высокого профилактического эффекта в борьбе с туберкулезом крупного рогатого скота.

## 2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» в период с 2005 по 2017 годы. Производственные опыты проведены в 5 неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота животноводческих предприятиях Республики Татарстан в соответствии с тематическим планом научно – исследовательской работы кафедры (№ госрегистрации: АААА-А17-117033110122-2).

Объектами исследования являлись статистико–эпизоотологическая информация, лабораторные животные и молодняк крупного рогатого скота сельскохозяйственных предприятий республики, патологический материал (кровь, паренхиматозные органы, лимфатические узлы), синтезированные противотуберкулезные препараты.

Предмет научного анализа - интерпретация полученных результатов эпизоотологического обследования, лабораторных исследований патологического материала опытных и контрольных групп животных (гематологические, биохимические, бактериологические, фармакологические, патоморфологические).

В опытах было использовано 210 белых мышей, 383 белые крысы, 16 кроликов, 143 морских свинок и 129 телят. Животные для опытов подбирались по принципу аналогов, с учётом пола, породы, возраста и живой массы тела (Западнюк И.П. и др., 1974). Группы опытных и контрольных животных содержали с соблюдением правил, норм кормления, ухода и гуманного обращения, согласно ветеринарно-санитарным требованиям (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»). В период проведения исследований во всех группах животных поддерживали одинаковые условия кормления и содержания. Порядок и последовательность постановки экспериментов, схемы, вид и количество используемых при этом животных, дозировки, кратность применения изучаемых препаратов приведены в соответствующих разделах работы.

Соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен) и 3 группы новых химических соединений: изоцианураты, триазины и  $\alpha,\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканы синтезированы в ФГБУ «Институт органической и физической химии имени А.Е. Арбузова» Казанского научного центра РАН.

Тубофен – химическое соединение, состоящее из гидразида изоникотиновой кислоты (основное вещество) и фосфиновой кислоты, и представляет собой мелкокристаллический порошок, желтоватого цвета, без характерного запаха, хорошо растворимый в воде.

Аликон (2,4-диамино-6-(карбамоилметилсульфинилметил)-1,3,5-триазин) – химическое соединение - лидер, относящееся к группе триазинов, структурных аналогов предлагаемых соединений нет. Представляет собой мелкокристаллический порошок белого цвета, без запаха, плохо растворимый в воде.

Линарол (1- [5- (карбазоилметилсульфинил)– пентил ])- 3, 5-диметилизоцианурат) - химическое соединение - лидер, относящееся к группе изоциануратов, структурных аналогов предлагаемых соединений нет. Представляет собой порошок желтоватого цвета, без запаха, хорошо растворимый в воде.

Линарол Ф-1 (1,4-бис(амидометилсульфинил)бутан) - химическое соединение - лидер, относящееся к группе  $\alpha,\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканов, структурных аналогов предлагаемых соединений нет. Представляет собой порошок белого цвета, без запаха, хорошо растворимый в воде.

Все изучаемые химические соединения при соблюдении условий хранения (сухое, защищенное от света место, при температуре от 0 до +30°C) не теряют свою химическую и фармакологическую активность в течение 24 месяцев, что подтверждено качественными реакциями и экспериментами на животных.

При изучении минимальной ингибирующей концентрации препаратов, определении лекарственной устойчивости микобактерий к исследуемым

химическим соединениям, а также в опытах с воспроизведением экспериментального туберкулёза у лабораторных животных использовали музейные, официально зарегистрированные штаммы культур патогенных и атипичных микобактерий: *M. bovis* (штамм 14), *M. tuberculosis* (штамм H37Rv), культура клинического штамма микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), культуры *M. avium*, *M. fortuitum* и *M. terrae*. Кроме того, в работе были использованы штаммы микобактерий, изолированные нами от реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота, в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах Республики Татарстан.

Определение противомикробной и фунгистатической активности изучаемых химических соединений проводили, используя музейные бактериальные штаммы и штаммы грибов: *Staphylococcus aureus* 209p, *Escherichia coli* F-50, *Bacillus cereus* 8035, *Candida albicans* 855-653, *Trichophyton mentagrophytes* - 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119.

Выполнены следующие объемы диагностических исследований: аллергические (на лабораторных животных и крупном рогатом скоте) – 6288, патологоанатомические – 737, бактериологические – 1557.

Мониторинг эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в республике проводился путем изучения ветеринарной отчетности Главного управления ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан. Анализ собранной информации осуществлялся согласно методическим указаниям и учебным пособиям по порядку проведения эпизоотологического исследования сельскохозяйственных предприятий (Джупина С.И., 1991; Кисленко В.Н., 2000; Бакулов И.А. и др., 2008).

Определение минимальной ингибирующей концентрации исследуемых химических соединений в отношении микобактерий туберкулеза проводили в опытах *in vitro*, используя метод последовательных серийных разведений (Прешин Г.Н., 1971) и стандартную радиометрическую ростовую систему ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson). Основными параметрами для оценки действия изучаемых химических соединений служили способность микобактерий

к росту и размножению. Оценка ростовых свойств микобактерий определялась по скорости и количеству выросших колоний. Активность препаратов оценивали визуально, по наличию или отсутствию роста микроорганизмов в питательной среде.

Лекарственную устойчивость микобактерий к исследуемым препаратам проводили в сравнительном аспекте по отношению с уже известными и используемыми в медицинской практике противотуберкулезными препаратами: изониазид, рифампицин, офлоксацин, стрептомицин, этамбутол и этионамид, используя метод абсолютных концентраций на среде Левенштейна – Йенсена без содержания в ней крахмала, согласно приказа МЗ РФ №109 от 21.03.2003. Лекарственно-устойчивыми к исследуемым препаратам, согласно критериям, рекомендованным указанной инструкцией, считали культуры, дающие рост при критической концентрации препаратов – 1 мкг/мл питательной среды. Культура считается чувствительной к той концентрации препарата, которая содержится в среде, если число колоний микобактерий, выросших на одной пробирке с препаратом, не превышает 20, а посевная доза соответствует  $1 \times 10$  микробных тел. Культура расценивается как устойчивая к данной концентрации препарата, только при наличии на пробирке с этой концентрацией 20 колоний и более, при обильном росте в контрольной пробирке, не содержащей лекарственного препарата.

Оценку спектра действия, степени антибактериальной и фунгистатической активности синтезированных противотуберкулезных препаратов Тубофена, Аликона, Линарола и Линарола Ф-1 проводили согласно «Руководству по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (2005).

Общетоксическое действие изучаемых средств определяли на лабораторных животных согласно «Методических указаний по доклиническому изучению общетоксического действия лекарственных препаратов» (1985).

Острую токсичность и безвредность испытуемых соединений изучали на белых беспородных мышах и крысах обоего пола, используя методику

Ступникова А.А. (1975), при однократном внутрижелудочном введении. Наблюдение вели в течение 14 суток. Критерием токсичности служили изменения общего состояния животных, клиническая картина общей интоксикации, летальный исход и патологоанатомические изменения в органах. Каждая доза препарата испытывалась на 6 животных, при этом соблюдали условия, предусмотренные методикой: интервалы между изучаемыми дозами были фиксированными, для испытания каждой дозы использовали одинаковое количество животных (Першин Г.Н., 1950).

Для изучения кумулятивного действия препаратов использовали субхронический тест по Lim R. et al. (1961). При этом также проводили изучение динамики средней массы крыс. После окончания опыта животные подвергались патологоанатомическому вскрытию и исследованию внутренних органов по методике Жарова А.В. и Шишкова В.П. (1995).

Кровь для гематологических и биохимических исследований у крыс брали из сосудов хвоста, обрезая его кончик, у морских свинок и кроликов – из краевой ушной вены, а у телят из яремной вены, соблюдая правила асептики.

Гематологические исследования проводили общепринятыми методами (Кудрявцев А.А. и др., 1969; Меньшиков В.В., 1987). При этом подсчёт количества эритроцитов и лейкоцитов производили в камере Горяева, а содержание гемоглобина определяли гемометром Сали (Жаворонков Л.П., Зяблицкий В.М., 1980).

Биохимические исследования крови, а в частности определение количества глюкозы, общего белка, АЛТ, АСТ, мочевины и креатинина проводили с использованием биохимического анализатора Selectra Junior. Для определения количества альбуминов и глобулинов крови использовали устройство для электрофореза сыворотки крови УЭФ – 01 «Астра». Для определения количества общего белка также использовали и рефрактометр ИРФ – 22 (Колб В.Г., Камышников В.С., 1976), для определения количества глюкозы в сыворотке крови на отдельных этапах работы использовали методику, предложенную Кудрявцевым А.А. (1952).

Изучение влияния препаратов на антитоксическую функцию печени проводили, используя методику Розина Д.Г. (1964). В основе данной методики лежит способность различных препаратов влиять на продолжительность сна животных, вызванного гексеналом, который инактивируется в печени.

Оценку местно-раздражающего действия изучаемых соединений проводили в опытах на кроликах согласно методическим указаниям (МУ 2196-80) «К постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» (утв. Минздрав СССР 11.08.1980).

Эмбриотоксическое и тератогенное действия препаратов оценивали в соответствии с «Методическими указаниями по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (1986).

Аллергизирующие свойства соединений изучали в соответствии с методическими указаниями (МУ 1.1.578-96) «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы (утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 21.10.1996)

Для изучения хронической токсичности препаратов использовали «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (2005). При выборе доз руководствовались результатами, полученными при исследовании острой токсичности.

Изучение фармакокинетики Линарола Ф-1 в плазме крови экспериментальных животных и процесса распределения его по органам и тканям проводили, используя метод количественного определения с использованием радиоизотопной метки, для чего предварительно осуществляли химический синтез по вводу трития в структуру препарата (Zolotarev Yu.A. et al., 2010).

Для изучения специфической антимикобактериальной активности и определения профилактических доз синтезированных химических соединений на

заражённых лабораторных животных воспроизводили экспериментальный туберкулёз морских свинок, по методике Першина Г.Н. (1971). Продолжительность курса химиопрофилактики составляла два месяца. Препараты испытывали в сравнении с наиболее эффективным туберкулостатиком первого ряда – изониазидом.

При оценке результатов профилактической эффективности препаратов, учитывали степень поражения тканей в месте введения инфекционного материала, лимфатических узлов, легких, печени, селезенки, а также высеваемость микобактерий туберкулеза из внутренних органов и регионарных лимфатических узлов после убоя инфицированных животных (Першин Г.Н., 1971). Показатели макроскопических туберкулезных изменений лимфатических узлов и внутренних органов регистрировали по четырехбалльной системе: от + до +++++. Суммарный индекс поражения для каждого животного представляет собой сумму показателей поражения всех её органов (при подсчете индекса + принимали за единицу). Максимальная величина суммарного индекса поражения составляет 22. Показатели высеваемости микобактерий из легких, печени, селезенки и регионарного лимфатического узла, оценивали также по четырех балльной системе: от + до +++++. Путем сложения этих показателей, получали суммарный индекс высеваемости для одного животного, максимальная величина которого составляет 16. Индексы поражения и высеваемости микобактерий для каждой группы животных вычисляли путем сложения суммарных индексов всех морских свинок и деления полученной величины на число животных в группе.

Аллергические исследования морских свинок и крупного рогатого скота, проводили с использованием ППД туберкулина для млекопитающих (стандартный раствор), изготовленный Курской биофабрикой. Учет реакции проводили через 72 часа после введения аллергена, в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (утвержденным Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ 18.11.2002 г.) и «Инструкцией по применению туберкулина очищенного (ППД) для млекопитающих, стандартного

раствора» (утвержденной Заместителем руководителя Россельхознадзора РФ 30.09.2011 г.).

Для проведения патоморфологических и гистологических исследований кусочки печени, селезенки, почек, легких и сердца фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и этанол-формалине. Уплотнение фиксированного материала проводили путем заливки в парафин и изготавливали гистологические срезы толщиной 5 – 10 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином (Меркулов Г.А., 1969; Хонин Г.А., Барашкова С.А. и др., 2004).

Бактериоскопические и бактериологические исследования патологического материала от зараженных животных проводили в соответствии с рекомендациями по «Лабораторной диагностике туберкулеза» (разработанными Всесоюзным научно-исследовательским институтом бруцеллеза и туберкулеза животных) и «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (утвержденным Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ 18 ноября 2002 г.).

Изучение профилактической противотуберкулезной эффективности Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 проводили на новорожденных телятах, 3 - 12 дневного возраста, полученных от не реагирующих и реагирующих на туберкулин коров из хозяйств Республики Татарстан неблагополучных по туберкулезу. В течение двух месяцев (срок молочного периода) телятам вводили противотуберкулезные препараты, вели за ними клинические наблюдения, проводили гематологические и биохимические исследования крови, ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез. По окончании курса химиопрофилактики проводили контрольный убой телят. Туши и внутренние органы животных подвергались патологоанатомическому осмотру, внутренние паренхиматозные органы (кусочки печени, легких, почек, селезенки) и лимфатические узлы (заглоточные, предлопаточные, средостенные, бронхиальные, брыжеечные, паховые) от них исследовали лабораторными методами на туберкулез (бактериоскопический, бактериологический, гистологический, биопроба).

Статистическую обработку цифрового экспериментального материала проводили в программе Microsoft Excel, по показателям средних значений ( $M \pm m$ ). Достоверность устанавливали по методу Стьюдента-Фишера (Плохинский И.А., 1970).

При выполнении отдельных этапов работы принимали участие: Заслуженный деятель науки РФ и РТ, доктор ветеринарных наук, профессор Сафин М.А.; кандидаты химических наук Фаттахов С.Г. и Шулаева М.М.; доктор медицинских наук, профессор Валиев Р.Ш.; доктор биологических наук, профессор Тремасов М.Я.; доктор ветеринарных наук, профессор Залялов И.Н.; доктор ветеринарных наук Хамзин Р.А.; кандидат ветеринарных наук, доцент Садыков Н.И., за что автор выражает искреннюю благодарность!

## **2.2 Результаты собственных исследований**

### **2.2.1 Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан**

Интенсивность развития показателей эпизоотического процесса (количество неблагополучных пунктов, уровень заболеваемости животных и др.) определяются активностью звеньев эпизоотической цепи, которые находятся под непосредственным воздействием не только природно-географических факторов, но в значительной степени определяются экономическими, хозяйственно-организационными условиями, особенностями ведения животноводства и уровнем проводимых противоэпизоотических мероприятий. Поэтому необходимо систематически изучать и анализировать эпизоотическую обстановку, выяснять эпизоотическое состояние конкретных территорий по отдельным инфекционным болезням животных.

В связи с вышеизложенным, нами проведен мониторинг и анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан. В результате проведенного исследования было установлено, что в прошлом многие районы республики в той или иной степени, были неблагополучны по туберкулезу. Широкие аллергические исследования скота на туберкулез начаты в республике в 1934 году, тогда было исследовано 150370, а в 1935 году – 223383 животных. Установлен туберкулез в 355 селениях. Значительное количество неблагополучных пунктов по туберкулезу крупного рогатого скота было выявлено и в последующие годы. В 1939 году зарегистрировано 79 туберкулезных очагов, в которых было выявлено 438 клинически больных животных, 160 из них пало. В 1940 году вновь выявлено 63 неблагополучных пункта, 338 больных животных и 271 – пало от туберкулеза. В это время аллергический метод диагностики еще слабо внедрялся в ветеринарную практику, поэтому официальная статистика не отражала истинной эпизоотической обстановки по туберкулезу крупного рогатого скота в Татарской АССР. Но и эти неполные данные свидетельствуют о широком распространении инфекции.

Отечественная война нанесла серьезный ущерб ветеринарно-санитарному состоянию общественного животноводства. За четыре года войны, туберкулинизации было подвергнуто всего 625896 животных. Причем наибольшее количество реагирующих животных (5100 голов) было выделено в 1945 году.

В послевоенные годы шло нарастание количества выявляемых неблагополучных пунктов. Так, на 01.01.1949 года в республике зарегистрировалось 380 неблагополучных пунктов, а в течение года вновь было выявлено 318. Ежегодно на передержке в хозяйствах оставался большой туберкулезом скот, достигая в отдельные годы 43,7% (1955 г.), 46% (1958г.). Из общего количества исследованных животных до 1963 года в среднем 25% положительно реагирующего скота оставалось на следующий год в зимних помещениях без надлежащей изоляции.

Таким образом, причинами распространения туберкулеза крупного рогатого скота явилось: отсутствие изоляторов, отвечающих ветеринарно-санитарным требованиям; передвижение скота без учета эпизоотической обстановки; использование для пополнения стада молодняка, полученного от больных животных; плохая санация животноводческих помещений и территории ферм.

В дальнейшем борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в регионе шла с переменным успехом. Динамика возникновения и оздоровления неблагополучных пунктов по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан в период с 1960 по 2000 годы приведены в таблице 4. Из таблицы 4 видно, что в этот период эпизоотическая обстановка по туберкулезу крупного рогатого скота в республике оставалась напряженной. Давность и множественность очагов инфекции, а также систематическое инфицирование животных, в силу нарушения хозяйствами профилактических мер снижали эффективность проводимых оздоровительных мероприятий.

Таблица 4 - Динамика возникновения и оздоровления неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов в Республике Татарстан (1960-2000 гг., по данным Главного Управления ветеринарии МСХиП РТ)

Годы	Состояло на учете неблагополучных пунктов на 1 января	Выявлено новых пунктов	Выявлено больных животных	Зараженные к числу исследованных (%)	Оздоровлено неблагополучных пунктов
1960	52	23	1651	0,33	7
1961	68	34	1327	0,39	15
1962	87	21	2083	0,5	17
1963	91	23	2894	0,5	25
1964	89	39	4682	0,8	30
1965	98	68	10250	1,7	28
1966	138	34	10248	1,5	54
1967	118	16	6102	0,9	66
1968	68	23	4744	0,6	37
1969	54	34	7537	1,6	19
1970	69	43	7885	1,2	30
1971	82	26	7026	0,8	28
1972	80	15	5364	0,55	21
1973	74	12	3241	0,5	30
1974	56	18	3282	0,3	26
1975	48	18	3252	0,3	40
1976	26	26	3150	0,28	37
1977	15	10	1200	0,12	11
1978	14	9	1506	0,15	8
1979	15	7	1687	0,15	6
1980	16	4	1991	0,15	5
1981	15	6	1580	0,15	12
1982	9	10	871	0,03	10
1983	9	4	742	0,03	1
1984	12	7	978	0,04	7
1985	12	2	1836	0,07	5
1986	9	2	840	0,03	6
1987	5	2	1320	0,05	7
1988	-	3	170	0,006	2
1989	1	24	3162	0,12	6
1990	19	10	2272	0,18	16
1991	13	14	4908	0,2	-
1992	27	6	2552	0,11	5
1993	28	7	1501	0,16	5
1994	30	4	1407	0,2	13
1995	21	7	1262	0,3	9
1996	19	19	4090	0,17	7
1997	31	3	1419	0,05	13
1998	21	1	811	0,03	10
1999	12	17	2914	0,12	11
2000	18	-	3208	0,32	18

За 40 лет (с 1960 по 2000 годы) было оздоровлено 726 неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов, в которых заболело 130479 животных. Наиболее тяжелым, в эпизоотическом плане, для республики был период с 1960 по 1975 годы. В указанный период по республике в целом состояло на учете ежегодно более 50 неблагополучных пунктов. Кроме того, к указанному количеству неблагополучных пунктов ежегодно добавлялись новые пункты (рисунок 1).

Как видно из рисунка 1, наблюдалась цикличность возникновения новых очагов туберкулезной инфекции, которая регистрировалась с интервалами 5-7 лет. Линия многолетнего тренда неблагополучия крупного рогатого скота по туберкулезу, т.е. общая однонаправленная тенденция изменения интенсивности эпизоотического процесса в республике, стремилась к убыванию.

Максимальное количество неблагополучных пунктов по туберкулезу крупного рогатого скота было выявлено в 1965 и 1966 годах. К началу 1966 года в 20 из 36 районов РТ было 138 неблагополучных пунктов. В течение года было оздоровлено от туберкулеза 54 пункта, вновь выявлено - 34, в которых заболело 10248 животных, т.е. 1,5% к числу исследованных. Таким образом, только за 2 года (1965 - 1966 гг.), было выявлено порядка 20498 больных животных, что по «нынешним меркам» может сравниться с поголовьем скота 2 – 3 районов республики.

Из года в год в неблагополучных хозяйствах оставалось на передержке довольно большое количество больного скота. Он размещался в совершенно не отвечающих санитарным требованиям изоляторах. Следует отметить, что к концу 1987 года эпизоотическая ситуация становится менее напряженной. Так, за этот год было выявлено всего 2 неблагополучных пункта, оздоровлено 7. Впервые на начало 1988 года не осталось на передержке больного скота и не было ни одного неблагополучного по туберкулезу пункта. Этот период характеризовался успешным осуществлением комплекса противотуберкулезных мероприятий.

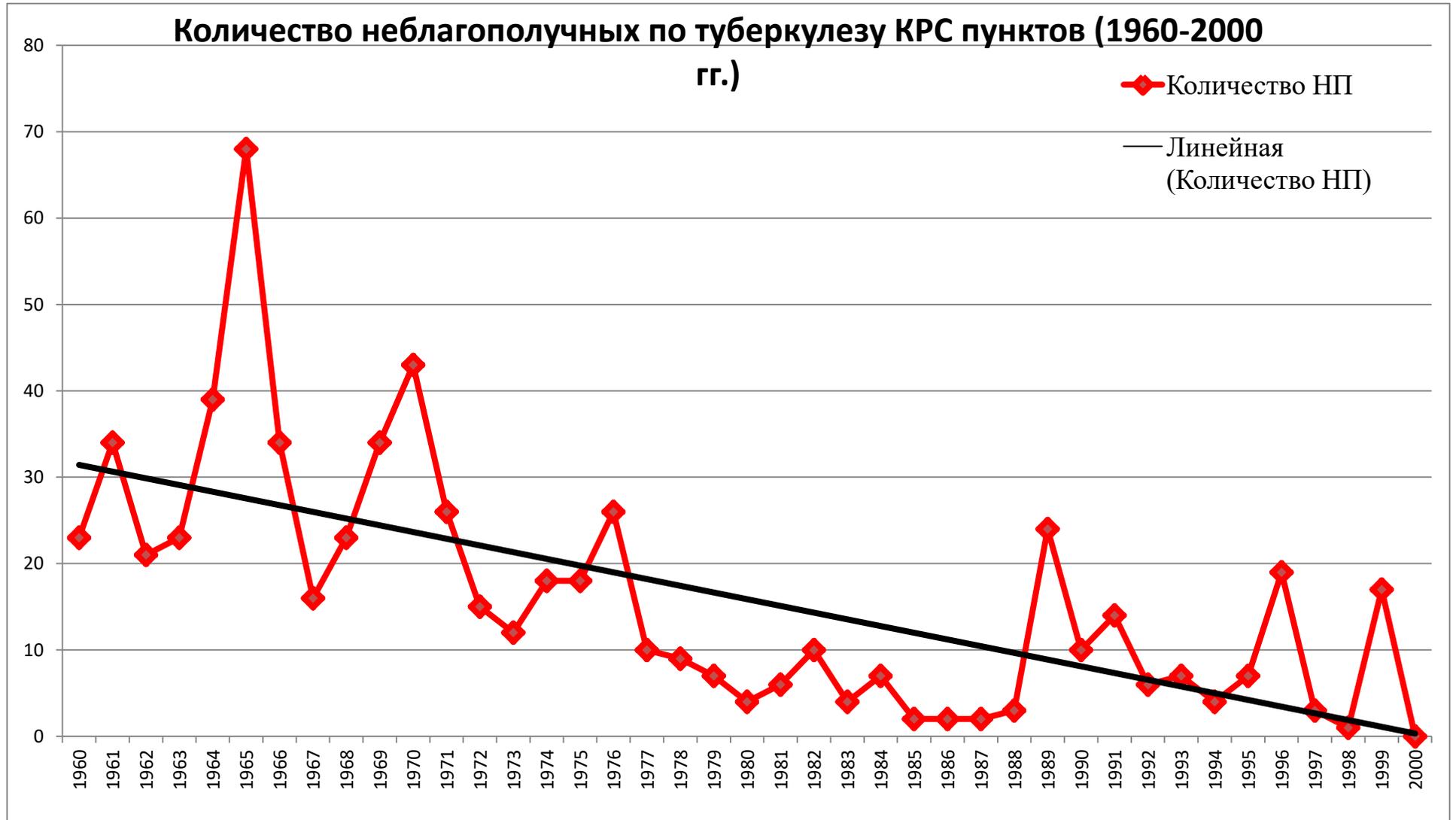


Рисунок 1 - Ежегодная динамика регистрации первичных неблагополучных пунктов по туберкулезу КРС в РТ (1960-2000 гг.)

Однако в течение 1988 года вновь появилось 3 неблагополучных пункта, которые явились началом нового роста количества неблагополучных пунктов и реагирующего на туберкулин скота. Если на начало 1991 года оставалось 13 неблагополучных пунктов, то к 1 января 1995 года их уже стало 21, в 1997 – 31, а вот к 2000 году - осталось 18.

Многолетние наблюдения за распространением туберкулеза крупного рогатого скота в республике позволили прийти к выводу о недостаточной эффективности проводимых противотуберкулезных мероприятий, объективному течению эпизоотического процесса. Несмотря на весьма успешное проведение оздоровительных мероприятий, эпизоотическая ситуация по туберкулезу оставалась стабильно неблагополучной, появилась проблема длительно неблагополучных хозяйств, где туберкулез регистрировался стационарно по 10-15 лет, оздоровить такие предприятия общепринятыми методами не удавалось.

В период с 1995 по 2000 годы были усилены профилактические мероприятия по охране благополучных хозяйств от заноса в них туберкулезной инфекции, строго осуществлялись мероприятия по своевременному и полному выявлению и удалению из стада больных и инфицированных животных. Все ранее неблагополучные пункты по туберкулезу крупного рогатого скота находились под строжайшим ветеринарным контролем, особенно хозяйства Бавлинского, Верхнеуслонского, Дрожжановского, Камско-Устьинского, Муслимовского, Новошешминского и Черемшанского районов РТ, где туберкулез имел значительное распространение, а в ряде хозяйств на протяжении десятка лет регистрировался стационарно. В хозяйствах, длительно неблагополучных, с сильным поражением скота туберкулезом более эффективным оказалась полная замена маточного поголовья здоровым молодняком. В результате проведенной ветеринарной службой республики работы к 2000 году были оздоровлены последние 18 неблагополучных по туберкулезу пунктов, новых пунктов в этот год выявлено не было.

В период с 2000 по 2016 годы борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в РТ шла с переменным успехом. Динамика регистрации первичных

неблагополучных пунктов по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан, в период с 2000 по 2016 годы отражена в таблице 5.

По результатам, отраженным в таблице 5, видно, что эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота, в сравнении с предыдущим периодом исследования (1960-2000 гг.), значительно улучшилась. За 16 лет наблюдения в республике выявлено 45 неблагополучных пунктов. Из 43 районов республики туберкулез регистрировался только в 16. Причем, заболевание уже не регистрировалось в некоторых районах, которые имели статус «длительного неблагополучия» (Бавлинский, Верхнеуслонский, Камско-Устьинский и др.). Максимальное количество неблагополучных пунктов было зарегистрировано в 2001 и 2013 годы, в которые выявлено 11 и 12 пунктов, соответственно. По количеству первичных неблагополучных пунктов, «лидером» оказался Черемшанский район, в котором за 16 лет было выявлено 9 очагов инфекции, причем 8 из них было зарегистрировано в 2013 году.

За исследуемый период были годы, когда новые неблагополучные пункты по туберкулезу крупного рогатого скота в республике не регистрировались (2000, 2003, 2006, 2011 и 2012 годы), однако и в это время оставались неблагополучные хозяйства, в которых заболевание было зарегистрировано ранее.

На основании результатов эпизоотологического мониторинга туберкулеза крупного рогатого скота в РТ, в период с 2000 по 2016 годы, нами построена эпизоотическая кривая, отображающая годовые изменения динамики эпизоотического процесса при данном заболевании, как отражение изменения числа новых неблагополучных пунктов за исследуемый период (инцидентность), рисунок 2.

Таблица 5 - Динамика регистрации первичных неблагополучных пунктов (инцидентность) по туберкулезу КРС в РТ в период с 2000 по 2016 годы

№ п/п	Районы РТ	Количество неблагополучных пунктов по годам:																
		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
1	Алексеевский			1											2	1		
2	Алькеевский																	5
3	Альметьевский					1					1							
4	Дрожжановский		6															
5	Заинский						1										1	
6	Кайбицкий					1												
7	Лаишевский									2							1	
8	Лениногорский		3								1							
9	Мамадышский								1									
10	Менделеевский											1						
11	Муслюмовский			1														
12	Н.-Шешминский															1		
13	Нурлатский														1			
14	Тетюшский														1			
15	Черемшанский						1								8			
16	Чистопольский		2															
Всего по годам:		0	11	2	0	2	2	0	1	2	2	1	0	0	12	2	3	5

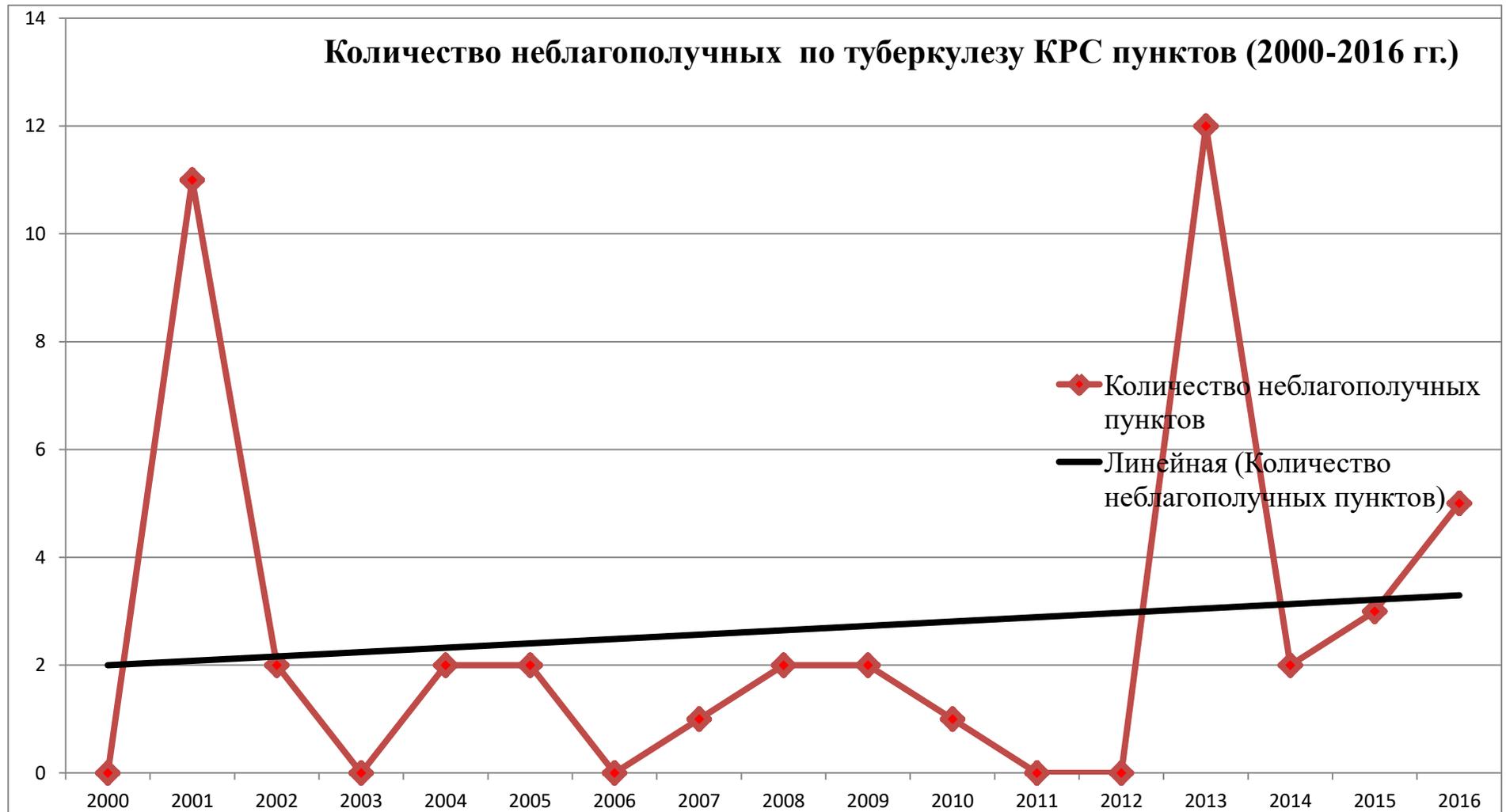


Рисунок 2 - Ежегодная динамика регистрации первичных неблагополучных пунктов по туберкулезу КРС в РТ (2000-2016 гг.)

Как видно из рисунка 2, эпизоотическая кривая за период наблюдения имеет весьма широкую амплитуду. Линия многолетнего тренда, т.е. общая однонаправленная тенденция изменения эпизоотического процесса (неблагополучия) при туберкулезе КРС в республике, имеет склонность к нарастанию. Это может быть обусловлено целым рядом факторов:

1. Неудовлетворительным осуществлением общих противоэпизоотических и ветеринарно-санитарных мероприятий (профилактическое карантинирование вновь поступивших животных, очистка помещений и территории ферм от навоза, антисанитарное содержание животных и др.);
2. Нарушением в проведении специальных противоэпизоотических мероприятий (несвоевременные диагностические исследования, передержка больного скота в неблагополучных стадах, несоблюдение режима обеззараживания молока и обраты на молокоперерабатывающих предприятиях и на фермах);
3. Неконтролируемым завозом племенного молодняка из неблагополучных по данному заболеванию регионов;
4. Запоздалой диагностикой туберкулеза и несвоевременным проведением противотуберкулезных мероприятий, а также преждевременным снятием ограничений по туберкулезу до достижения полного оздоровления хозяйств;
5. Неполным и не комплексным проведением противотуберкулезных мероприятий;
6. Низкой естественной резистентностью организма животных, в следствие нарушения технологий содержания и кормления.

В результате изучения динамики количества неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов за период с 2000 по 2016 годы, нами составлена карта территориального расположения неблагополучных по данному заболеванию пунктов, с целью определения нозоареала болезни (рисунок 3).

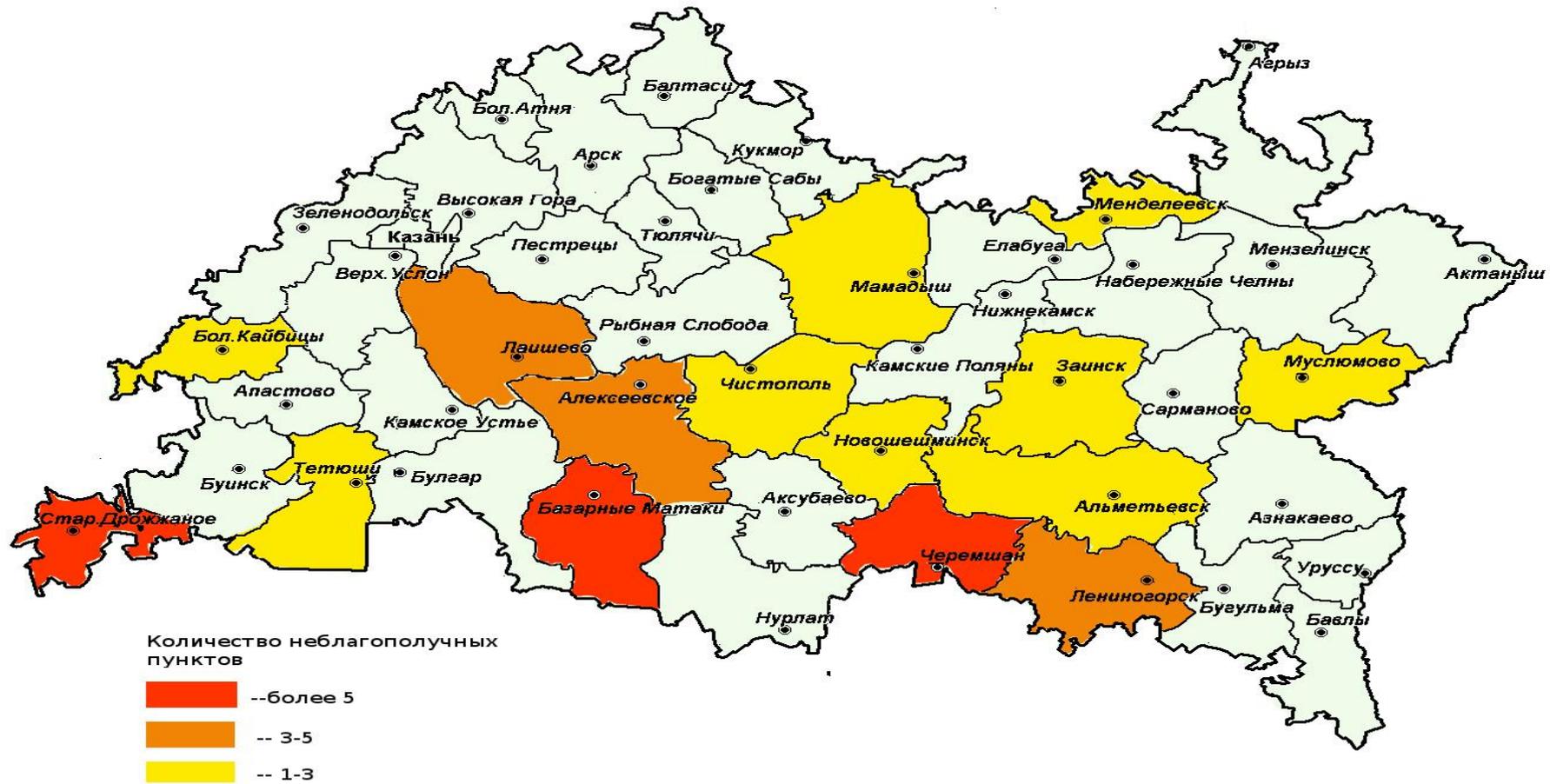


Рисунок 3 - Картограмма эпизоотической ситуации по туберкулезу КРС в районах РТ за период с 2000 по 2016 годы.

В результате анализа этой картограммы, нами установлено, что неблагополучные по туберкулезу пункты территориально приурочены к определенной местности: т.е. расположились в основном на юге, и разрозненно (небольшими группами – «очагами») в центральной части республики.

Так, в районах Предволжья и Предкамья (Арский, Атнинский, Балтасинский, Высокогорский, Зеленодольский, Кукморский, Сабинский, Тюлячинский и др.) заболевание скота протекает в виде энзоотии или проявляется спорадически, в таких хозяйствах после удаления выявленных больных животных достигается полное оздоровление стад и редко когда наблюдаются рецидивы болезни.

Более тяжелое по широте охвата поголовья и количеству неблагополучных пунктов течение туберкулезной инфекции наблюдается в Заволжье и Закамье. Это Алькеевский, Алексеевский, Дрожжановский, Лениногорский, Черемшанский, Чистопольский и другие районы. В указанных зонах регистрируется выраженная мозаичность поражения отдельных территорий и животноводческих ферм. Проведение оздоровительных мер в ряде хозяйств этой зоны связано с большими усилиями и значительными затратами. Именно здесь ранее имелись стационарные неблагополучные пункты и, как правило, в оздоровленных от туберкулеза хозяйствах через 3-5 лет вновь регистрировались рецидивы болезни.

Несмотря на большие усилия, предпринимаемые для профилактики и ликвидации туберкулеза животных, в республике на протяжении многих лет эта инфекция остается непобежденной. Она нарушает деятельность многих сельскохозяйственных предприятий и представляет серьезную опасность для людей.

Учитывая сложность эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота и отсутствия перспективы в ближайшее время на оздоровление неблагополучных пунктов, были начаты всесторонние исследования по изучению возможности специфической профилактики туберкулеза молодняка с помощью противотуберкулезных препаратов.

Обобщая данные по возникновению и распространению туберкулеза крупного рогатого скота, необходимо отметить, что для организации мероприятий

по профилактике и ликвидации этой инфекции необходимо в каждом случае выявить пути заноса возбудителя туберкулеза, всесторонне изучить эпизоотическую ситуацию, механизмы заражения скота, закономерности и особенности развития эпизоотического процесса. Это все необходимо учитывать при составлении конкретного плана борьбы с этой инфекцией.

Противотуберкулезные мероприятия должны носить активный, наступательный характер. Необходимо энергично и комплексно проводить работу по выявлению и удалению из стада больных животных - источников возбудителя, с последующим тщательным многократным оздоровлением внешней среды. Кроме того, необходимо организовать изолированное выращивание молодняка и надежную защиту его от заражения туберкулезом. В этом плане наилучшей мерой защиты должна стать химиопрофилактика туберкулеза у телят молочного периода, которая позволит получить поголовье скота свободное от возбудителя. Проводимые нами в последние годы комплексные мероприятия с применением химиопрофилактики у молодняка крупного рогатого скота значительно улучшили эпизоотическую ситуацию по туберкулезу в республике и способствовали оздоровлению длительно неблагополучных по этой инфекции пунктов. Эти данные будут представлены в следующих разделах работы.

## **2.2.2 Определение туберкулостатической активности Тубофена, изоциануратов, триазинов и $\alpha,\omega$ – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканов**

### **2.2.2.1 Определение туберкулостатической активности Тубофена**

Туберкулостатическая активность Тубофена была изучена *in vitro* на 3 видах микобактерий туберкулёза (музейных штаммах: *Mycobacterium bovis* (штамм 14), *Mycobacterium tuberculosis* (штамм H37Rv) и *Mycobacterium fortuitum*) в концентрации препаратов от 10 до 0,018 мкг/мл. В качестве дополнительного контроля, исследовали также и туберкулостатик первого ряда - изониазид.

Минимальную ингибирующую концентрацию Тубофена изучали используя метод последовательных серийных разведений по общепринятой в бактериологии методике (Першин Г.Н., 1971). Для этого в пробирках, подлежащих посеву, готовили двукратные разведения препаратов, предварительно растворяя их в 96<sup>0</sup> спирте из расчета 10 мг препарата в 10 мл спирта (разведение 1:1000). Далее растворы с препаратами в количестве 0,1 мл вносили в 9,9 мл питательной среды Сотона и получали первое разведение 1:100000, являющееся исходным. Путем последовательного переноса 5 мл жидкости из предыдущей пробирки в последующую, содержащую 5 мл питательной среды Сотона, готовили следующие разведения препаратов: 5,0; 2,5; 1,25; 0,6; 0,3; 0,15; 0,075; 0,037 и 0,018 мкг/мл. Параллельно этому готовили аналогичные разведения препаратов со средой Сотона, содержащей 1 мл лошадиной сыворотки.

Тест культуры стандартизировали по стандарту БЦЖ, содержащему 5 мг бацилл в 1 мл. Полученную взвесь разводили средой Сотона 1:10 и использовали для дальнейших посевов, путём внесения 0,2 мл разведенной взвеси (0,1 мг бацилл) в каждую опытную пробирку. За титр активности изучаемого вещества принимали то его наибольшее разведение, или ту наименьшую концентрацию, которые полностью подавляли рост микобактерий туберкулёза.

Оценка ростовых свойств микобактерий определялась по количеству выросших колоний, которая обозначалась в в крестах по схеме, предложенной

Першиным Г.Н.: обильный рост (+++); глубинный рост штаммов менее обилён, осадок меньших размеров, комочки культуры меньше чем в контроле (++); глубинный рост в виде слабозаметного осадка, зерна мелкие в небольшом количестве (+); полный бактерицидный эффект, когда засеянная культура не даёт роста (-).

Результаты исследования бактериостатической активности противотуберкулёзных препаратов отражены в таблице 6. Из данных таблицы 6 видно, что бактериостатическая активность тубофена высока и не уступает таковой изониазида. Тубофен в концентрации 0,075 мкг/мл оказывал полное бактериостатическое действие на штамм 14 *M. bovis* и штамм H37Rv *M. tuberculosis* как на чистой питательной среде, так и с добавлением в неё лошадиной сыворотки.

Концентрации Тубофена 0,037 и 0,018 мкг/мл с теми же штаммами, на среде Сотона и среде Сотона, содержащей раствор лошадиной сыворотки, оказывали лишь частичное подавление размножения микобактерий туберкулёза в виде слабо заметного осадка с мелкими зёрнами.

В свою очередь, изониазид оказывал полное бактериостатическое действие на штамм 14 *M. bovis* и штамм H37Rv *M. tuberculosis* только при концентрации препарата 0,15 мкг/мл среды. Причем штамм H37Rv *M. tuberculosis* оказался более устойчив к изониазиду, чем штамм 14 *M. bovis*, и в концентрации 0,037 мкг/мл рост культур микобактерий туберкулёза практически не отличался от таковых в контрольных пробирках как на среде Сотона, так и с добавлением в неё лошадиной сыворотки. Концентрации изониазида 0,075; 0,037 и 0,018 мкг/мл на среде Сотона и среде Сотона, содержащей лошадиную сыворотку, оказывали лишь частичное подавление размножения микобактерий туберкулёза штамма 14.

Атипичные микобактерии *M. fortuitum*, оказались не чувствительны к испытуемым препаратам даже в концентрациях 10 мкг/мл. В контрольных посевах рост тест культур был обильный, характерный для каждого вида микобактерий.

Таблица 6 - Показатели туберкулостатической активности Тубофена in vitro

Наименование препарата	Тест-культура	Наличие сыворотки	Минимальная концентрация препаратов, мкг/мл										Контроль
			10	5	2,5	1,25	0,6	0,3	0,15	0,075	0,037	0,018	
Тубофен	M.bovis штамм 14	—	—	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	+++
Тубофен		+	—	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	+++
Изониазид		—	—	—	—	—	—	—	—*	+	+	++	+++
Изониазид		+	—	—	—	—	—	—	—*	+	+	++	+++
Тубофен	M.tuber- culosis штамм H37Rv	—	—	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	+++
Тубофен		+	—	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	+++
Изониазид		—	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	++	+++
Изониазид		+	—	—	—	—	—	—	—*	+	++	++	+++
Тубофен	M.fortu- itum	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Тубофен		+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Изониазид		—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Изониазид		+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Примечание: \* – титр активности.

### 2.2.2.2 Оценка бактерицидных свойств Тубофена

С целью изучения бактерицидного действия Тубофена, также использовали метод последовательных серийных разведений. Взвесь микобактерий туберкулёза штамма 14, стандартизованную по стандарту БЦЖ вносили в пробирки с питательной средой Сотона, содержащие различные концентрации Тубофена. Пробирки помещали в термостат, при температуре 37<sup>0</sup>С и через 1, 3, 6, 24 часа и 2, 5 и 8 суток содержимое бактериальных пробирок переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при 3000 оборотов в минуту, в течение 15 минут. Осадок после удаления физиологического раствора пересевали в 2 пробирки со средой Левенштейна-Йенсена. Посев выдерживали в термостате при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 2,5 месяцев. Отсутствие в этот срок колоний микобактерий туберкулёза свидетельствовало о бактерицидном действии соответствующих концентраций Тубофена.

Результаты исследования бактерицидной активности Тубофена отражены в таблице 7. Из данных таблицы 7 видно, что препарат в минимальной концентрации – 0,75 мкг/мл оказывает полное бактерицидное действие на штамм 14 микобактерий туберкулёза бычьего вида, только при максимальном времени контакта – 8 суток. При воздействии на штамм микобактерий минимальной концентрации Тубофена в течение 5 суток, на питательной среде Левенштейна-Йенсена обнаруживались лишь единичные колонии (частичный бактерицидный эффект). Частичное бактерицидное действие Тубофена впервые начало проявляться через 6 часов контакта препарата со штаммом микобактерий туберкулёза в концентрациях 50,0; 25,0 и 12,5 мкг/мл. Полная гибель всех микобактерий туберкулёза бычьего вида наступала через 5 суток при концентрации препарата 6,2 мкг/мл. При максимальном сроке экспозиции Тубофена с микобактериями туберкулёза (8 суток), отмечалось выраженное бактерицидное действие препарата во всех экспериментальных концентрациях. Во всех контрольных пробирках отмечался сплошной рост микобактерий туберкулёза бычьего вида.

Таблица 7 - Показатели бактерицидной активности Тубофена in vitro

Время контакта культуры и препарата	Разведение препарата, мкг/мл							Контроль
	50	25	12,5	6,2	3,1	1,5	0,75	
1 час	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3 часа	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
6 часов	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
24 часа	-	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
2 суток	-	-	+	++	+++	+++	++++	++++
5 суток	-	-	-	-	+	++	++	++++
8 суток	-	-	-	-	-	-	-	++++

Условные обозначения: - отсутствие роста;

+ - от 1 до 10 колоний;

++ - от 11 до 30 колоний;

+++ - от 31 до 100 колоний;

++++ - сплошной рост.

### 2.2.2.3 Определение туберкулостатической активности изоциануратов

Изучение туберкулостатической активности изоциануратов в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv проводили, используя стандартную радиометрическую ростовую систему ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson).

Содержимое пробирки MGIT – это питательный бульон, благодаря которому достигается ускоренный рост микобактерий. Пробирка содержит 7 мл стерильного питательного бульона Мидлбрук 7H9, в который перед использованием вносится обогатительная добавка ВАСТЕС MGIT OADC (олеиновая кислота, альбумин, декстроза и каталаза). Для предотвращения контаминации добавляли MGIT PANTA.

Кроме жидкой среды, в пробирке содержится бескислородный флюорохром - трис-4,7-дифенил-1,10-фенантролин пентагидрат хлорида рутения, помещенный на дно пробирки и покрытый силиконом. Во время бактериального роста внутри пробирки происходит поглощение свободного кислорода и его замещение углекислым газом. По мере расходования свободного кислорода прекращается ингибирование флюорохрома. Флюоресценция становится видимой при облучении пробирки УФ светом и автоматически регистрируется фотодатчиками, встроенными в прибор. Интенсивность свечения прямо пропорциональна уровню расходования кислорода активно делящимися клетками в среде. Детекция роста микобактериальных культур проводится каждый час с помощью программного обеспечения Epicenter (BD, USA) и регистрируется в единицах роста (GU) или в относительных единицах флюоресценции (ОЕФ).

Система ВАСТЕС MGIT 960 расценивает пробирку как положительную, если количество живых микроорганизмов в ней достигло 100 000 на 1 мл среды (GU > 75). Пробирка инкубировалась при температуре 37 °С с последующим анализом.

Для определения минимальной ингибирующей концентрации 45 исследуемых химических соединений, относящихся к изоциануратам, в отношении микобактерий туберкулеза, готовили их исходные растворы в диметилсульфоксиде (ДМСО) и добавляли в пробирки MGIT в количествах,

обеспечивающих получение конечных концентраций 50,0; 25,0; 10,0; 5,0; 1,0; 0,5; 0,1 и 0,05 мкг/мл среды. В виду дороговизны проводимых исследований 20 химических веществ под номерами с 26 по 46 исследовали лишь в минимальных концентрациях – 0,1 и 0,05 мкг/мл среды.

Культуру микобактерий туберкулеза штамма H37Rv, выращенную на плотной яичной среде, растирали в пробирке и суспензировали в 0,9% стерильном растворе поваренной соли. Через 20 минут после отстаивания взвесь микроорганизмов отбирали пипеткой и переносили в другую пробирку. Необходимую оптическую плотность, соответствующую 5-му стандарту мутности (в 1 мл суспензии, соответствующей пятому стандарту оптической плотности, содержится  $5 \times 10^8$  микробных тел) получали добавлением в пробирку физиологического раствора. Стандартизированную суспензию микобактерий добавляли в среду из расчета 0,2 мл на одну пробирку.

Для сравнения проводили аналогичные исследования с туберкулостатиком первого ряда – изониазидом. В качестве контроля использовали:

1 - среды без добавления штамма микобактерий туберкулеза, но с добавлением 0,2 мл физиологического раствора – контроль №1;

2 - среды без добавления испытуемых соединений, но с добавлением растворителя (диметилсульфоксида) и штамма микобактерий туберкулеза – контроль №2;

3 - среды без добавления испытуемых соединений и растворителя (диметилсульфоксида), но с добавлением суспензии микобактерий туберкулеза штамма H37Rv – контроль №3.

Все пробирки инкубировали при 37°C в приборе. Наличие или отсутствия роста микобактерий прибор регистрировал ежедневно в течение 11 суток. Если в указанный период роста микобактерий не отмечалось, то наблюдения проводили до 21 суток. Некоторые концентрации химических соединений для большей достоверности исследовали повторно. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) синтезированных соединений определяли по результатам исследования на Bactec MGIT 960 как наименьшую концентрацию, которая

сдерживала рост микобактерий на сутки по сравнению с контрольными пробирками.

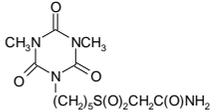
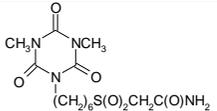
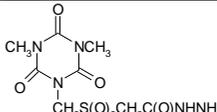
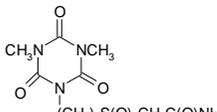
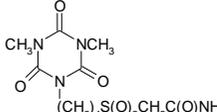
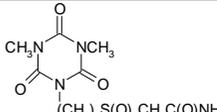
Все выросшие культуры были подвергнуты контролю на видовую специфичность. Для контроля специфичности роста культуры микобактерий осуществляли визуальный просмотр положительных пробирок (среда прозрачная, на дне пробирки зернистость или облако культуры) и микроскопию по Цилю-Нильсену. Во всех положительных образцах был подтвержден рост культуры микобактерий туберкулезного комплекса. При посеве осадка на кровяной агар рост культуры через сутки инкубации не визуализировался, что свидетельствовало об отсутствии в пробирке посторонней микрофлоры. Подтверждение или отсутствие роста культуры микобактерий туберкулеза и отсутствие контаминации неспецифической микрофлорой позволило считать результаты эксперимента адекватными.

Результаты анализа антимикобактериального действия исследуемых изоциануратов на приборе Bactec MGIT 960 приведены в таблице 8.

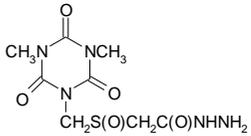
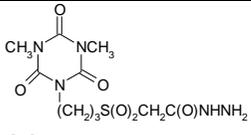
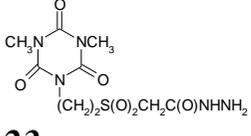
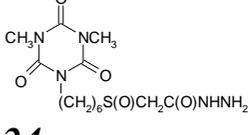
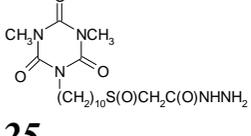
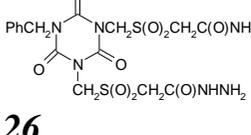
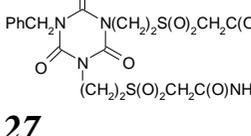
Из таблицы 8 следует, что большинство испытанных химических соединений обладают бактериостатическим действием в отношении микобактерий туберкулеза. Однако не все испытуемые соединения оказывают выраженное и продолжительное ингибирующее действие. Так, химические соединения под номерами 1, 2, 6, 8, 12, 16, 18, и 19 оказывали лишь частичное бактериостатическое действие на штамм микобактерий лишь в больших концентрациях – 50 мкг/мл среды в течение 4 суток. На 5 сутки эксперимента отмечался резкий и обильный рост микобактерий туберкулеза.

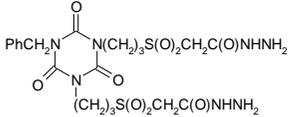
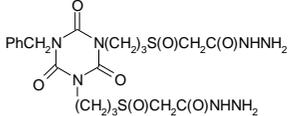
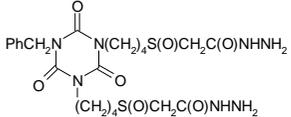
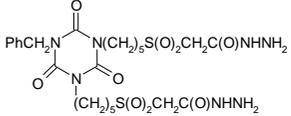
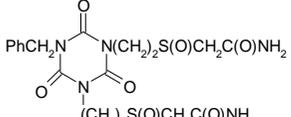
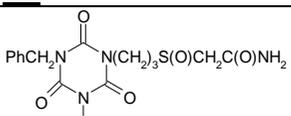
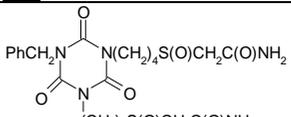


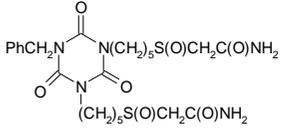
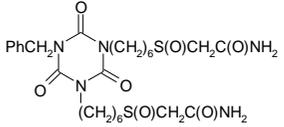
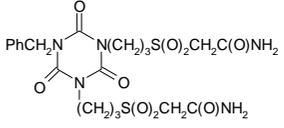
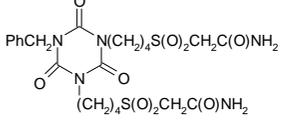
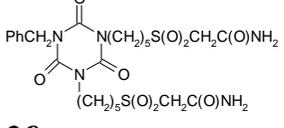
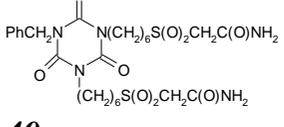
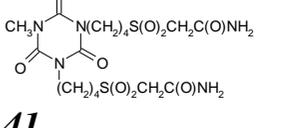


1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
 <b>11</b>	50 25 1	0 0 0	0 0 0	0 4 15	30 39 20	30 39 23	Нет роста						
 <b>12</b>	50 25	0 0	0 0	0 5	44 23	48 23	50 23	54* 23	55*				
 <b>13</b>	25 10 5 1 0,5 0,1	0 0 0 0 0 0	5 4 0 0 0 0	5 5 10 16 25 35	8 7 16 39 41 43	8 7 23 39 46 43	8 7 37 41 52 47	8 7 44 41 52 47	8 7 44 41 52 47	8 7 44 41 52 47	10 7 44 41 52 47	18 7 44 41 52 47	Нет роста  Рост на 17 сутки
 <b>14</b>	50 25 10 5 1 1 0,5	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	20 25 14 20 20 18 25	48 55 30 39 44 24 40	53 55 30 39 44 24 40	59 60 30 39 54 33 40	65 62 30 39 54 33 40	65 62 30 39 54 33 45	65 62 30 39 54 33 51	65 62 30 39 54 33 53	65 62 30 59* 54 33 55*	Нет роста  Рост на 17 сутки
 <b>15</b>	50 25 10 5 1	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	15 20 21 20 18	23 35 41 43 34	23 43 41 43 52	23 68 42 47 63	23 93* 42 47 73	23 42 47 73	23 42 47 73	23 42 47 73	23 42 52* 75*	Рост на 17 сутки
 <b>16</b>	50 25 5 1	0 0 0 0	0 0 0 0	21 14 12 12	40 35 33 33	40 47 50 52	41 62 71 75	41 76* 83* 85*	41 41	41 43	43 49*		



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
 <b>21</b>	50 25 10 5 1	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 30 11 10 15	14 63 20 17 48	14 92 84 84 65	55 138 124 112 87	55 197* 158* 124* 98*	55	55	55	55	Рост на 17 сутки
 <b>22</b>	10 1	0 0	0 0	19 0	36 5	42 5	57 5	65 5	68 55	69 55	69 55	69 55	Нет роста
 <b>23</b>	10 1	0 0	0 0	0 0	16 10	16 10	16 10	16 20	16 40	16 40	16 40	16 40	Нет роста
 <b>24</b>	10 1	0 0	0 0	10 10	10 15	10 15	20 15	30 45*	30	30	30	30	Нет роста
 <b>25</b>	10 1	0 0	0 0	30 0	32 20	32 20	32 22	34* 22	22	22	22	22	Нет роста
 <b>26</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	4 14	30* 33	40*					
 <b>27</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 3	21 17	42* 38*					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
 <b>28</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	18 3	32 15	39* 35*					
 <b>29</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4 20	4 22	4 22	4 23	4 23	4 23	Нет роста Нет роста
 <b>30</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	5 0	25 0	38* 31*					
 <b>31</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1	0 4	0 15	0 15	0 15	0 15	Нет роста Нет роста
 <b>32</b>	0,1 0,05	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	3 24	5 29*	20	21	21	21	Нет роста
 <b>33</b>	0,1	0	0	0	35*								
 <b>34</b>	0,1	0	0	20	35	37	38	38	40	40	40	40	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
 <b>35</b>	0,1	0	0	1	5	5	5	12	12	12	12	12	Нет роста
 <b>36</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	25 24	30 29*	37*					
 <b>37</b>	0,1 0,1	0 0	0 0	0 0	0 0	24 20	28 35	31* 35	35	35	35*		
 <b>38</b>	0,1	0	0	0	0	22	30	30*					
 <b>39</b>	0,1	1	10	10	35	35	36	37	37*				
 <b>40</b>	0,1	0	0	0	0	12	27	40	40	40	40	40	
 <b>41</b>	0,1	0	0	0	13	30*							

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<chem>CC1=NC(=O)N(CS(=O)CC(=O)NN)C1=O</chem> <b>42</b>	0,1	0	0	0	0	37	39	42	42	43	43	43	
<chem>CC1=NC(=O)N(CS(=O)CC(=O)NN)C1=O</chem> <b>43</b>	0,1	0	0	10	15	40	42*						
<chem>CC1=NC(=O)N(CS(=O)CC(=O)NN)C1=O</chem> <b>44</b>	0,1	0	0	0	10	25	35*						
<chem>CC1=NC(=O)N(CS(=O)CC(=O)NN)C1=O</chem> <b>45</b>	0,1	0	0	1	1	25	26	30	35	35	35	35	
<chem>CC1=NC(=O)N(CS(=O)CC(=O)NN)C1=O</chem> <b>46</b>	0,1 0,05	0 1	0 1	0 15	0 27	0 31	0 32	1 41	2 48*	2	2	2	Нет роста
Контроль №1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Контроль №2		0	0	116*									
Контроль №3		0	0	216*									

Примечание: \* - радиометрическая ростовая система ВАСТЕС МГИТ 960 сигнализирует о выраженном росте микобактерий туберкулеза, проба оценивается как положительная и мониторинг прекращается.

Химические соединения под номерами 3, 4, 5, 13, 15, 17, 20, 21 и 24 оказывали бактериостатическое действие на микобактерии туберкулеза только при высоких концентрациях испытуемых веществ в питательной среде (50, 25 и 10 мкг/мл). В малых концентрациях (1, 0,5 и 0,1 мкг/мл) отмечался обильный рост микобактерий туберкулеза уже на 4 - 5 сутки исследований.

В свою очередь, химические соединения под номерами 9, 10, 11, 14, 22, 23, 25, 29, 31, 32, 34, 35, 40, 42, 45 и 46 оказали выраженное и продолжительное ингибирующее действие в отношении микобактерий туберкулеза даже в небольших концентрациях – 0,1 мкг/мл среды.

Например, соединение № 46 – 1-[5-(карбазоилметилсульфинил)-пентил]-3,5-диметилизоцианурат (названный авторами - Линарол) проявил наиболее выраженное бактериостатическое действие на микобактерии туберкулеза в концентрации 0,1 мкг/мл среды и полностью подавил рост возбудителей туберкулеза в течение 6 суток. На 7 сутки уровень роста микобактерий достиг отметки 1 ОЕФ и к окончанию опыта оставался на уровне 2 ОЕФ. Даже в концентрации 0,05 мкг/мл среды данное соединение оказывало частичное ингибирующее действие на микобактерии туберкулеза. В течение первых 2 суток рост микобактерий составил 1, на 3 сутки - 15, на 6 - 32 и на 8 – 48 ОЕФ.

Изониазид в аналогичной концентрации (0,1 мкг/мл среды) сдерживал рост культуры возбудителя туберкулеза лишь в течение 2 суток. На 3 сутки рост микобактерий штамма H37Rv в этих пробирках достиг отметки 25 ОЕФ и в последующие сроки наблюдения увеличивался, пока на 4 сутки не достиг отметки 50 ОЕФ.

В контрольных пробирках №1 (среды без добавления штамма микобактерий туберкулеза, но с добавлением 0,2 мл физиологического раствора) роста микобактерий туберкулеза не отмечалось. В контрольных пробирках №2 (среды без добавления испытуемых соединений, но с добавлением растворителя (диметилсульфоксида) и штамма микобактерий туберкулеза) рост культуры на 3 сутки исследований достиг 116 ОЕФ. В контрольных пробирках №3 (среды без добавления испытуемых соединений и растворителя (диметилсульфоксида), но с

добавлением суспензии микобактерий туберкулеза штамма H37Rv) отмечался обильный рост микобактерий, который на 3 сутки достигал отметки 216 ОЕФ.

Таким образом, большинство исследованных соединений, относящихся к изоциануратам, обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv, а некоторые из них, например 1-[5-(карбазоилметилсульфинил)-пентил]-3,5-диметилизоцианурат (Линарол) проявляют свою антимикобактериальную активность на уровне туберкулостатика первого ряда – изониазида.

#### **2.2.2.4 Определение туберкулостатической активности триазинов**

Изучение туберкулостатической активности триазинов в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv проводили, используя стандартную радиометрическую ростовую систему ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson).

Для определения минимальной ингибирующей концентрации 3 исследуемых химических соединений, относящихся к триазинам, в отношении микобактерий туберкулеза, готовили их исходные растворы в диметилсульфоксиде (ДМСО) и добавляли в пробирки MGIT в количествах, обеспечивающих получение конечных концентраций 0,1 мкг/мл среды, в виду дороговизны проводимых исследований. Культуру микобактерий туберкулеза штамма H37Rv, соответствующую 5-му стандарту мутности добавляли в среду из расчета 0,2 мл на одну пробирку.

Для сравнения проводили аналогичные исследования с туберкулостатиком первого ряда – изониазидом. В качестве контроля использовали:

1. среды без добавления штамма микобактерий туберкулеза, но с добавлением 0,2 мл физиологического раствора – контроль №1;
2. среды без добавления испытуемых соединений, но с добавлением растворителя (диметилсульфоксида) и штамма микобактерий туберкулеза – контроль №2;
3. среды без добавления испытуемых соединений и растворителя (диметилсульфоксида), но с добавлением суспензии микобактерий туберкулеза штамма H37Rv – контроль №3.

Все пробирки инкубировали при 37С° в приборе. Наличие или отсутствия роста микобактерий прибор регистрировал ежедневно в течение 11 суток. Если в указанный период роста микобактерий не отмечалось, то наблюдения проводили до 21 суток.

Некоторые концентрации химических соединений для большей достоверности исследовали повторно. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) синтезированных соединений определяли по результатам исследования на Bactec MGIT 960 как наименьшую концентрацию, которая сдерживала рост микобактерий на сутки по сравнению с контрольными пробирками.

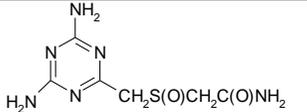
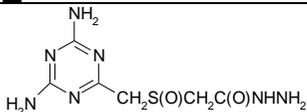
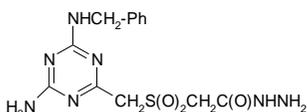
Все выросшие культуры были подвергнуты контролю на видовую специфичность, как это было описано в предыдущем разделе работы.

Результаты анализа туберкулостатического действия триазинов в отношении микобактерий туберкулеза на приборе Bactec MGIT 960 приведены в таблице 9.

Из таблицы 9 следует, что все испытанные химические соединения обладают выраженным бактериостатическим действием в отношении микобактерий туберкулеза в достаточно низкой концентрации – 0,1 мкг/мл среды. Однако, соединение под №1 обладает более выраженным бактериостатическим эффектом в отношении микобактерий туберкулеза, по сравнению с соединениями под номерами 2 и 3.

Соединение №1, которое представляет собой 2,4-диамино-6-(карбамоилметилсульфинилметил)-1,3,5-триазин (названный авторами - Аликон) полностью подавлял рост микобактерий туберкулеза в течение 4 суток. На 5 сутки уровень роста микобактерий достигал отметки 35 ОЕФ и к окончанию опыта оставался на уровне 37 ОЕФ.

Таблица 9 - Изучение туберкулостатической активности триазинов в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ), с использованием стандартной радиометрической ростовой системы Bactec MGIT 960

Исследуемые химические соединения и их №	Конц. мкг/мл	Сроки после посева и результаты в ОЕФ (сутки)											Примечание	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Изониазид	0,1	0	0	25	25	74	89*							
 <b><u>1</u></b>	0.1	0	0	0	0	35	36	36	37	37	37	37*		
 <b><u>2</u></b>	0.1	1	5	12	12	25	26	26	26	27	27*		Рост на 12 сутки	
 <b><u>3</u></b>	0.1	0	0	0	0	2	19	44*						
Контроль №1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Контроль №2	-	0	39	116*										
Контроль №3	-	0	41	216*										

Примечание: \* - радиометрическая ростовая система BACTEC MGIT 960 сигнализирует о выраженном росте микобактерий туберкулеза, проба оценивается как положительная и мониторинг прекращается

Изониазид в аналогичной концентрации (0,1 мкг/мл среды) сдерживал рост культуры возбудителя туберкулеза лишь в течение 2 суток. На 3 сутки рост микобактерий штамма H37Rv в этих пробирках достиг отметки 25 ОЕФ и в последующие сроки наблюдения увеличивался, пока на 6 сутки не достиг отметки 89 ОЕФ.

В контрольных пробирках №1 (среды без добавления штамма микобактерий туберкулеза, но с добавлением 0,2 мл физиологического раствора) роста микобактерий туберкулеза не отмечалось.

В контрольных пробирках №2 (среды без добавления испытуемых соединений, но с добавлением растворителя (диметилсульфоксида) и штамма микобактерий туберкулеза) рост культуры на 3 сутки исследований достиг 116 ОЕФ.

В контрольных пробирках №3 (среды без добавления испытуемых соединений и растворителя (диметилсульфоксида), но с добавлением суспензии микобактерий туберкулеза штамма H37Rv) отмечался обильный рост микобактерий, который на 3 сутки достигал отметки 216 ОЕФ.

Таким образом, установлено, что 3 исследованных химических соединения, относящиеся к триазинам, обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv.

### 2.2.2.5 Определение туберкулостатической активности $\alpha$ , $\omega$ – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил) алканов

Изучение туберкулостатической активности 34 синтезированных  $\alpha$ ,  $\omega$  – бис (амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканов в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv проводили, используя метод вертикальной диффузии на плотной питательной среде «Новая».

Питательную среду разливали в пробирки по 5 мл, свертывая в наклонном положении таким образом, чтобы  $\frac{1}{2}$  часть дна пробирки оставалась свободной. Свернутую среду засекали по 0,2 мл взвеси микобактерий туберкулеза (МБТ) штамма H37Rv, разведенного по 5-му стандарту мутности, и в наклонном положении помещали в термостат на 24 часа для выращивания МБТ.

Через сутки пробирки ставили в вертикальное положение и по свободному краю закапывали по 0,3 мл субстанции соединений в исследуемых концентрациях: 12,5; 6,2; 3,1; 1,5; 0,6; 0,3, 0,1 мкг/мл. Затем пробирки помещали в термостат при температуре 37<sup>0</sup>С и инкубировали в течение 10 суток.

Оценку роста МБТ проводили по стандартной методике, где появление зон задержки роста МБТ (более 10 мм) свидетельствовало о наличии туберкулостатических свойств в исследуемой концентрации соединений. Величина зоны задержки роста МБТ (в мм) пропорциональна степени туберкулостатической активности соединений. Задержка роста 100 мм и более расценивается как полная задержка роста МБТ.

В качестве контроля проводили аналогичные исследования с туберкулостатиком первого ряда – изониазидом.

Все выросшие культуры были подвергнуты контролю на видовую специфичность, как это было описано в предыдущих разделах.

Результаты изучения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в отношении микобактерий туберкулеза 34 химических соединений, относящихся к  $\alpha$ ,  $\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил) алканам, приведены в таблице 10.

По данным таблицы 10, самую высокую бактериостатическую активность в отношении штамма H37Rv проявило соединение (1.3) – названное авторами Линарол Ф-1, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) которого составила 0,3 мкг/мл.

В контрольных пробирках, содержащих изониазид, во всех исследуемых концентрациях отмечалось наличие зон задержки роста МБТ, поэтому МИК данного препарата составила 0,1 мкг/мл среды.

Высокую бактериостатическую активность с МИК 0,6 мкг/мл проявили соединения 1.9, 1.11, 1.13, 1.15, 1.31, 1.33 и 1.34. Соединение 1.22 проявило достаточно хорошую активность с МИК 1,5 мкг/мл. Остальные соединения этого ряда задерживали рост микобактерий туберкулеза в минимальной ингибирующей концентрации 12,5 мкг/мл.

Таким образом, все 34 исследованных химических соединения, относящиеся к  $\alpha$ ,  $\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил) алканам, обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37 Rv, а соединение 1.3 (Линарол Ф-1), которое представляет собой 1,4-Бис(амидометилсульфинил)бутан, по своим туберкулостатическим свойствам оказалось близким к туберкулостатику первого ряда – изониазиду, с минимальной ингибирующей концентрацией – 0,3 мкг/мл среды.



1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.25	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.26	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.27	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.28	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.29	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.30	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.31	-	+	+	+	+	++	++	0,6
1.32	+	++	++	++	++	++	++	12,5
1.33	-	-	+	+	+	++	++	0,6
1.34	-	+	+	+	+	++	++	0,6
Контроль (изониазид)	-	-	-	+	+	+	+	0,1

Примечание: «++» - колонии МБТ без зон задержки роста;

«+» - наличие зон задержки роста МБТ более 10 мм;

«-» - полная задержка роста МБТ (100 мм и более).

### 2.2.3 Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к Тубофену, Линаролу, Аликону и Линаролу Ф-1

Эффективность любого противотуберкулезного препарата оценивают не только по наличию бактерицидной и бактериостатической активности, но и по способности предотвращать развитие лекарственной устойчивости. Поэтому целью наших исследований было выяснение влияния синтезированных препаратов на лекарственную чувствительность различных штаммов микобактерий.

Чувствительность микроорганизмов к исследуемым препаратам проводили в сравнительном аспекте по отношению к уже известным и используемым в медицинской практике противотуберкулезным препаратам: изониазид, рифампицин, офлоксацин, стрептомицин, этамбутол, этионамид и разные их сочетания.

Лекарственную устойчивость микобактерий к вышеперечисленным препаратам определяли методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна – Йенсена без содержания в ней крахмала согласно приказа МЗ РФ №109 от 21.03.2003. Тубофен, Аликон, Линарол и Линарол-Ф1 разводили согласно прописи изониазида. В питательную среду непосредственно перед свертыванием добавляли рабочие разведения данного вещества. Расчеты производили с учетом процента активности препарата.

Для определения эффективности действия препаратов использовали бактериальные суспензии:

- культуры микобактерий туберкулеза штамма H37Rv;
- культуры микобактерий туберкулеза штамма *M. bovis* 14;
- культуры клинического штамма микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ);
- культуры микобактерий туберкулеза *M. terrae*;
- культуры микобактерий туберкулеза *M. avium*;
- культуры микобактерий выделенного от инфицированного крупного рогатого скота (*M. bovis*).

Выросшие на плотной питательной среде культуры микобактерий снимали лопаточкой и помещали в толстостенную стеклянную пробирку. Тщательно растирали стеклянной палочкой и постепенно добавляли стерильный физиологический раствор. Полученную суспензию переносили в стерильную пробирку. Культуры стандартизировали по оптическому стандарту мутности №5. Затем брали по 1 мл приготовленных суспензий, разводили их в 10 раз стерильным физиологическим раствором. Посев на среды производился из этих суспензий, которые вносили по 0,2 мл в пробирку с питательной средой. Все пробирки культивировали при 37<sup>0</sup>С, в течение 4 недель при обязательном еженедельном просмотре. Результаты определения лекарственной устойчивости учитывали на 21 день после посева. При скудном росте в контрольной пробирке все посеvy с добавлением препаратов оставляли еще на 3-4 недели в термостате до получения выраженного роста в контроле.

Культуру считали чувствительной к данной концентрации препарата, если в пробирке со средой, содержащей препарат, выросло менее 20 колоний, при обильном ее росте в контроле. Культуру считали устойчивой к той концентрации препарата, которая содержится в данной пробирке, если в пробирке со средой выросло более 20 колоний, при обильном ее росте в контроле.

Результаты определения лекарственной устойчивости микобактерий к испытуемым препаратам отражены в таблице 11.

В результате проведенных исследований установлено, что изучаемые противотуберкулезные препараты – Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 проявили выраженное бактериостатическое действие на микобактерии туберкулеза штаммов H37Rv, *M. bovis* 14, культуру клинического штамма микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и культуру микобактерий, выделенную от инфицированного крупного рогатого скота в концентрациях 10 мкг/мл среды.

Таблица 11 - Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к исследуемым соединениям

Концентрации препаратов:	Рост колоний микобактерий туберкулеза					
	H37Rv	M.bovis 14	МЛУ (клин. шт.)	M.avium	M.terrae	M.bovis от КРС
Изониазид 1 мкг/мл	-*	-	+*	+	+	-
Изониазид 10 мкг/мл	-	-	+	+	+	-
Рифампицин 40 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Рифампицин 80 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Изониазид (10 мкг/мл) + рифампицин (40 мкг/мл)	-	-	-	не проводилось	не проводилось	-
Офлоксацин 10 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Стрептомицин 10 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Стрептомицин 25 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Этамбутол 2 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Этамбутол 5 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Этионамид 30 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Этионамид 50 мкг/мл	-	-	+	не проводилось	не проводилось	-
Тубофен 10 мкг/мл	-	-	+	+	+	-
Линарол 10 мкг/мл	-	-	10 колоний	+	+	-
Аликон 10 мкг/мл	-	-	10 колоний	+	+	-
Линарол Ф-1 10 мкг/мл	-	-	1 - 5 колоний	+	+	-
Контроль (среда, без препаратов)	+	+	+	+	+	+

Примечание: «-» - отсутствие роста (менее 20 колоний);

«+» - наличие роста микобактерий (более 20 колоний).

Тубофен в концентрации 10 мг/мл среды проявил свое бактериостатическое действие лишь в отношении референтных штаммов (H37Rv, *M. bovis* 14) и культуру микобактерий, выделенную от крупного рогатого скота. Культура клинического штамма с множественной лекарственной устойчивостью оказалась резистентной к данному препарату в исследованной дозе, так как в опытных пробирках со средой отмечали наличие роста более 35 колоний.

Концентрации изониазида, рифампицина, офлоксацина, стрептомицина, этамбутола, этионамида и их различные сочетания вели себя согласно литературным данным - штамм H37Rv и *M. bovis* 14 был чувствителен ко всем концентрациям этих препаратов при положительном контроле.

Штамм микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью проявил свою резистентность ко всем исследуемым препаратам, кроме Аликона, Линарола и Линарола Ф-1 в концентрациях 10 мкг/мл среды, а также изониазида в сочетании с рифампицином (изониазид в концентрации 10 мкг/мл и рифампицин в концентрации 40 мкг/мл среды).

Штаммы *M. avium* и *M. terrae* оказались не чувствительными к синтезированным соединениям в концентрациях 10 мкг/мл среды.

Штамм, выделенный от инфицированного крупного рогатого скота, оказался чувствительным ко всем исследуемым в опыте препаратам в различных их концентрациях.

В контроле, к 21 дню исследования, отмечался обильный рост микобактерий туберкулеза всех исследуемых штаммов, кроме микобактерий, выделенных от крупного рогатого скота, рост которых проявился только на 40 – 50 сутки.

Таким образом, проведенное исследование показало, что новые туберкулостатики Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 обладают выраженным бактериостатическим действием на референтные и лекарственно - устойчивый штаммы микобактерий.

## 2.2.4 Определение противомикробной и фунгистатической активности Тубофена, Аликона, Линарола и Линарола Ф-1

Оценку спектра действия и степени антибактериальной и фунгистатической активности синтезированных противотуберкулезных препаратов Тубофена, Аликона, Линарола и Линарола Ф-1 проводили согласно «Руководству по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (2005), в отношении 3-х бактериальных штаммов (*Staphylococcus aureus* 209p, *Escherichia coli* F-50, *Bacillus cereus* 8035) и 3-х грибов (*Candida albicans* 855-653, *Trichophyton mentagrophytes* - 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119).

Определение спектра антибактериального действия туберкулостатиков проводили методом двукратных серийных разведений на жидкой питательной среде – МПБ (мясо-пептонный бульон). Для этого в чашках Петри, подлежащих посеву, готовили двукратные разведения препаратов, предварительно растворяя их в стерильной дистиллированной воде, из расчета 10 мг препарата в 10 мл воды (разведение 1:1000).

Растворы с испытуемыми соединениями в количестве 0,1 мл вносили в 9,9 мл МПБ и получали первое разведение 1:100000, являющееся исходным. Путем последовательного переноса 5 мл жидкости из предыдущей пробирки в последующую, содержащую 5 мл МПБ, готовили разведения препаратов в концентрациях: 5,0; 2,5; 1,25 и 0,6 мкг/мл среды.

Контролем служил МПБ без добавления испытуемых соединений.

Для посева использовали взвесь суточной бульонной культуры тест-штаммов *Staphylococcus aureus* 209p, *Escherichia coli* F<sub>50</sub> и *Bacillus cereus* 8035, которые из расчета 10<sup>5</sup> КОЕ/мл в объеме 0,2 мл добавляли в каждую пробирку с разведения испытуемых препаратов.

Пробирки инкубировали в термостате при температуре 37°C, в течение 18-24 часов. Результаты оценивали визуально, определяя наличие или отсутствие роста в среде, содержащей различные концентрации испытуемых соединений. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) препаратов, определяли по

последней пробирке ряда с задержкой роста (прозрачный бульон) того или иного штамма бактерий.

Изучение противогрибковой (фунгистатической) активности испытуемых фармакологических веществ проводили аналогично определению спектра антибактериального действия – методом двукратных серийных разведений в жидкой среде Сабуро.

Инокулят для засева готовили путем смыва культур 3-х микроскопических грибов *Candida albicans* 855-653, *Trichophyton mentagrophytes* - 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119, которые брали в жидкой среде Сабуро, значительной мутности. Оттитрованной пипеткой, содержащей 25 капель в 1 мл, вносили по одной капле взвеси культур в каждую пробирку с разведенными препаратами, включая контрольную. После засева штатив встряхивали и помещали в термостат на 14 суток, при температуре 27°C.

Результаты изучения противомикробной и фунгистатической активности испытуемых соединений отражены в таблице 12.

Таблица 12 - Результаты изучения противомикробной и фунгистатической активности Тубофена, Аликона, Линарола и Линарола-Ф1

Препарат	Конц., мкг/мл	Культуры микроорганизмов:					
		<i>St.aureus</i> 209p	<i>E.coli</i> F50	<i>B.cereus</i> 8035	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>Tr. men-</i> <i>tagrophytes</i>	<i>Asp.</i> <i>niger</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
Тубофен	5	+	+	+	+	+	+
	2,5	+	+	+	+	+	+
	1,25	+	+	+	+	+	+
	0,6	+	+	+	+	+	+
Аликон	5	+	+	+	+	+	+
	2,5	+	+	+	+	+	+
	1,25	+	+	+	+	+	+
	0,6	+	+	+	+	+	+
Линарол	5	+	+	+	+	+	+
	2,5	+	+	+	+	+	+
	1,25	+	+	+	+	+	+
	0,6	+	+	+	+	+	+

1	2	3	4	5	6	7	8
Линарол Ф-1	5	+	+	+	+	+	+
	2,5	+	+	+	+	+	+
	1,25	+	+	+	+	+	+
	0,6	+	+	+	+	+	+
Контроль	-	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» - рост культуры; «-» - засеянная культура не дает роста.

По результатам исследований, отраженных в таблице 12, выяснилось, что ни одно из четырех соединений, ни в одной из использованных концентраций (5,0; 2,5; 1,25 и 0,6 мг/мл среды) не проявило выраженного антибактериального и фунгистатического действия в отношении тестируемых культур и рост их в опытных пробирках не отличался от таковых в контрольных. На основании проведенного исследования установили, что синтезируемые препараты: Тубофен, Аликон, Линарол и Линарол Ф-1 обладают избирательным антибактериальным действием, только в отношении микобактерий туберкулеза.

## 2.2.5 Изучение фармако-токсикологических свойств

### 2.2.5.1 Изучение фармако-токсикологических свойств Тубофена

#### 2.2.5.1.1 Определение параметров острой токсичности Тубофена на белых мышах

Опыты были проведены на 24 белых мышах массой 20-25 г. Препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда с оливой, надетого на шприц, по схеме приведённой в таблице 13.

Таблица 13 - Результаты исследования острой токсичности Тубофена на белых мышах

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество мышей	Число мышей:		% гибели
			погибших	выживших	
1	400	6	0	6	-
2	600	6	2	4	33
3	800	6	5	1	83
4	1000	6	6	0	100

При пероральном введении препарата в дозе 400 мг/кг массы тела видимых изменений в поведении и общем состоянии белых мышей не наблюдалось. В дальнейшем, по мере увеличения дозы вводимого препарата на 200 мг/кг живой массы, в каждой последующей группе происходило угнетение животных. При дозе 600 мг/кг погибли две мыши, при дозе 800 мг/кг – 5, при дозе 1000 мг/кг – все мыши.

Параметры острой токсичности Тубофена при внутрижелудочном введении белым мышам составили: максимально переносимая доза (МПД) – 400 мг/кг; среднесмертельная доза ( $LD_{50}$ ) -  $668 \pm 63$  мг/кг; доверительный интервал генеральной (ДИГ) средней  $LD_{50}$  - 668 (538÷798) мг/кг;  $LD_{100}$  - 1000 мг/кг. График определения токсичности препарата представлен на рисунке 4.

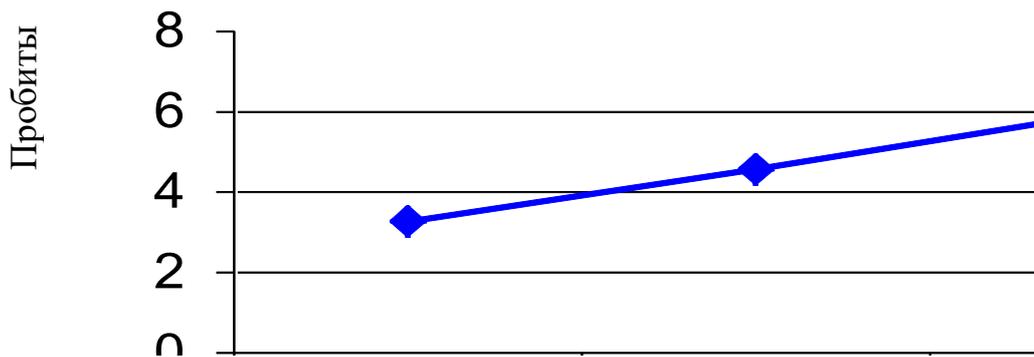


Рисунок 4 - Характеристическая кривая токсичности Тубофена для белых мышей при пероральном введении

Установлено, что в соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Тубофен, является веществом обладающим средней токсичностью. По степени опасности III класс, опасные химические вещества (ГОСТ 12.1.007.76).

### 2.2.5.1.2 Определение параметров острой токсичности Тубофена на белых крысах

Опыты были проведены на 36 белых крысах массой 190-260 г. Препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда с оливой, надетого на шприц, по схеме, приведённой в таблице 14.

Таблица 14 - Результаты исследования острой токсичности Тубофена на белых крысах

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество крыс	Число крыс		% гибели
			погибших	выживших	
1	4500	6	0	6	-
2	5000	6	1	5	16
3	5500	6	3	3	50
4	6000	6	4	2	66
5	6500	6	5	1	83
6	7000	6	6	0	100

Параметры токсичности препарата для белых крыс составили: максимально переносимая доза – 4500 мг/кг; среднесмертельная доза ( $LD_{50}$ ) -  $5675 \pm 245$  мг/кг; доверительный интервал генеральной средней  $LD_{50}$  - 5675 (5195÷6155) мг/кг;  $LD_{100}$  - 7000 мг/кг. График определения токсичности Тубофена на белых крысах представлен на рисунке 5.

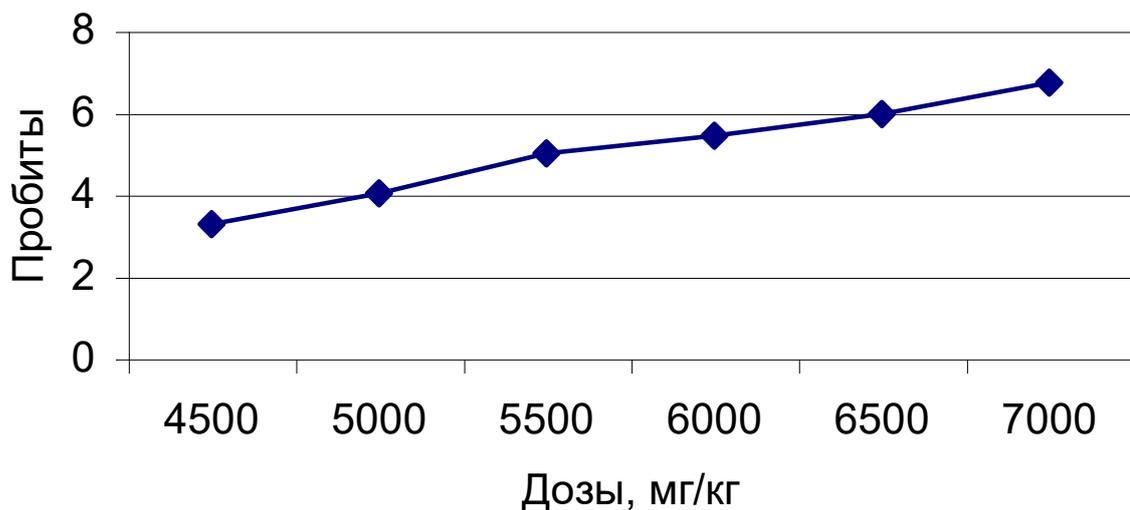


Рисунок 5 - Характеристическая кривая токсичности тубофена для белых крыс при пероральном введении

Установлено, что в соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Тубофен, является малотоксичным соединением. По степени опасности IV класс, незначительно опасные химические вещества (ГОСТ 12.1.007.76).

### 2.2.5.1.3 Изучение субхронической токсичности и кумулятивных свойств Тубофена

Для изучения кумулятивных свойств препарата использовали субхронический тест по Lim R. и др. (1961). Субхроническую токсичность изучали на 20 белых крысах живой массой 150 г, которых поделили на 2 группы по 10 животных в каждой. Животным первой опытной группы в течение 26 дней ежедневно задавали препарат. Для этого в течение первых четырёх суток внутрижелудочно, атравматическим металлическим зондом, вводили исследуемый препарат в дозе 1/20 от ранее установленной однократной дозы ЛД<sub>50</sub> – 283,75 мг/кг массы тела. Затем, через каждые 4 дня, прежнюю дозу препарата увеличивали в 1,5 раза, и так до окончания опыта, т.е. до гибели всех опытных крыс. Животным контрольной группы в аналогичных дозах вводили дистиллированную воду. Результаты исследования по определению кумулятивных свойств Тубофена отражены в таблице 15.

Таблица 15 - Результаты исследования по определению кумулятивных свойств Тубофена

Длительность наблюдения, сут.	Ежедневно вводимая доза, мг/кг	Суммарная доза за 4 сут., мг/кг	Суммарная доза, мг/кг
1-4	283,75	1135	1135
5-8	425,6	1702,5	2837,5
9-12	638,4	2553,6	5391,1
13-16	957,6	3830,4	9221,4
17-20	1436,4	5745,6	14967
21-24	2154,6	8618,4	23585,4
25	3231,9	-	26617,3

В течение определения субхронической токсичности Тубофена на белых крысах, проводилось взвешивание животных до начала опыта, далее на 5, 10, 15,

20 и 25 сутки, с целью определения воздействия данного препарата на показатели привеса. Полученные результаты приведены в таблице 16.

Таблица 16 - Изменение средней массы белых крыс при многократном применении Тубофена

Группы животных	Показатели	Длительность наблюдения, сутки					
		до опыта	5	10	15	20	25
Опытная	M±m	150,0 ±0,59	150,9 ±0,31	151,9 ±0,34*	152,7 ±0,30*	148,7 ±0,42*	140,75 ±0,59*
	% изменения	100	+0,6	+1,26	+1,8	-0,86	-6,16
Контроль-ная	M±m	150,5 ±0,50	151,5 ±0,34	153,6 ±0,37	155,6 ±0,33	158,9 ±0,56	161,2 ±0,4
	% изменения	100	+0,66	+2,06	+3,38	+6,24	+7,1

Примечание: \* -  $p < 0,01$ .

Из таблицы 16 видно, что по окончании опыта отмечается уменьшение живой массы опытной группы животных до 6,16%, в то время как в контрольной группе животных происходило увеличение живой массы белых крыс на 7,1%.

Согласно проведенным подсчетам установлено, что среднесмертельная доза испытуемого препарата при многократном введении дробных доз белым крысам составила 26817,3 мг/кг живой массы.

Коэффициент кумуляции Тубофена составил 4,72. По принятой в настоящее время классификации (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), препарат соответствует веществам обладающим умеренной кумуляцией.

#### **2.2.5.1.4 Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Тубофена**

По окончании определения субхронической токсичности препарата на 20 белых крысах, произвели исследование гематологических и некоторых биохимических показателей крови, которые представлены в таблице 17.

Из данных таблицы видно, что количество эритроцитов за период применения препарата в подопытной группе животных незначительно снижается на 3% с  $8,12 \pm 0,07 \times 10^{12}$  /л, до  $7,88 \pm 0,08 \times 10^{12}$  /л, в то время как в контрольной

группе животных количество возросло на 2,5 %, с  $8,2 \pm 0,08 \times 10^{12}$  /л, до  $8,41 \pm 0,08 \times 10^{12}$  /л.

Таблица 17 - Изменение гематологических и биохимических показателей крови белых крыс после длительного применения Тубофена

Наименование показателей	До начала опыта		После окончания опыта	
	контрольная группа	опытная группа	контрольная группа	опытная группа
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	$8,2 \pm 0,08$	$8,12 \pm 0,07^*$	$8,41 \pm 0,08$	$7,88 \pm 0,08^*$
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	$10,04 \pm 0,18$	$10,16 \pm 0,20$	$9,88 \pm 0,15$	$9,36 \pm 0,15$
Гемаглобин, г/л	$131,4 \pm 1,96$	$128,6 \pm 3,31$	$133,4 \pm 2,42$	$117,4 \pm 2,94$
Общий белок, г/л	$64,4 \pm 1,35$	$63,6 \pm 1,52$	$65,44 \pm 1,88$	$60,08 \pm 2,02^*$
Глюкоза, моль/л	$53,4 \pm 2,14$	$53,8 \pm 1,64$	$53,12 \pm 2,08$	$50,84 \pm 1,80^*$

Примечание: \* -  $p < 0,01$ .

Содержание лейкоцитов в опытной группе животных также уменьшается на 7,87%, с  $10,16 \pm 0,20 \times 10^9$  /л, до  $9,36 \pm 0,15 \times 10^9$  /л, а в контрольной группе варьирует в пределах от  $10,04 \pm 0,18 \times 10^9$  /л, до  $9,88 \pm 0,15 \times 10^9$  /л. Уровень гемоглобина крови у опытной группы животных снижается на 8,7%, с  $128 \pm 3,31$  г/л, до  $117,4 \pm 2,94$  г/л, у контрольной группы животных увеличивается на 1,52%, с  $131,4 \pm 1,96$  г/л, до  $133,4 \pm 2,42$  г/л. Содержание общего белка в сыворотке крови опытной группы животных незначительно снижено и составляет  $60,08 \pm 2,02$  г/л, в то время как у контрольной группы крыс, получавших новый препарат, содержание общего белка в сыворотке крови составило  $65,44 \pm 1,88$  г/л. Содержание глюкозы в крови крыс опытной группы также незначительно снижено и составляет  $50,84 \pm 1,80$  г/л, в то время как в контрольной группе животных её содержание варьирует в пределах  $53,12 \pm 2,08$  г/л.

### 2.2.5.1.5 Изучение аллергенных свойств Тубофена

Изучение аллергенных свойств Тубофена проводили на 24 морских свинках, массой 250 – 300 г, разделённых на 2 опытных и одну контрольную группы, по 8 животных в каждой. Животных опытных групп сенсibilizировали, вводя однократно в кожу наружной поверхности уха, ближе к его основанию 50 (I опытная группа) и 200 мкг на животное (II опытная группа) изучаемый препарат в

объёме 0,1 мл. В качестве растворителя применяли физиологический раствор. Контрольным животным вводили в том же объёме растворитель. Выявление сенсibilизации проводили через 8 дней с помощью реакции специфического лизиса лейкоцитов крови (РСЛЛ). Результаты исследования аллергенных свойств препарата представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Результаты исследования аллергенных свойств Тубофена в опыте на морских свинках

Группы животных:	Количество лейкоцитов при различных дозах сенсibilизации, ( $\times 10^9/\text{л}$ )
I опытная группа	8,3±0,04
II опытная группа	8,27±0,06
Контрольная группа	8,4±0,04

Из данных таблицы следует, что показатель РСЛЛ у животных первой опытной группы, сенсibilизированных Тубофеном в дозе 50 мкг на животное, составил 1,19%, а у второй опытной группы, сенсibilизированной препаратом в дозе 200 мкг на животное – 2,23%. Поэтому РСЛЛ расценивали как отрицательную, так как показатель лизиса лейкоцитов у обеих групп подопытных животных был менее 9%. Анализ проведённых исследований показал, что Тубофен при внутрикожной сенсibilизации морских свинок, не обладает аллергенными свойствами.

#### **2.2.5.1.6 Оценка потенциальной опасности проявления эмбриотоксических и тератогенных свойств Тубофена**

Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств Тубофена было проведено на 20 беспородных самках белых крыс половозрелого возраста, живой массой 180 – 230 г. животные были разделены на 2 группы, по 10 крыс в каждой. Первая опытная группа получала препарат внутривентрикулярно, в дозе составляющей 1/20 от среднесмертельной дозы – 283, 75 мг/кг массы тела, в течение 20 дней. Вторая, контрольная группа в аналогичных дозах получала растворитель (дистиллированную воду). Результаты экспериментов представлены в таблице 19.

Таблица 19 - Показатели эмбриотоксической активности Тубофена

Показатели:	Контрольная группа	Опытная группа
Количество крыс в группе	5	5
Количество жёлтых тел в яичниках	53	51
Количество мест имплантации	51	48
Количество живых плодов	49	45
Количество мёртвых плодов	-	-
Предимплантационная гибель зигот, %	3,77±0,70	5,9±0,23*
Постимплантационная гибель эмбрионов, %	3,92±0,85	6,25±1,00*
Общая эмбриональная смертность, %	7,55±0,96	11,8±1,30
Масса плода, г	2,87±0,09	2,86±0,11
Длина планцеты, см	1,29±0,01	1,28±0,01
Краниокаудальные размеры плода, см	3,07±0,04	3,06±0,01

Примечание: \* -  $p < 0,01$ .

Анализ проведённых исследований показал, что Тубофен не влияет на репродуктивные качества крыс. Показатели пред- и постимплантационной гибели у опытных и контрольных животных практически не отличались. При этом количество жёлтых тел и мест имплантации в группах, примерно было равным и не отличалось более чем на 5,8%.

Вскрытие самок белых крыс на 20 сутки беременности показало практически равное количество живых и мертвых плодов в обеих группах.

Изучение нарушений эмбрионального развития, проявляющихся в постнатальном периоде, проводили на 5 крысах, от которых было получено потомство. За 3 – 4 дня до родов самки были подсажены по одной в клетку. Крысят от опытных и контрольных самок периодически взвешивали, регистрировали сроки покрытия шерстью, время отлипания ушей, а также сроки прозрения и прорезывания резцов.

Анализ полученных результатов показал, что Тубофен не влияет на массу тела и продолжительность беременности самок опытной группы (таблица 20).

Таблица 20 - Изменение массы тела и продолжительность беременности крыс при внутрижелудочном введении Тубофена

Показатели:	Группы животных:	
	контрольная	опытная
Масса тела беременных крыс, г (в % к исходной)	107,2±0,7	106,4±0,3
на 6-й день, г	121,7±0,9	122,7±1,3
на 15-й день, г	142,3±1,8	144,7±2,1
Продолжительность беременности, дн	23,2±0,2	23,0±0,4

Также существенно не менялись показатели постнатальной смертности и прироста массы тела крысят за первые 4 недели их жизни (таблица 21).

Таблица 21 - Показатели развития потомства белых крыс

Наименование показателей:	Группы животных:	
	контрольная	опытная
Число родившихся крысят	48	46
Мёртворождения, %	0,2±0,2	0,4±0,2
Масса тела крысят, г: Новорожденные	5,3±0,1	5,1±0,06
3-й день	7,2±0,2	7,0±0,1
5-й день	9,4±0,08	9,3±0,05
14-й день	16,8±0,3	16,6±0,08
20-й день	22,5±0,6	22,1±0,4
28-й день	31,6±0,5	29,3±0,8*
Срок отлипания ушей, дни	6,7±0,6	6,3±0,3
Срок опушения, дни	8,22±0,03	8,1±0,2
Срок прозрения, дни	15,7±0,5	15,3±0,4
Срок прорезывания резцов, дни	9,2±0,3	9,1±0,2
Постнатальная смертность к 21 дню, %	4,44±0,6	6,06±1,3

Примечание: \* -  $p < 0,01$ .

Таким образом, основные показатели, указывающие на эмбриотоксическое и тератогенное действие препарата у подопытных и контрольных животных, были в близких пределах и свидетельствовали об отсутствии эмбриотоксического и тератогенного действия Тубофена.

## 2.2.5.2 Изучение фармако-токсикологических свойств Аликона

### 2.2.5.2.1 Определение параметров острой токсичности Аликона

Перед постановкой опытов для изучения общетоксического действия Аликона животные выдерживались на 2-х недельном карантине, кормление проводили согласно принятым в зоотехнии нормам.

Острую токсичность определяли на белых нелинейных мышах массой тела 18-20 г, белых нелинейных крысах, массой тела 180-200 г, подобранных по принципу аналогов.

Препарат испытывали в дозах 1000,1200,1400,1600,1800 и 2000 мг/кг массы тела, с шагом дозы 200 мг, при однократном введении в желудок в виде суспензии с дистиллированной водой с помощью металлического зонда с оливой надетого на шприц. При этом объём вводимой суспензии не превышало белым мышам - 0,5 мл, белым крысам - 5 мл. Контрольная группа животных получала соответствующий объём воды. За животными вели наблюдение в течение 14 суток. Регистрировали выживаемость животных, клиническую картину, поведение, поедаемость корма, в конце наблюдения проводили диагностическое вскрытие. В результате определяли среднесмертельную (ЛД<sub>50</sub>) или максимально введенную дозу. Результаты исследования острой токсичности Аликона на белых мышах отражены в таблице 22.

Таблица 22 - Результаты исследования острой токсичности Аликона

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество мышей	Число мышей		% гибели
			погибших	выживших	
1	1000	10	0	10	-
2	1200	10	0	10	-
3	1400	10	0	10	-
4	1600	10	0	10	-
5	1800	10	0	10	-
6	2000	10	0	10	-
Контроль	дист. вода	10	0	10	-

Из результатов, отраженных в таблице 22 видно, что однократное внутрижелудочное введение исследуемого вещества в вышеуказанных дозах не вызвало гибели белых мышей и белых крыс в течение 14 суток. Клиническая картина, поедаемость корма, поведение животных не отличалось от контрольной группы. При диагностическом вскрытии животных на 14 сутки видимых изменений в органах и тканях не обнаружено.

В дозах, более вышеуказанных, введение препарата было невозможно, ввиду его нерастворимости в воде. В связи с тем, что гибели опытных животных за период наблюдения не отмечалось, расчет среднесмертельной дозы ( $LD_{50}$ ),  $LD_{16}$ ,  $LD_{84}$  не представлялся возможным. Для дальнейших исследований, согласно «Методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» была взята доза 2000 мг/кг массы тела как максимально возможная для введения.

Таким образом, исследуемое химическое соединение, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относится к IV классу (незначительно опасные химические вещества).

Однако, дальнейшие токсикологические и бактериологические исследования химических соединений данной группы противотуберкулезных препаратов были прекращены, по 3-м основным причинам:

1. Трудности синтеза химических соединений, производных триазины, в больших количествах;
2. Плохая растворимость синтезированных соединений в воде, что ухудшает биодоступность;
3. Относительная дороговизна реактивов.

### 2.2.5.3 Изучение фармако-токсикологических свойств Линарола

#### 2.2.5.3.1 Определение параметров острой токсичности Линарола

Животные поступали из вивария при ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, перед постановкой опытов животные выдерживались на 2-х недельном карантине, кормление проводили согласно принятым в зоотехнии нормам.

Острую токсичность определяли на белых нелинейных мышах массой тела 18-20 г и белых нелинейных крысах массой тела 180-200 г, подобранных по принципу аналогов. Для этого было сформировано 7 групп животных (6 опытных и 1 контрольная), по 10 особей в каждой.

Линарол испытывали в дозах 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 и 4000 мг/кг массы тела, с шагом дозы 500 мг, при однократном введении в желудок в виде суспензии с дистиллированной водой с помощью атравматичного зонда. При этом объём вводимой суспензии не превышало белым мышам - 0,5 мл, белым крысам - 5 мл. Контрольная группа животных получала соответствующий объём воды. За животными вели наблюдение в течение 14 суток. Регистрировали выживаемость животных, клиническую картину, поведение, поедаемость корма, в конце наблюдения проводили диагностическое вскрытие. В результате определяли среднесмертельную (ЛД<sub>50</sub>) или максимально вводимую дозу. Результаты исследования острой токсичности Линарола на белых мышах отражены в таблице 23.

Таблица 23 - Результаты исследования острой токсичности Линарола

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество мышей	Число мышей		% гибели
			погибших	выживших	
1	1500	10	0	10	-
2	2000	10	0	10	-
3	2500	10	0	10	-
4	3000	10	0	10	-
5	3500	10	0	10	-
6	4000	10	0	10	-
Контроль	Дист. вода	10	0	10	-

Результаты изучения острой токсичности на белых мышах и крысах показали, что ни одна испытуемая доза Линарола не вызвала гибели животных. В дозах более вышеуказанных, введение оказалось невозможно, ввиду нерастворимости препарата в воде. Однако следует отметить, что у животных 4, 5 и 6 опытных групп, в течение 20-30 минут после введения Линарола отмечалось незначительное угнетение общего состояния. Спустя вышеуказанное время, их состояние нормализовалось и не отличалось от животных контрольной группы, которым вводили соответствующий объём воды. При диагностическом вскрытии на 14 сутки животных опытных и контрольной групп видимых изменений в органах и тканях не обнаружено.

В связи с тем, что гибели опытных животных за период наблюдения не отмечалось, расчет среднесмертельной дозы (ЛД<sub>50</sub>), ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>64</sub> не представлялся возможным и для дальнейших исследований, согласно «Методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» была использована доза - 4000 мг/кг массы тела, как максимально возможная для введения.

Таким образом, исследуемый препарат Линарол, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относится к IV классу (малоопасные вещества).

#### **2.2.5.3.2 Изучение субхронической токсичности и кумулятивных свойств Линарола**

Кумуляцию изучали методом субхронической токсичности по Lim R. et al. (1961). Для этого было сформировано 2 группы белых крыс по 10 особей (5 самок и 5 самцов) в каждой. Первой группе животных вводили Линарол внутрижелудочно с помощью атравматичного зонда в дозе 1/10 от максимально вводимой. Контрольной группе вводили внутрижелудочно аналогичное количество воды. Введение препарата проводили ежедневно, каждые 4 дня дозу увеличивали в 1,5 раза. Опыт продолжался 28 дней. Результаты исследований приведены в таблице 24.

Из результатов, отраженных в таблице 24, видно, что за весь период опыта гибели подопытных крыс не наблюдалось. Первые клинические признаки, в виде незначительного угнетения наблюдали с 17 сут эксперимента, непосредственно после введения препарата, спустя 1,0 - 1,5 часа общее состояние животных становилось удовлетворительным, они поедали корм и пили воду. Подобную картину наблюдали до конца опыта.

Таблица 24 - Кумулятивные свойства Линарола

Дни введения	Ежедневная доза, мг/кг	Суммарная доза за 4 дня, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Количество павших животных
1-4	400	1600	1600	0
5-8	600	2400	4000	0
9-12	900	3600	7600	0
13-16	1350	5400	13000	0
17-20	2025	8100	21000	0
21-24	3037	12148	33248	0
25-28	4556	18224	51472	0

Применение рекомендуемой формулы для подсчёта коэффициента кумуляции, согласно методике, не представлялось возможным, поэтому можно заключить о слабовыраженных кумулятивных свойствах препарата.

### 2.2.5.3.3 Изучение местно-раздражающего действия Линарола

Для изучения местного раздражающего действия Линарола на кожу использовали 8 белых кроликов. За день до проведения опыта участки кожи в области спины 5×5см с двух сторон от позвоночника тщательно выстригали. Препарат в виде кашицы, смешанной с дистиллированной водой, наносили на кожу с одной стороны позвоночного столба из расчета 20 мг/см<sup>2</sup>, контролем служила противоположная сторона, где была нанесена дистиллированная вода. Для исключения слизывания, на кроликов надевали пластиковые воротники. Экспозиция составляла 4 часа, после чего остатки препарата удаляли с помощью тёплой воды с мылом.

Реакцию кожи регистрировали через 1 и 16 часов после однократной аппликации и оценивали в сравнении с симметричным участком кожи того же животного, где была нанесена дистиллированная вода. Оценку эритемы проводили визуально и оценивали в баллах. Оценку отёка кожи животного определяли путём измерения толщины кожной складки при помощи кутиметра (в мм). Оценку степени эритемы суммировали для каждого животного, после чего вычисляли среднюю оценку выраженности раздражающего эффекта для группы экспериментальных животных.

Степень выраженности раздражающего действия вещества на кожу кроликов определяли согласно принятой классификации (МУ №2163-80, Минздрав СССР). Результаты исследования раздражающего действия Линарола на кожу кроликов отражены в таблице 25.

Таблица 25 - Результаты исследования раздражающего действия Линарола на кожу кроликов

Время исследования, ч	Степень эритемы, баллы	Интенсивность отёка, баллы	Суммарный балл раздражения	Степень выраженности раздражающего действия
1	0,125	0,062	0,187	отсутствие раздражающего действия
16	0	0	0	отсутствие раздражающего действия

Из результатов, отраженных в таблице 25, следует, что в указанные периоды исследования после нанесения препарата на кожу кроликов каких-либо функциональных нарушений кожи (отек, трещины, изъязвления, изменения температуры кожи) не отмечалось.

При изучении местного раздражающего действия препарата на слизистую глаза кроликов порошок сорбента наносили в левый конъюнктивальный мешок в количестве 50 мг. Правый глаз опытных животных служил контролем. После внесения препарата на минуту прижимали слезоносовый канал у внутреннего угла глаза. Регистрацию изменений слизистой оболочки глаза, склеры, роговицы проводили ежедневно в течение 14 дней. Влияние Линарола на слизистые

оболочки глаз выражалось гиперемией и инъектированием сосудов конъюнктивы, которое проходили через 8-12 часов. Изъязвления конъюнктивы, рубцовых изменений век, помутнения роговицы не регистрировали.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что Линарол не обладает местно-раздражающим действием на кожу и конъюнктиву глаза.

#### 2.2.5.3.4 Изучение влияния Линарола на антитоксическую функцию печени

Изучение влияния Линарола на антитоксическую функцию печени проводили, используя методику Розина Д.Г. (1964). В основе данной методике лежит способность различных препаратов влиять на продолжительность сна животных, вызванного гексеналом, который инактивируется в печени.

Для проведения эксперимента было отобрано 5 групп белых крыс, 4 опытные и 1 контрольная, по 10 голов в каждой. Группы подбирались по принципу аналогов, и каждая группа состояла из 5 самок и 5 самцов. Четырём опытным группам животных перед началом исследования внутрижелудочно, с помощью атравматического зонда с оливой, вводили Линарол в дозе 1/10 от максимально вводимой (400 мг/кг массы), а крысам контрольной группы внутрижелудочно вводили только растворитель (дистиллированную воду).

Раствор гексенала готовили непосредственно перед употреблением и инъектировали внутривентриально в дозе 60 мг/кг массы тела через 1, 2, 5 и 24 часа после введения Линарола. Продолжительность сна белых крыс выражали в минутах, которые отсчитывали с момента принятия ими «бокового положения», до первых попыток изменить его. Результаты исследования представлены в таблице 26.

Таблица 26 - Продолжительность гексиналового сна белых крыс (в минутах) при внутрижелудочном введении Линарола

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Продолжительность интервала (в часах), через который вводили гексенал			
		1	2	5	24
Опытная	400	26,75±3,76	27,57±3,74*	25,5±2,55	24,75±3,69
Контрольная	-	26,29±4,61	26,29±4,61	26,29±4,61	26,29±4,61

Примечание: \* -  $p > 0,05$ .

Из данных таблицы видно, что инъекция гексенала после внутрижелудочного введения Линарола через 1, 2, 5 и 24 часа не приводила к достоверному увеличению продолжительности сна подопытных крыс, по сравнению с контрольными животными.

На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что исследуемый препарат не влияет на антитоксическую функцию печени.

#### **2.2.5.3.5 Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Линарола**

Опыты проводили в условиях вивария ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ и клинико-диагностической лаборатории №1 ГАУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер». Влияние Линарола на гематологические и биохимические показатели при внутрижелудочном введении в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела животного), изучали на 20 белых беспородных крысах обоего пола массой 190 – 210 грамм.

Животные были разделены на группы, по 10 голов в каждой. Первая группа была опытной, в течение 30 суток животным внутрижелудочно вводили Линарол, а вторая – контрольной, которая получала растворитель – дистиллированную воду. Процедуры выполняли ежедневно, однократно, в течение 30 суток. Забор крови проводили до начала эксперимента, на 10, 20 и 30 сутки наблюдения.

Кровь для гематологических и биохимических исследований у крыс брали из сосудов хвоста. Гематологические и исследования проводили общепринятыми методами (Кудрявцев А.А. и др., 1969; Меньшиков В.В., 1987). Биохимические исследования крови, а в частности определение количества глюкозы, общего белка, АЛТ, АСТ, мочевины и креатинина проводили с использованием биохимического анализатора Selectra Junior. Для определения количества альбуминов и глобулинов крови использовали устройство для электрофореза сыворотки крови УЭФ – 01 «Астра». Цифровые данные эксперимента представлены в таблице 27 и 28.

Введение Лиараола белым крысам в течение 30 суток перорально, в дозе 200 мг/кг массы тела, существенно не повлияло на гематологические показатели крови (таблица 27). Отмечалось лишь незначительное уменьшение количества эритроцитов, которое оставалось в пределах физиологической нормы.

Достоверно увеличивалось в пределах верхних границ допустимой нормы количество лимфоцитов с  $52,8 \pm 2,41\%$  в начале эксперимента, до  $67,2 \pm 2,46\%$  на 20 сутки применения препарата и уменьшилось до  $61 \pm 2,37\%$  на 30 сутки. По остальным показателям лейкоформула не отличалась от таковой у контрольной группы.

Из исследованных биохимических показателей (таблица 28) достоверно, практически в 2 раза, на 20 сутки эксперимента, уменьшалось содержание АСТ с  $141,4 \pm 27,03$  до  $63,6 \pm 10,3$  МЕ/л и глобулинов с  $40,66 \pm 2,24$  до  $23,06 \pm 2,2$  г/л в сыворотке крови опытной группы, что может говорить о повреждении препаратом печени, однако эти показатели на 30 сутки исследования повысились и составили  $96,2 \pm 12,11$  МЕ/л и  $27,02 \pm 1,13$  г/л соответственно.

Содержание АЛТ также незначительно уменьшалось с  $57,2 \pm 2,53$  МЕ/л до начала эксперимента, до  $31,6 \pm 2,95$  МЕ/л на 10 сутки, а затем вновь увеличивалось в пределах физиологической нормы, до  $44,8 \pm 7,05$  МЕ/л на 30 сутки исследований. Кроме того, количественное содержание альбулинов в крови на 30 сутки после применения препарата даже повысилось и составило  $33,72 \pm 2,21$  г/л, что на 4,18 г/л больше, чем в контрольной группе.

По остальным биохимическим показателям крови (мочевина, креатинин, глюкоза, общий белок) существенных различий от контрольной группы ни в один из периодов исследований (10, 20 и 30 сутки) мы не наблюдали.

Таблица 27 - Гематологические показатели у белых крыс при внутрижелудочном применении Линарола в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела) в течение 30 суток

Наименование показателей	Исходные данные		На 10 сут.		На 20 сут.		На 30 сут.	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Эритроциты (*10 <sup>12</sup> /л)	5,42±0,24	5,88±0,6	5,64±0,25	5,14±0,39	5,54±0,25	4,61±0,18*	5,44±0,25	4,92±0,31
Лейкоциты (*10 <sup>9</sup> /л)	6,86±0,42	5,5±1,11	6,62±0,4	7,38±0,66	6,38±0,34	6,8±0,46	6,16±0,33	5,74±0,51
Палочкоядерные (%)	6,6±0,57	6,2±1,19	6,4±0,57	8±0,94	6,8±0,42	5,2±0,82	6,4±0,57	5±1,27
Сегментоядерные (%)	23,8±3,07	29,8±3,7	26,2±2,27	23,8±3,19	25,8±1,52	25±3,22	26,8±2,22	30±1,62
Эозинофилы (%)	0,4±0,27	1±0,87	0,4±0,27	0,2±0,22	0,6±0,27	0,2±0,22	0,4±0,27	0,6±0,45
Базофилы (%)	0	0	0	0	0	0	0	0
Моноциты (%)	2,4±0,45	1,8±0,42	2,8±0,65	5,4±0,84*	2,2±0,65	2,4±0,57	2,4±0,57	3,2±0,65
Лимфоциты (%)	53,4±3,58	52,8±2,41	54,6±4,13	62,6±3,91	52,8±2,86	67,2±2,46*	53,6±2,84	61±2,37*

Примечание: \* - P ≤ 0,05.

Таблица 28 - Биохимические показатели у белых крыс при внутрижелудочном применении Линарола в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела) в течение 30 суток

Наименование показателей	Исходные данные		На 10 сут.		На 20 сут.		На 30 сут.	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Глюкоза (ммоль/л)	6,5±0,29	5,66±0,77	6,72±0,45	6,84±0,38	6,14±0,44	5,24±0,42	6,26±0,32	4,82±0,86
АЛТ (МЕ/л)	58,6±4,04	57,2±2,53	62,2±3,97	31,6±2,95*	55,8±3,31	44,8±4,17*	58,8±3,8	44,8±7,05
АСТ (МЕ/л)	139,2±13,56	141,4±27,03	136±4,83	77,8±4,72**	137,8±4,77	63,6±10,3**	140,4±5,26	96,2±12,11*
Общий белок (г/л)	66,4±2,38	68,06±2,14	68,7±2,06	65,04±2,29	66,8±3,07	55,2±1,52*	63,08±2,85	60,74±2,39
Альбумины (г/л)	30,94±0,87	29,54±0,84	29,48±0,84	32,92±0,55*	28,38±0,43	32,14±0,84*	30,02±0,57	33,72±2,21
Глобулины (г/л)	41,22±1,29	40,66±2,24	42,36±1,12	32,18±2,47*	41,78±0,89	23,06±2,2**	40,78±0,9	27,02±1,1**
Креатинин (ммоль/л)	0,049±0,01	0,048±0,01	0,049±0,01	0,05±0,01	0,05±0,01	0,052±0,01	0,051±0,01	0,053±0,01
Мочевина (моль/л)	4,4±0,25	4,62±0,42	4,26±0,26	4,1±0,19	4,32±0,22	4,26±0,28	4,18±0,11	3,84±0,22

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,001$ .

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют утверждать, что ежедневное, пероральное введение Линарола белым крысам в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела), в течение 30 суток, существенно не повлияло на гематологические и биохимические показатели крови животных, даже в такой высокой дозе, с учетом продолжительного его применения.

#### **2.2.5.4 Изучение фармако-токсикологических свойств Линарола Ф-1**

##### **2.2.5.4.1 Определение параметров острой токсичности Линарола Ф-1 на белых мышах**

Опыты были проведены на 30 белых мышах массой 17-20 г. Препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда с оливой, надетого на шприц, по схеме, приведённой в таблице 29.

Таблица 29 - Результаты исследования острой токсичности Линарола Ф-1 на белых мышах

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество мышей	Число мышей:		% гибели
			погибших	выживших	
1	300	5	0	5	0
2	500	5	0	5	0
3	700	5	2	3	40
4	900	5	3	2	60
5	1100	5	5	0	100
Контроль	дист. вода	5	-	5	0

При пероральном введении препарата в дозе 300 мг/кг массы тела видимых изменений в поведении и общем состоянии белых мышей не наблюдалось, при дозе 500 мг/кг отмечалось небольшое угнетение опытных животных, которое проходило через 30-40 минут после введения. В дальнейшем, по мере увеличения дозы вводимого препарата на 200 мг/кг живой массы, в каждой последующей группе происходило угнетение животных. При дозе 700 мг/кг массы, через 48 часов погибли две мыши, при дозе 900 мг/кг через 3-4 часа после введения погибло– 3 мыши, а при дозе 1100 мг/кг в течение 2-3 часов – все мыши опытной группы.

В контрольной группе животных получавших растворитель препарата – дистиллированную воду, гибели не отмечалось.

Мыши 3 и 4 опытных групп перенёсших интоксикацию, в дальнейшем оставались живыми и визуально не отличались от контрольных. При патологоанатомическом вскрытии павших животных отмечали незначительные изменения на слизистой желудочно-кишечного тракта в виде гиперемии.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что максимально переносимая доза Линарола Ф-1 для белых мышей составила 500 мг/кг массы тела. Проведя расчет средней смертельной дозы, установили, что ЛД<sub>50</sub> препарата равна 800 мг/кг, ЛД<sub>100</sub> - 1100 мг/кг массы тела.

В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Линарол Ф-1, является веществом обладающим средней токсичностью. По степени опасности III класс, опасные химические вещества (ГОСТ 12.1.007.76).

#### **2.2.5.4.2 Определение параметров острой токсичности Линарола Ф-1 на белых крысах**

Опыты были проведены на 30 белых крысах, массой 190-260 г. Препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда с оливой, надетого на шприц, по схеме приведённой в таблице 30.

Результаты исследования показали, что при дозах 2000, 2500 и 3000 мг/кг массы тела, гибель подопытных крыс не происходила, клинические признаки отравления не наблюдались.

Таблица 30 - Результаты исследования острой токсичности Линарола Ф-1 на белых крысах

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Количество крыс	Число крыс		% гибели
			Погибших	выживших	
1	2000	6	0	0	-
2	2500	6	0	0	-
3	3000	6	0	0	-
4	3500	6	0	0	-
5	4000	6	0	0	-

У крыс, которым препарат вводили в дозе 3500 и 4000 мг/кг массы тела, клинические признаки появлялись спустя 10-15 минут после введения и характеризовались незначительным угнетением и отказом от корма, которое исчезало спустя 4-5 часов. Ни в одной из исследованных групп животных гибели не отмечалось. Внешне животные не отличались от животных контрольной группы.

Вводить соединение в больших дозах больше, чем 4000 мг/кг массы тела, не представлялось возможным, поскольку более высокая концентрация препарата не растворялась в растворителе (дистиллированной воде), а выпадала в осадок.

При патологоанатомическом вскрытии только у животных 4 и 5 опытных групп, получавших препарат в дозах 3500 и 4000 мг/кг массы тела, отмечали незначительные изменения на слизистой желудочно-кишечного тракта в виде гиперемии. У первых трех опытных групп макроскопических изменений во внутренних органах и тканях не отмечали.

Результаты эксперимента позволяют утверждать следующее:

1. Параметры токсичности препарата для белых крыс: максимально переносимую и среднесмертельную дозы ( $LD_{50}$ ) установить не удалось, так как химическое соединение в дозах более 4000 мг/кг массы тела, не растворялось в растворителе (дистиллированной воде) и соответственно вводить препарат в таких дозах внутрижелудочно не представлялось возможным.
2. Установлена максимально вводимая доза препарата для белых крыс – 4000 мг/кг массы тела.
3. В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Линарол Ф-1, является малотоксичным соединением для белых крыс. По степени опасности IV класс, незначительно опасные химические вещества (ГОСТ 12.1.007.76).

### 2.2.5.4.3 Изучение местно-раздражающего действия Линарола Ф-1

Степень выраженности раздражающего действия вещества на кожу кроликов определяли согласно принятой классификации (МУ №2163-80, Минздрав СССР). Результаты исследования раздражающего действия Линарола Ф-1 на кожу кроликов отражены в таблице 31.

Таблица 31 - Результаты исследования раздражающего действия Линарола Ф-1 на кожу кроликов

Время исследования, часы	Степень эритемы, баллы	Интенсивность отёка, баллы	Суммарный балл раздражения	Степень выраженности раздражающего действия
1	0,15	0,08	0,23	отсутствие раздражающего действия
16	0	0	0	отсутствие раздражающего действия

Из результатов, отраженных в таблице 31, следует, что в указанные периоды исследования после нанесения препарата на кожу кроликов каких-либо функциональных нарушений кожи (отек, трещины, изъязвления, изменения температуры кожи) не отмечалось.

Влияние Линарола-Ф1 на слизистые оболочки глаз выражалось гиперемией и инъектированием сосудов конъюнктивы, которое проходило через 1-2 часа, изъязвления конъюнктивы, рубцовых изменений век, помутнения роговицы не регистрировали.

Таким образом, препарат не обладает местно-раздражающим действием на кожу и конъюнктиву.

### 2.2.5.4.4 Изучение хронической токсичности Линарола Ф-1

Для изучения хронической токсичности использовали «Руководство по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (2005). Хроническую токсичность препарата изучали в трех дозах. При выборе доз руководствовались результатами, полученными при исследовании острой токсичности. Высшая доза – 200 мг/кг массы тела,

рассчитана с учетом ЛД<sub>50</sub> (1/20 от ЛД<sub>50</sub>), минимальная доза - 10 мг/кг, близка к терапевтической, третья доза – 100 мг/кг, являлась промежуточной.

Эксперимент проводился на самцах белых нелинейных крыс массой 250-300 г. Были сформированы четыре группы животных – три опытные и одна контрольная, по 5 голов в каждой. Опытным группам животных, препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда с оливой, надетого на шприц, ежедневно, в течение 60 суток, причем: 1-ой опытной группе Линарол Ф-1 вводили в дозе 10 мг/кг массы тела; 2-ой опытной группе, в дозе 100 мг/кг массы тела; 3-й опытной группе, в дозе 200 мг/кг массы тела; 4-ой контрольной группе в аналогичных дозах вводили дистиллированную воду.

Установлено, что в течение первых 14 дней введения Линарола Ф-1 клинические признаки проявления интоксикации организма белых крыс отсутствовали и слабое их проявление, в виде незначительного угнетения общего состояния и частичного отказа от корма, отмечалось после 15 суток с начала опыта у животных третьей опытной группы, получавших препарат в дозе 200 мг/кг массы тела. Через 10-15 минут после дачи препарата дыхание животных 3-ей опытной группы становилось частым, животные были малоподвижными. Такое состояние наблюдалось в течение 1-2 часов после введения препарата. На 35 - 40 сутки с момента введения препарата в дозе 200 мг/кг массы тела у животных 3-ей опытной группы отмечалось незначительное угнетение, малоподвижность, исхудание и взъерошенность шерсти, которые не исчезали до окончания эксперимента.

Состояние животных первой и второй опытных групп, получавших препарат в дозах 10 и 100 мг/кг массы тела, в течение 60 суток, не отличалось от такового у контрольной группы.

В период определения хронической токсичности препарата на белых крысах проводилось взвешивание животных до начала опыта, далее на 20, 40 и 60 сутки, с целью определения воздействия Линарола Ф-1 на показатели привеса. Полученные результаты приведены в таблице 32.

Таблица 32 - Динамика массы тела белых крыс после внутрижелудочного введения Линарола Ф-1 в течение 60 суток

Группы животных (доза)	Вес белых крыс, грамм			
	до начала опыта	через 20 суток	через 40 суток	по окончании опыта (60 суток)
I опытная (10 мг/кг)	243±7,83	246,4±8,95	248,8±8,95	257,4±9,22
II опытная (100 мг/кг)	263±7,04	267,8±6,94	263,8±6,94	264±6,79
III опытная (200 мг/кг)	280±6,71	273,6±7,77	265±8,14	260,4±7,25*
Контрольная (дист.вода)	273,8±7,94	278,6±7,36	285,6±6,97	293±7,61

Примечание: \* -  $p \leq 0,05$ .

Из таблицы 32 видно, что по окончании эксперимента масса тела у животных первой опытной группы, получавших Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг, увеличилась в среднем на 6% и практически не отличалась по привесам от контрольной группы.

Вес животных второй опытной группы к окончанию эксперимента, не изменился, а у третьей опытной группы, получавших препарат в дозе 200 мг/кг массы тела, уменьшился на 7%, что свидетельствует о токсическом влиянии препарата в указанных дозах.

По окончании опыта всех животных подвергали эвтаназии, путем декапитации. При патологоанатомическом исследовании внутренних органов животных опытных групп, ни в одном случае не выявили видимых макроскопических изменений.

#### **2.2.5.4.5 Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс после длительного применения Линарола Ф-1**

У экспериментальных животных по окончании эксперимента (60 суток) брали кровь и из показателей гемограммы определяли гемоглобин, количество лейкоцитов и эритроцитов, а также лейкоцитарную формулу, используя общепринятые методы исследования (Меньшиков В.В., 1987г.). Результаты исследования сравнивали с показателями животных контрольной группы. Результаты исследования приведены в таблице 33.

Таблица 33 - Гематологические показатели белых крыс, после 60-дневного введения Линарола Ф-1

Показатели	Группы животных (доза)			
	Контрольная (дист.вода)	I опытная (10 мг/кг)	II опытная (100 мг/кг)	III опытная (200 мг/кг)
1	2	3	4	5
Эритроциты (*10 <sup>12</sup> /л)	6,64±0,51	5,91±0,29	7,98±0,19*	7,58±0,19
Лейкоциты (*10 <sup>9</sup> /л)	5,58±0,45	4,44±0,61	5,32±0,75	7,5±0,86*
Палочкоядерные (%)	0,4±0,27	0,6±0,27	0,6±0,27	1,4±0,84
Сегментоядерные (%)	15,4±2,02	13,4±1,35	19,2±1,39	15±0,79
Эозинофилы (%)	0,6±0,27	0	1±0,87	0,2±0,22
Базофилы (%)	0	0	0	0,2±0,22
Моноциты (%)	7±0,61	5,6±0,57	8,2±0,55	8,4±1,35
Лимфоциты (%)	75,8±3,44	78,8±1,67	71±1,94	76±2,65

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ .

По результатам, отраженным в таблице 33, видно, что введение препарата белым крысам в течение 60 суток перорально, в дозах 10, 100 и 200 мг/кг массы тела, существенно не повлияло на гематологические показатели крови и не отличалось от таковой у контрольной группы. Лишь достоверно увеличивалось в пределах верхних границ допустимой нормы количество лимфоцитов у животных третьей опытной группы, получавших препарат в дозе 200 мг/кг массы тела, что говорит о воспалительном процессе, происходящем в организме, которое может быть связано длительным раздражением и травмами пищевода зондом при введении препарата.

Характер воздействия исследуемого соединения на биохимические показатели, определяемые в сыворотке крови белых крыс, представлены в таблице 34.

Таблица 34 - Биохимические показатели белых крыс, после 60-дневного введения Линарола Ф-1

Показатели	Группы животных			
	Контрольная (дист.вода)	I опытная (10 мг/кг)	II опытная (100 мг/кг)	III опытная (200 мг/кг)
Глюкоза (ммоль/л)	6,39±0,92	6,2±0,15	5,01±0,43	4,69±0,22
АЛТ (МЕ/л)	51,4±3,53	49,4±2,4	74,2±11,73	84,4±9,93**
АСТ (МЕ/л)	124,4±7,64	106,2±10,07	103,4±9,34	107,4±10,38
Общий белок (г/л)	66,8±1,85	65,8±1,08	69±2,26	73,8±0,74**
Альбумины (г/л)	32,44±1,28	32,35±0,58	35,65±1,34	36,04±0,6*
α1-глобулины(г/л)	5,64±0,63	5,28±0,78	2,81±0,34**	2,02±0,17**
α2-глобулины(г/л)	4,44±0,37	4,38±0,69	5±0,22	5,56±0,5
β-глобулины(г/л)	11,75±0,84	11,96±0,88	13,82±0,3*	17,31±0,72**
γ-глобулины(г/л)	13,83±0,43	13,36±0,74	9,38±0,55**	13,11±0,55
А/Г	0,9±0,03	0,92±0,03	1,14±0,03**	0,95±0,03
Креатинин (ммоль/л)	0,049±0,01	0,053±0,01	0,049±0,01	0,048±0,01
Мочевина (моль/л)	4,3±0,36	4,65±0,53	5,32±0,34*	4,54±0,9

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ ; \*\* -  $P \leq 0,01$ .

Из таблицы 34 следует, что животных первой опытной группы, получавших препарат, в дозе 10 мг/кг массы тела, в течение 60 суток, биохимические показатели крови практически не отличались от таковых у контрольной группы.

У белых крыс второй опытной группы, получавших препарат в дозе 100 мг/кг массы тела, в сравнении с животными контрольной группы, достоверно изменялись показания глобулинов. Так количество α1-глобулинов было меньше практически в два раза: 5,64 г/л у контрольной группы и 2,81 г/л у опытной, количество γ-глобулинов так же снижалось и составило 13,83 г/л и 9,38 г/л соответственно, хотя этот показатель в третьей опытной группе, где животные получали препарат в дозе 200 мг/кг массы тела был в норме и не отличался от такового в контрольной группе. Количество же β-глобулинов, наоборот незначительно увеличилось (11,75 г/л у контрольной группы и 13,82 г/л у опытной).

Основные изменения биохимических показателей сыворотки крови белых крыс отмечались при введении соединения в дозе 200 мг/кг массы тела. Так, в частности, отмечалось достоверное увеличение на 61%, по сравнению с контрольной группой, аланинаминотрансферазы (АЛТ). Синтез данного фермента происходит внутриклеточно, наиболее высокая активность выявляется в печени и почках, и в кровь его поступает ограниченное количество. Поэтому повышенное содержание АЛТ свидетельствует о наличии ряда отклонений, связанных с разрушением органов, которое и приводит к резкому выбросу в кровь фермента. Кроме того, достоверно увеличивалось на 10% содержание общего белка и на 47%  $\beta$ -глобулинов. По остальным биохимическим показателям, отраженным в таблице 35, третья опытная группа животных не отличалась от таковых в контрольной группе.

Проведенные экспериментальные исследования Линарола Ф-1 показали, что внутрижелудочное, ежедневное введение препарата, в дозах 10, 100 и 200 мг/кг массы тела, в течение 60 суток, ни в одном случае не привело к гибели белых крыс, однако вес в опытной группе, получавшей препарат в дозе 200 мг/кг массы, к окончанию эксперимента снижался на 7%, тогда как в контрольной группе этот показатель увеличивался на 7%.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что препарат не обладает выраженной хронической токсичностью в дозах 10 и 100 мг/кг массы тела, при ежедневном введении, в течение 60 суток.

Исследования периферической крови животных, получавших препарат в дозах 10, 100 и 200 мг/кг массы тела, в течение 60 суток, показало, что Линарол Ф-1 не влияет на гематологические показатели белых крыс.

Введение препарата в дозах 10 и 100 мг/кг массы тела, в течение 60 суток не повлияло на биохимические показатели сыворотки крови опытных животных и практически не отличалось от таковых у контрольной группы. В то же время, введение препарата в дозе 200 мг/кг массы тела, в течение 60 суток привело к достоверному увеличению количества АЛТ, общего белка и  $\beta$ -глобулинов, что

свидетельствует о наличии ряда отклонений, связанных с нарушением работы печени и обмена веществ в организме.

#### 2.2.5.4.6 Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств Линарола Ф-1 на белых крысах

Опыты по изучению влияния Линарола Ф-1 на эмбриональное развитие и генеративную функцию яичников животных, проведены на 20 половозрелых самках белых крысах, массой 190 - 250 грамм, которые были разделены на 2 группы, по 10 животных в каждой. Первая опытная группа получала препарат внутривентрикулярно, в дозе 1/10 от максимально вводимой (400 мг/кг массы тела), в течение всей беременности, а вторая - контрольная группа в аналогичных дозах растворитель (дистиллированную воду).

Результаты исследования эмбриотоксической активности Линарола Ф-1 представлены в таблице 35.

Таблица 35 - Показатели эмбриотоксической активности Линарола Ф-1 на белых крысах

Показатели:	Группы животных	
	контрольная	опытная
1	2	3
Количество крыс в группе	5	5
Количество желтых тел в яичниках	58	55
Количество мест имплантации	55	52
Количество живых плодов	53	50
Количество мертвых плодов	-	-
Предимплантационная гибель зигот, %	8,68±0,54	9,34±0,12
Постимплантационная гибель эмбрионов, %	5,17±0,72	6,17±0,66
Общая эмбриональная смертность, %	13,85±1,26	15,51±0,78
Масса плода, г	2,95±0,03	2,88±0,04*
Длина плаценты, см	1,27±0,04	1,25±0,02
Краниокаудальные размеры плода, см	3,12±0,04	3,08±0,03

Примечание: \* -  $p > 0,05$

Анализ проведённых исследований (таблица 35) показал, что Линарол Ф-1 не влияет на репродуктивные качества крыс. Показатели пред- и постимплантационной гибели у опытных и контрольных животных практически

не отличались. При этом количество жёлтых тел и мест имплантации в группах, примерно было равным и не отличалось более чем на 1%.

Вскрытие самок белых крыс на 20 сутки беременности, показало практически равное количество живых и мертвых плодов в обеих группах. Общая эмбриональная смертность в группе, получавшей препарат Линарол Ф-1, больше на 1,66%, чем в контрольной.

Краниокаудальный размер плодов белых крыс как в контрольной, так и в опытной группах были примерно одинаковыми и составили  $3,12 \pm 0,04$  см и  $3,08 \pm 0,03$  см, соответственно. Масса плодов крыс между контрольной и опытной группами существенно не отличались и были равны  $2,95 \pm 0,03$  г и  $2,88 \pm 0,04$  г, соответственно.

Изучение тератогенного действия препарата при внешнем осмотре извлечённых из матки плодов животных опытной и контрольной групп, видимых морфологических изменений не наблюдалось. В ходе исследования состояния внутренних органов плодов методом Вильсона, аномалий развития, а также нарушение их топографии не установлено.

По мере приготовления препаратов плодов по методу Даусона проводили их визуальное изучение под бинокулярной лупой. В результате чего было установлено, что топография костных и хрящевых закладок в скелете плодов опытной группы не нарушается. Нарушений в оссификации костей черепа, плечевого, тазового пояса конечностей и отклонений в строении скелета, также не установлено.

Изучение нарушений эмбрионального развития, проявляющихся в постнатальном периоде, проводили на 5 крысах, от которых было получено потомство. Анализ полученных результатов показал, что препарат не влияет на массу тела и продолжительность беременности самок опытной группы (таблица 36).

Таблица 36 - Изменение массы тела и продолжительность беременности крыс при внутрижелудочном введении Линарола Ф-1 в течение всей беременности

Показатели:	Группы животных	
	контрольная	опытная
Масса тела беременных крыс, г	177,9±2,81	186,3±2,47*
На 6-е сутки, г	191,0±2,27	198,7±2,05
На 15-е сутки, г	210,7±2,52	217,3±2,26
Продолжительность беременности, дни	22,6±0,17	22,8±0,14

Примечание: \* -  $p < 0,05$ .

Результаты изучения постнатального развития потомства самок белых крыс при внутрижелудочном введении Линарола Ф-1 в течение всей беременности, представлены в таблице 37.

Из полученных данных видно, что мертворожденных крыс в опытной группе не наблюдалось. Показатели динамики массы тела новорожденных крысят от опытных животных на 1, 3, 5, 14, 20 и 28 сутки жизни не имели значительных изменений по отношению к группе биологического контроля. Также существенно не отличались от контроля такие показатели, как срок отлипания ушей, срок опушения, сроки прозрения и прорезывания резцов. Постнатальная смертность в опытной группе была на 0,34% больше, чем в контрольной группе.

Таблица 37 - Показатели развития потомства белых крыс при внутрижелудочном введении Линарола Ф-1, в течение всей беременности в дозе 400 мг/кг массы тела

Показатели:	Группы животных	
	контрольная	опытная
1	2	3
Число родившихся крысят	54	55
Мертворождения, %	0	0
Масса тела крысят, г:		
новорожденные	5,12±0,06	5,22±0,08
на 3-и сутки	7,00±0,05	7,1±0,07*
5-е сутки	9,27±0,07	9,34±0,08
14-е сутки	16,76±0,1	16,97±0,13
20-е сутки	22,63±0,12	22,93±0,07
28-е сутки	30,9±0,44	31,46±0,31
Срок отлипания ушей, дни	6,43±0,32	6,14±0,28

1	2	3
Срок опущения, дни	8,57±0,32	8,14±0,28
Срок прозрения, дни	15,57±0,22	15,14±0,15
Срок прорезывания резцов, дни	9,29±0,2	9,14±0,15
Постнатальная смертность к 21 дню, %	1,10±0,82	1,44±0,75

Примечание: \* -  $p > 0,05$ .

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что препарат Линарол Ф-1, при внутрижелудочном введении, в дозе 1/10 от максимально (400 мг/кг массы тела), в течение всей беременности белым крысам, не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действиями.

#### 2.2.5.4.7 Изучение фармакокинетики Линарола Ф-1

Опыты были проведены на 27 крысах-самцах линии Вистар с массой 180-220 грамм. Животных содержали в условиях лабораторного вивария, на стандартной диете со свободным доступом к воде и пище.

Для изучения фармакокинетики [ $^3\text{H}$ - G]-Линарола Ф-1 в плазме крови экспериментальных животных и процесса распределения его по органам и тканям использовали метод количественного определения с использованием радиоизотопной метки, для чего предварительно осуществляли химический синтез по вводу трития в структуру препарата. Радиоактивный препарат обладал следующими характеристиками: а) молярная радиоактивность 1200 Ки/моль; б) объемная радиоактивность 500  $\mu\text{Ки/мл}$ ; в) радиохимическая чистота более 94%.

[ $^3\text{H}$ - G]-Линарол Ф-1 вводили крысам однократно внутривентриально в дозе 20 мг/кг. Содержание меченых продуктов определяли в плазме крови и лёгких через 1/12; 1/6; 1/4; 1/2; 1.0; 8.0; 18,0; 24 и 96 часов после введения препарата. Крыс умерщвляли методом декапитации. На каждую дискретную точку было взято по 3 животных.

Кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут с последующим выделением плазмы. Образцы ткани лёгких крыс предварительно взвешивали на электронных весах, после чего проводили их гомогенизацию в дистиллированной воде с помощью гомогенизатора Поттера. В пробирки,

содержащие по 0,3 мл плазмы крови или гомогенаты, разбавленные в 6 раз раствором хлористого натрия (0,9%), добавляли по 1,5 мл 96% муравьиной кислоты. Далее содержимое пробирок нагревали на кипящей водяной бане до полного гидролиза в течение 1 часа.

Измерение радиоактивности проводили с помощью жидкостно-сцинтилляционного счетчика TriCarb TR290. Подготовленные биологические образцы в объеме 300 мкл суспензий вносили в сцинтилляционные флаконы, содержащие 20 мл сцинтилляционного коктейля «OptiPhase 'HiSafe'3», выдерживали 2 часа в темноте, после чего помещали в счетчик. Определение уровня радиоактивности (число распадов в минуту, DPM) и эффективности счёта проводили с помощью программы MULTICALC. Эффективность счёта в данных условиях составила 33-38%.

Количественное определение Линарола Ф-1 в биопробах проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочная кривая была построена при измерении радиоактивности известного количества меченого [<sup>3</sup>H- G]-Линарола Ф-1. Построенный калибровочный график описывается линейным уравнением вида:  $y = Ax + B$ , где  $A = 3,18 \cdot 10^{-4}$   $B = 4,49 \cdot 10^{-3}$ ; коэффициент корреляции  $r = 0,9999$ . Минимально определяемая концентрация [<sup>3</sup>H-G]-Линарола Ф-1 0,02 мкг/мл.

Расчет количественного содержания [<sup>3</sup>H- G]-Линарола Ф-1 в биопробах проводили по формуле:  $C = \text{ДРМ} \times C_{\text{рсо}} / \text{ДРМ}_{\text{рсо}} \times V_{\text{пр}}$ , где:

ДРМ- число распадов [<sup>3</sup>H- G]-Линарола Ф-1 в минуту;

ДРМ<sub>рсо</sub> - число распадов стандартного образца [<sup>3</sup>H-G]- Линарола Ф-1;

C<sub>рсо</sub> - концентрация раствора стандартного образца [<sup>3</sup>H-G]- Линарола Ф-1, мкг/мл и мкг/г;

V<sub>пр</sub> - объем биологического материала, взятого на анализ, мл.

Полученные цифровые данные подвергали математической статистической обработке. Фармакокинетические параметры [<sup>3</sup>H-G]-Линарола Ф-1 в биофазе рассчитывали с использованием программ «Comstat» и «M-ind». Расчет коэффициента распределения [<sup>3</sup>H- G]-Линарола Ф-1 в органах и тканях крыс проводили по следующей формуле:  $AUC_{\text{орган}} / AUC_{\text{плазма крови}}$ .

Фармакокинетические параметры, используемые для интерпретации экспериментальных данных:

- $AUC_{0-t}$  (мкг/мл×ч) - площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой концентрация лекарственного вещества - время) после введения крысам.  $AUC_{0-t}$  рассчитывается от момента введения до бесконечности времени;
- $T_{max}$  (ч) - время достижения максимальной концентрации препарата в плазме крови после перорального введения;
- $C_{max}$  (мкг/мл) - максимальная концентрация лекарственного вещества (ЛВ) в плазме крови после перорального введения;
- $C_{max}/AUC$  (ч<sup>-1</sup>)- параметр, характеризующий скорость всасывания препарата в системный кровоток;
- $MRT$  (ч) - среднее время пребывания ЛВ в организме;
- $t_{1/2el}$  (ч) - период, за который выводится половина введенной и всосавшейся дозы ЛВ;
- $f_T$  - тканевая доступность, рассчитывается по формуле:  $f_T = AUC_{T\ 0-t} / AUC_{P\ 0-t}$ , где  $AUC_{T\ 0-t}$  - AUC в ткани,  $AUC_{P\ 0-t}$  - AUC в плазме крови.

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математической статистической обработке с помощью программы «Excel v.7.0». В таблицах представлены средние арифметические значения величин (M) и стандартная ошибка среднего арифметического (m).

Меченный тритием Линарол Ф-1 был получен с использованием реакции высокотемпературного твердофазного каталитического изотопного обмена (ВТКИО). Хроматографическая очистка была выполнена на колонке Kromasil C18 150x8 мм в градиенте метанола в присутствии 0,1% гептафтормасляной кислоты.

Результаты измерения концентраций меченой субстанции в плазме крови крыс в различные промежутки времени представлены в таблице 38.

Таблица 38 - Концентрации меченой субстанции в плазме крови белых крыс (мкг/мл плазмы)

Опытные животные	Сроки исследования								
	5 мин.	10 мин.	15 мин.	30 мин.	60 мин.	8 ч.	18 ч.	1 сут.	4 сут.
№1	0,89	14,39	22,46	16,50	16,84	13,45	9,256	9,83	6,44
№2	0,93	15,74	22,25	20,56	14,80	12,31	10,66	9,08	6,38
№3	0,99	17,32	19,78	18,25	13,67	15,48	11,28	11,35	5,85
М	0,94	15,82	21,5	18,44	15,11	13,76	10,40	10,09	6,23
m	0,03	0,85	0,86	1,18	0,93	0,92	0,6	0,67	0,19

Результаты измерения концентраций меченой субстанции в ткани лёгких крыс в различные промежутки времени представлены в таблице 39.

Таблица 39 - Концентрации меченой субстанции в ткани лёгких белых крыс (мкг/мл ткани)

Опытные животные	Сроки исследования								
	5 мин.	10 мин.	15 мин.	30 мин.	60 мин.	8 ч.	18 ч.	1 сут.	4 сут.
1	0,69	16,53	19,91	17,23	14,61	11,27	9,038	8,47	5,59
2	0,70	17,98	19,16	17,94	11,11	10,46	10,46	7,66	5,33
3	0,76	19,98	17,28	18,03	11,74	12,76	11,34	9,41	4,68
М	0,72	18,17	18,79	17,6	12,49	11,5	10,27	8,52	5,20
m	0,02	1,00	0,78	0,25	1,08	0,67	0,67	0,50	0,27

В ткани легких концентрация меченой субстанции нарастает так же быстро, как и в крови, выходя на максимальное плато (18 мкг/г ткани) на 10-15 минуте после введения вещества. К концу 4-х суток уровень меченой субстанции снижался до значения 5 мкг/г ткани.

Рассчитанные показатели фармакокинетики [<sup>3</sup>H-G]-Линарола Ф-1 отражены в таблице 40.

Таблица 40 - Показатели фармакокинетики [<sup>3</sup>H-G]-Линарола Ф-1

Объект	t <sub>1/2abs</sub> (час)	t <sub>1/2e11</sub> (час)	t <sub>1/2e12</sub> (час)	MRT (час)	V <sub>d1</sub> (л/кг)	V <sub>d2</sub> (л/кг)	T <sub>max</sub> (час)	C <sub>max</sub> (мкг/мл(г))	AUC <sub>0→t</sub> (мкг/мл(г)×час)	f <sub>T</sub> (%)
Плазма	0,17	0,31	87,36	125,6	0,36	1,16	0,25	21,5	21,50	-
Легкие	-	0,28	110,63	158,8	-	-	0,25	18,8	18,79	100

Из результатов, отраженных в таблице 40, видно, что препарат быстро всасывается из брюшной полости в кровь со скоростью абсорбции 0,17 часов (t<sub>1/2abs</sub>) и достигает максимальной концентрации (T<sub>max</sub>) в плазме крови и легких

через 0,25 часов. Значения максимальной концентрации вещества ( $C_{\max}$ ) составляли: в плазме крови - 21,50 мкг/мл, в легких - 18,8 мкг/г. В дальнейшем кинетическая кривая для [ $^3\text{H-G}$ ]-Линарола Ф-1, как в плазме крови, так и в легких описывается 2-х камерной моделью, что видно из рисунка б (а и б).

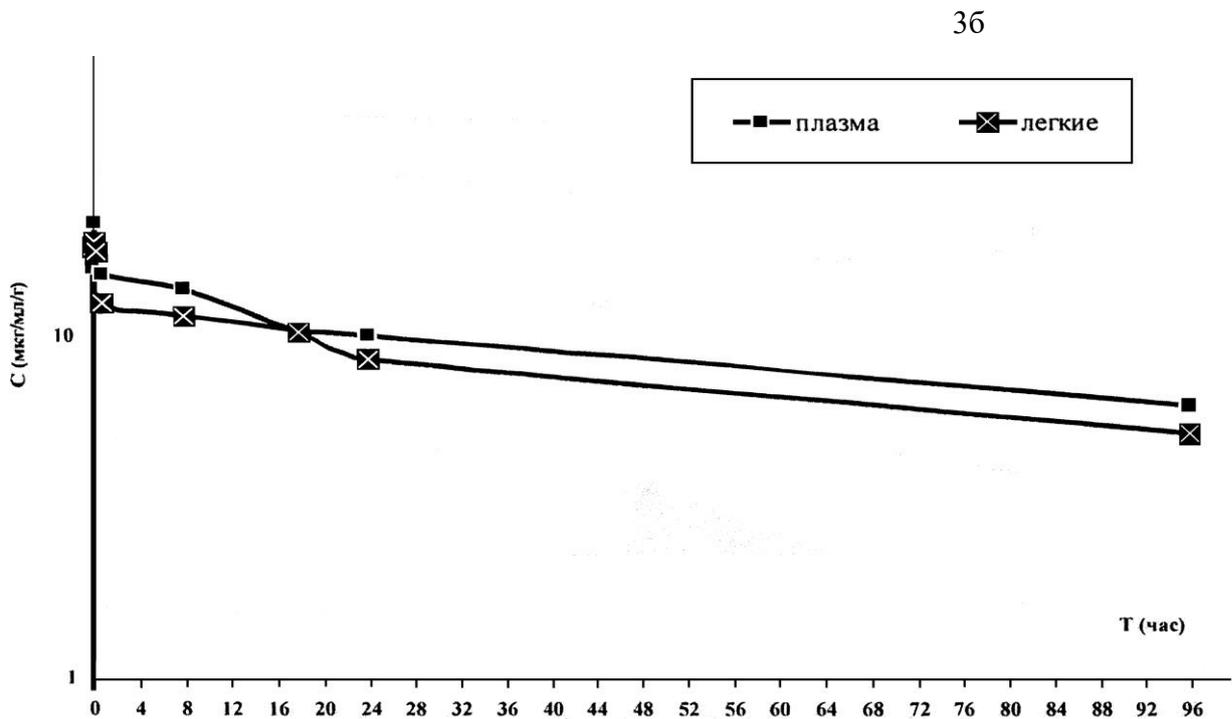
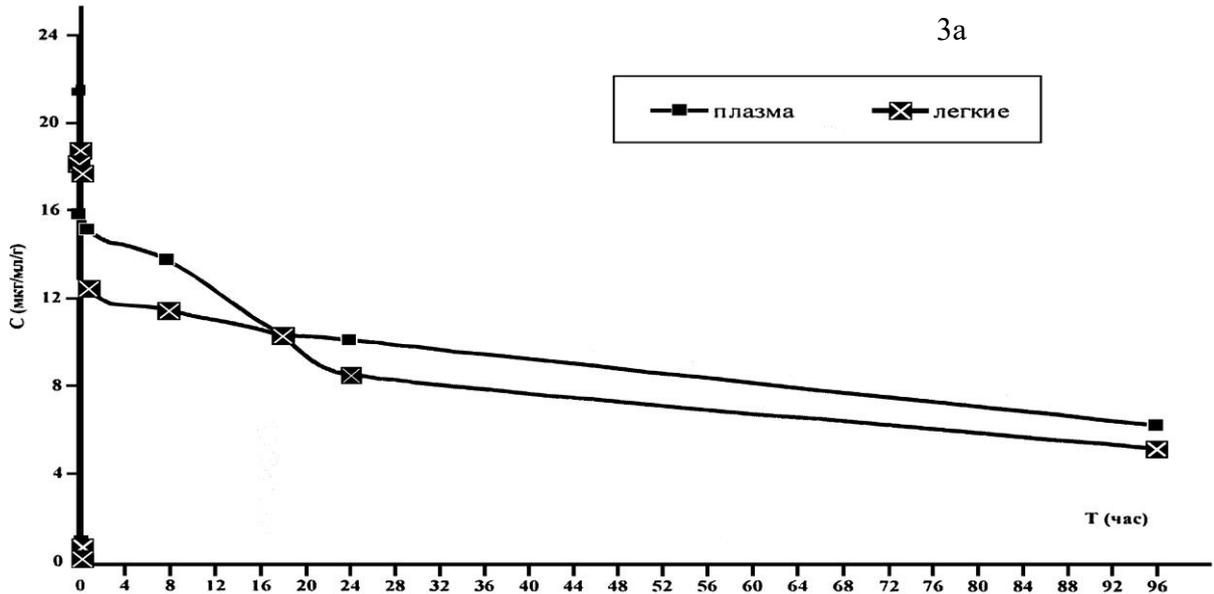


Рисунок 6 а и б - Кинетические кривые для [ $^3\text{H-G}$ ]-Линарола Ф-1 в плазме крови и легких крыс после его внутрибрюшинного введения в дозе 20 мг/кг (а - натуральная шкала, б - полулогарифмическая шкала)

Так, полупериод элиминации вещества в плазме крови во 2-ой фазе ( $t_{1/2e12}$ ) в 281 раз выше по сравнению с 1 фазой элиминации ( $t_{1/2e11}$ ), а для легких - в 395 раз. Объем распределения [3Н- G]-Линарола Ф-1 ( $V_{d2}$ ) во 2-ой камере (в периферических органах и тканях) также в 3,2 раза выше по сравнению с 1-ой центральной камерой (0,36), о чем свидетельствует значение тканевого проникновения Линарола Ф-1 в легкие ( $f_T$  -100%).

Таким образом, при изучении фармакокинетики [3Н- G]-Линарола Ф-1 установлено, что уровни концентраций субстанции в плазме крови белых крыс при однократном, внутривенном введении его в дозе 20 мг/кг массы тела, быстро возрастают к 15 минуте после введения до 22 мкг/мл, после чего плавно уменьшаются до 6 мкг/мл к концу 4-х суток. В легких всасывание меченой субстанции происходит так же быстро, как и в крови, выходя на максимальное плато (18 мкг/г ткани) на 10-30 минуте после введения вещества. К концу 4-х суток уровень меченой субстанции снижается до значения 5 мкг/г ткани.

В результате чего, Линарол Ф-1 по данным предварительных фармакокинетических исследований можно отнести к долгоживущим химическим веществам с хорошей способностью проникновения в легочную ткань, что имеет важное фармакологическое значение при профилактике и терапии легочных форм туберкулеза.

## **2.2.6 Изучение противотуберкулезной активности Тубофена in vivo**

### **2.2.6.1 Изучение профилактической активности Тубофена на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок**

Для проведения эксперимента использовали 56 морских свинок, весом 350-400 грамм, которых разделили на 8 групп. Из них 6 групп опытные, по 8 животных в каждой, и 2 контрольные, по 4 животных в каждой.

После адаптации морских свинок к условиям вивария, провели исследование их на туберкулез путем внутрикожного введения 0,1 мл ППД туберкулина для млекопитающих (стандартный раствор). Реакцию учитывали через 24 часа после введения аллергена. Морские свинки не реагировали на туберкулин.

Затем животных 6-ти опытных и одной контрольной групп заражали 20 дневной оттитрованной культурой возбудителя туберкулеза бычьего вида (штамм 14). Бактериальную массу, из расчета 0,15 мг на животное вводили под кожу правой паховой области в 0,5 мл физиологического раствора.

Химиопрофилактику туберкулеза морских свинок начали производить на следующий день после заражения. Животным шести контрольных групп, перорально, с помощью атравматического зонда с оливой, надетого на шприц, ежедневно вводили растворы Тубофена и изониазида. Причем, морские свинки первой подопытной группы получали Тубофен в дозе 20 мг/кг массы, второй – 10 мг/кг массы, третьей – 5 мг/кг массы, четвертой – 2,5 мг/кг массы, пятой – 1 мг/кг массы и животные шестой группы получали изониазид в дозе – 10 мг/кг массы. Животные 7 и 8 контрольных групп получали ежедневно, перорально растворитель (дистиллированную воду).

Опыт продолжался 60 дней. За животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования, а также аллергические исследования на туберкулез.

Схема испытания Тубофена и изониазида отражена в таблице 41.

Таблица 41 - Схема испытания профилактической активности Тубофена на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок

Группы животных	Кол-во животных, гол.	Препарат	Доза, мг/кг	Кратность введения	Количество животных убитых по срокам, дни	
					30	60
I	8	Тубофен	20,0	каждый день	2	6
II	8	Тубофен	10,0	каждый день	2	6
III	8	Тубофен	5,0	каждый день	2	6
IV	8	Тубофен	2,5	каждый день	2	6
V	8	Тубофен	1,0	каждый день	2	6
VI	8	изониазид	10,0	каждый день	2	6
VII	4	Контроль (зараженные)	-	-	1	3
VIII	4	Контроль (интактные)	-	-	1	3

С целью уточнения динамики развития туберкулезных изменений в организме зараженных животных на 30 день после заражения и по окончании срока химиопрофилактики (60 дней), провели контрольный убой морских свинок. Результаты исследования профилактических свойств Тубофена и изониазида при экспериментальном туберкулезе морских свинок, отражены в таблице 42.

Из полученных данных видно, что за время проведения опыта все животные 1, 2, 3, 4 и 6 опытных групп выжили, в то время как 3 морские свинки из 5-ой опытной, получавшие Тубофен в дозе 1 мг/кг массы, и все животные 7-ой контрольной группы (зараженные, не профилактируемые туберкулостатиками) погибли.

В результате проведенных аллергических исследований морских свинок установлено, что животные 1, 2, 3 и 6 опытных групп не реагировали на введение туберкулина ни через 30 дней, ни через 60 дней после заражения их микобактериями туберкулеза бычьего вида. Отрицательный результат аллергических исследований также отмечался у животных 8 группы (интактные).

Таблица 42 - Результаты испытания химиофилактической активности Тубофена при экспериментальном туберкулезе морских свинок

Группы животных	Препарат	Суточная доза, мг/кг	Исход		Результат аллергического исследования			Средний индекс поражения органов и высеваемости микобактерий						Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий
			погибло	выжило	до заражения	После заражения через		Место заражения	Тимф. узль	Регионарн. лимф. узел	Легкие	Печень	Селезенка	
						30 дн	60 дн							
I	Тубофен	20	-	8	-	-	-	0	0	0 <sup>1</sup> /0 <sup>2</sup>	0/0	0/0	0/0	0/0
II	Тубофен	10	-	8	-	-	-	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
III	Тубофен	5	-	8	-	-	-	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
IV	Тубофен	2,5	-	8	-	+	+	0,83	1	1,3/2,16	1,16/1,83	1,5/1,5	0,66/1,16	6,45/6,65
V	Тубофен	1	3	5	-	+	+	1,3	2,8	3,3/3,16	3/2,8	3,5/3,5	3,16/3	17,06/12,46
VI	Изониазид	10	-	8	-	-	-	0	0	0,37/0	0/0	0/0	0/0	0,37/0
VII	Контроль (зараженные)	-	4	-	-	+	+	1,3	3,3	4,0/3,6	3,6/3	4/3,6	4/2,6	20,2/12,8
VIII	Контроль, (интактные)	-	-	4	-	-	-	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Примечание: 1 – индекс поражения органов;  
2 – индекс высеваемости микобактерий.

У морских свинок 4 и 5 групп, получавших Тубофен в дозах 2, 5 и 1 мг/кг массы, а также у животных 7-ой контрольной группы, через 30 и 60 дней после заражения наблюдалось резко выраженная аллергическая реакция в местах введения ППД туберкулина для млекопитающих (стандартный раствор), которая проявлялась в виде гиперемии кожи в местах введения аллергена и образования уплотненной припухлости, диаметром более 5 мм.

При контрольном убое двух морских свинок из 1, 2, 3 и 6 контрольных групп через 30 дней после заражения во внутренних органах и тканях патологических изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. При лабораторном исследовании патологического материала от животных данных групп выделить исходную культуру микобактерий туберкулеза не удалось.

У морских свинок 4-ой опытной группы отмечались единичные туберкулезные очажки в печени и легких, а также увеличение регионарных лимфатических узлов до размеров крупной горошины в местах заражения животных микобактериями туберкулеза. У животных 5-ой подопытной и 7-ой контрольных групп через 30 дней после заражения отмечали резкое увеличение объема печени и селезенки, содержащие в себе множественные туберкулезные очажки. В легких также отмечались единичные бугорковые высыпания. Регионарные лимфатические узлы были увеличены и достигали размеров фасоли. При лабораторном исследовании патологического материала от животных 4 и 5 подопытных групп, а также от 7-ой контрольной группы, получен положительный результат, от всех животных была выделена исходная культура микобактерий туберкулеза.

Всех животных контрольных и опытных групп, прошедших курс химиопрофилактики (60 дней), подвергали убою. На основании патологоанатомических и бактериологических исследований установили средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза. У первых трех подопытных групп, получавших Тубофен в дозах 5, 10 и 20 мг/кг массы, а также у 8-ой контрольной интактной группы, этот индекс равнялся 0/0. При исследовании патологического материала от 4-ой подопытной группы

животных, получавших Тубофен в дозе 2,5 мг/кг массы, средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий составил 6,45/6,65, у 5-ой подопытной группы животных, получавших Тубофен в дозе 1 мг/кг массы, этот показатель оказался выше (17,06/12,46) и практически достигал таковой у 7-ой контрольной группы (20,2/12,8).

При исследовании патологического материала от 6-ой подопытной группы морских свинок, получавших изониазид в дозе 10 мг/кг массы, у 2 из 8 животных отмечалось значительное увеличение регионарных правых паховых лимфатических узлов. Однако, при посеве последних на питательную среду Левенштейна-Йенсена роста микобактерий туберкулеза не отмечалось, и средний общий индекс поражения органов и высеваемость микобактерий у морских свинок данной группы составил 0,37/0.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что Тубофен проявил достаточно высокий профилактический эффект и обладает выраженными туберкулоостатическими свойствами в дозах 5, 10 и 20 мг/кг массы животного. Вместе с тем, изониазид в дозе 10 мг/кг массы оказался менее активным и в 2 из 8 случаев экспериментального туберкулеза у морских свинок не достаточно полно проявил профилактический эффект.

#### **2.2.6.2 Влияние Тубофена на гематологические показатели морских свинок при химиопрофилактике туберкулеза**

Для проведения опыта использовали 56 морских свинок, которые находились в эксперименте по изучению активности Тубофена при экспериментальной модели туберкулеза. Кровь брали перед заражением животных микобактериями, а также через 30 суток и после окончания курса химиопрофилактики (60 суток).

Результаты исследования влияния Тубофена на гематологические показатели морских свинок при химиопрофилактике туберкулеза представлены в таблице 43.

Таблица 43 - Гематологические показатели морских свинок при химиопрофилактике туберкулеза различными дозами Тубофена

Группы животных	До начала курса химиопрофилактики			Через 30 дней			Через 60 дней		
	Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	Гемоглобин (г/л)	Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	Гемоглобин (г/л)	Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	Гемоглобин (г/л)
I	5,24±0,3*	8,4±0,97	12,5±0,5	5,93±0,34*	8,96±0,48**	12,52±0,54	6,35±0,21	9,02±0,52	13,66±0,32
II	6,02±0,44	9 ±0,93*	13,56±0,48	5,77±0,36*	8,44±0,41**	12,44±0,4	5,93±0,22	8,7±1,1	12,74±0,48
III	5,74±0,3*	7,2±0,47	13,08±0,49	6,06±0,38*	8,12±0,32**	13,24±0,59	6,62±0,2	7,22±0,43	13,54±0,59
IV	6,68±0,29	7,64±0,49	12,46±0,7	7,36±0,51*	12,64±0,69**	11,46±0,52	8,16±0,8	12,14±0,47	13,2±0,46
V	6,02±0,43	8,14±0,47	13,44±0,49	4,99±0,47*	16,16±0,33*	9,08±0,36	-	-	-
VI	5,87±0,31	6,22±0,35	12,8±0,43	5,32±0,33*	9,04±0,47**	12,4±0,45	6,55±0,32	9,2±0,87	14±0,48
VII	6,62± 0,25	8,65±0,35	14,3±0,4	3,84±0,21	17,83±0,48	8,4±0,31	-	-	-
VIII	5,37±0,33	7,27±0,57	13,67±0,37	6,49±0,35	7,05±0,54	13,75±0,48	6,02±0,46	7,7±0,59	13,37±0,33

Примечание: \* -  $p < 0,01$ ; \*\* -  $p < 0,05$ .

Из данных таблицы 43 видно, что у животных первых трех опытных групп, получавших Тубофен в дозах 20, 10 и 5 мг/кг массы, а также у животных шестой опытной группы, получавших изониазид в профилактической дозе – 10 мг/кг массы, каких-либо отклонений гематологических показателей от физиологической нормы в течение всего курса химиопрофилактики не наблюдалось.

У животных четвертой опытной группы, получавших Тубофен в дозе 2,5 мг/кг массы, через 30 дней и после окончания курса химиопрофилактики наблюдали незначительный лейкоцитоз –  $12,64 \pm 0,69 - 12,14 \pm 0,47 \times 10^9/\text{л}$  и эритроцитоз –  $7,36 \pm 0,51 - 8,16 \pm 0,8 \times 10^{12}/\text{л}$ . Содержание гемоглобина находилось в пределах физиологической нормы –  $11,46 \pm 0,52 - 13,2 \pm 0,46$  г/л.

У животных пятой опытной группы, получавших Тубофен в дозе 1 мг/кг, через 30 дней после начала курса химиопрофилактики количество лейкоцитов резко увеличилось с  $8,14 \pm 0,47$  до  $16,16 \pm 0,33 \times 10^9/\text{л}$ . Количество эритроцитов уменьшилось с  $6,02 \pm 0,43$  до  $4,99 \pm 0,47 \times 10^{12}/\text{л}$ , количество гемоглобина с  $13,44 \pm 0,49$  до  $9,08 \pm 0,36$  г/л. Определить среднестатистические данные гематологических показателей у данной группы морских свинок после окончания курса химиопрофилактики не удалось, так как количество выживших животных составляло 3 головы.

Морские свинки седьмой контрольной группы, имели достаточно высокий уровень отклонения гематологических показателей от физиологической нормы, свидетельствующих о развитии в организме патологического процесса, вызванного микобактериями туберкулеза. Количество эритроцитов понизилось почти в 2 раза, с  $6,62 \pm 0,25$  до  $3,84 \pm 0,21 \times 10^{12}/\text{л}$  (эритропения), количество лейкоцитов возросло с  $8,65 \pm 0,59$  до  $17,83 \pm 0,48 \times 10^9/\text{л}$  (лейкоцитоз), а количество гемоглобина резко упало с  $14,3 \pm 0,4$  до  $8,4 \pm 0,31$  г/л. На 42 – 54 день после заражения все морские свинки седьмой контрольной группы погибли, и провести исследование гематологических показателей через 60 дней не удалось. У морских свинок восьмой контрольной (интактные) группы за весь период наблюдения (60 дней) каких-либо отклонений гематологических показателей от физиологической нормы не наблюдалось.

### **2.2.6.3 Патоморфологическое изучение профилактического действия Тубофена на экспериментальной модели туберкулеза**

Для оценки структурных изменений, возникающих в органах и тканях заражённых лабораторных животных, использовали 56 морских свинок, которые находились в эксперименте по изучению профилактической активности Тубофена при экспериментальной модели туберкулеза у морских свинок. Опыт продолжался 60 суток. По окончании опыта у павших и убитых животных были отобраны кусочки печени, селезенки, сердца, легких и почек.

При вскрытии павших морских свинок 7-ой контрольной группы (зараженные, не подвергавшиеся курсу химиопрофилактики) через 47 – 52 сутки после заражения отмечали патологические изменения, характерные для прогрессирующего первичного туберкулеза с генерализацией процесса. Печень больных животных была резко увеличена в объеме, на её поверхности и в толще наблюдали мелкие и крупные очаги некрозов. В отдельных участках органа располагались сравнительно крупные очаги некрозов, представляющих собой оксифильную массу детрита, с включением в нее обломков ядер и единичных клеток с пикноморфными ядрами (рисунок 7). В припухшей селезенке под капсулой и в толще органа обнаруживали многочисленные, мелкие и средних размеров узелки серого цвета, центральная часть которых была заполнена массой некроза. Рисунок строения органа на разрезе был нарушен, так как на значительной площади среза отмечались узелки с некротизированным центром (рисунок 8). В правом паховом, регионарном к месту заражения, лимфатическом узле, наблюдали диффузное проявление казеозного лимфаденита, вследствие чего, орган увеличился в 3 раза и более, приобрел плотную консистенцию. С поверхности разреза лимфатического узла выделялась серая творожистая масса.

Многочисленность гранул и наличие в них свежих очагов некроза с формированием зон гигантских клеток и подавление лимфо-пролиферативной реакции в исследованных органах свидетельствовали о прогрессирующем генерализованном течении инфекционного процесса в организме зараженных микобактериями туберкулеза животных 7-ой контрольной группы.

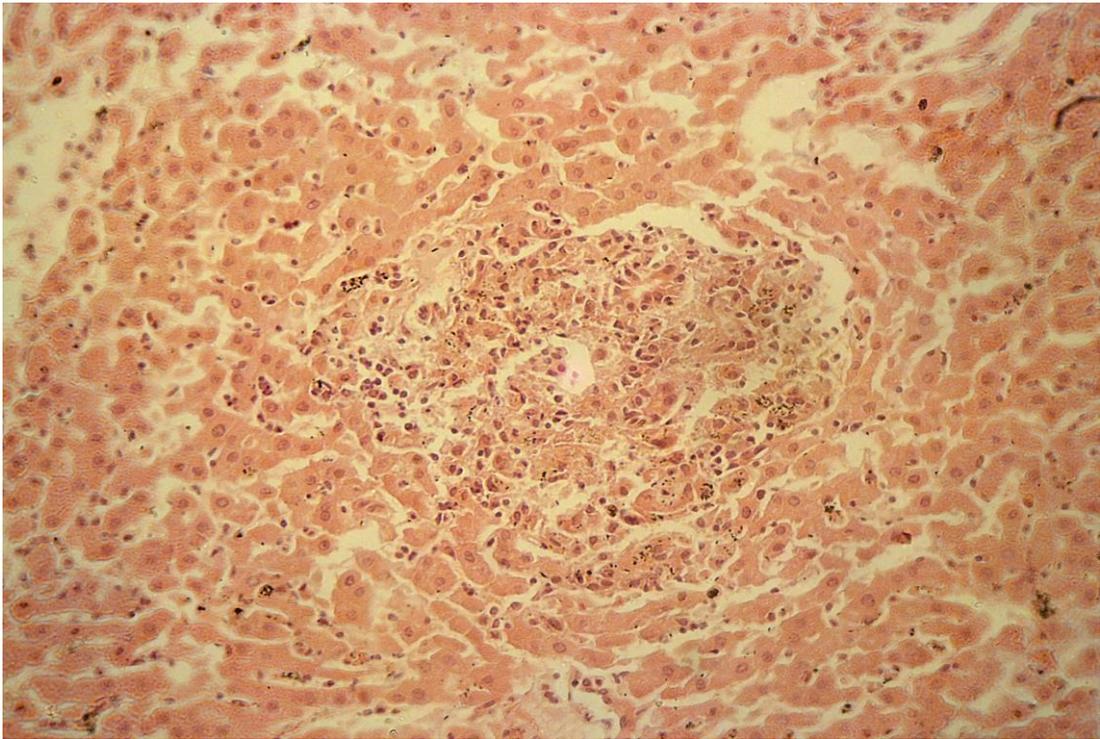


Рисунок 7 - Очаги некрозов в печени морской свинки 7-ой контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 280$ .

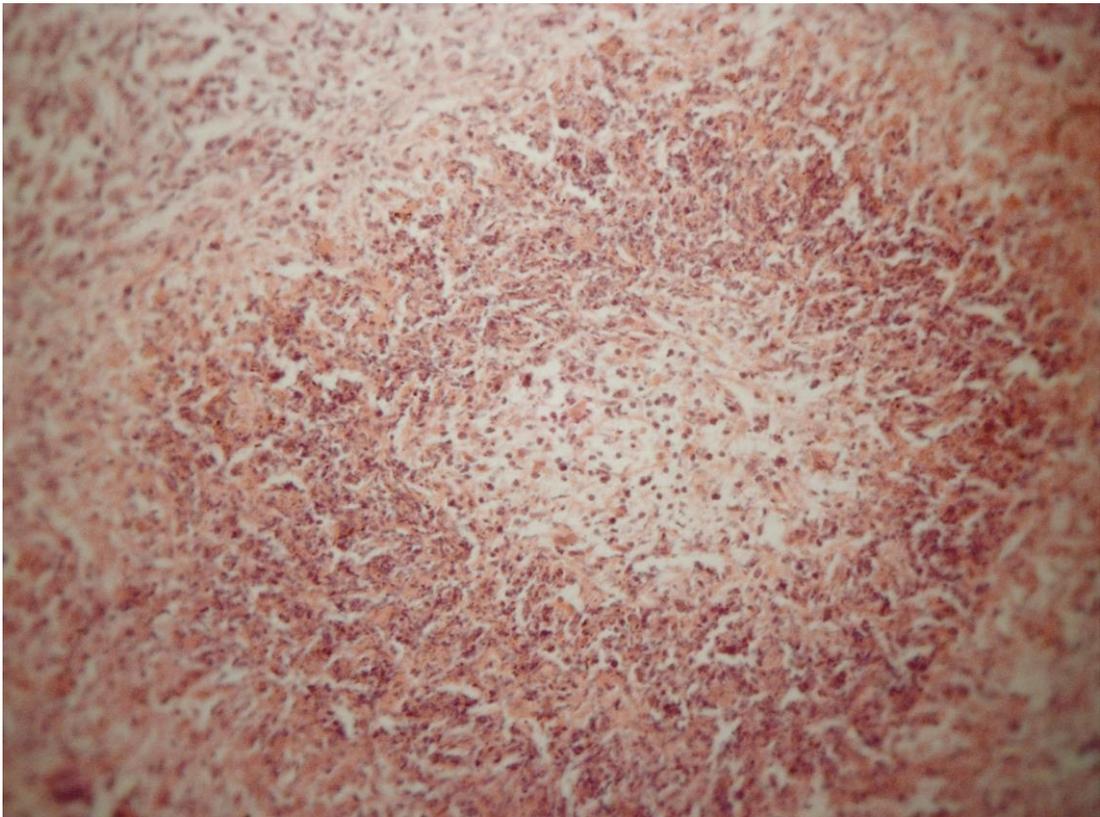


Рисунок 8 - Множественные специфические гранулемы и обширные очаги некроза в красной пульпе селезенки морской свинки 7-ой контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ .

При вскрытии зараженных микобактериями туберкулеза морских свинок 6-ой опытной группы, профилактируемых ежедневно в течение 60 суток изониазидом в дозе 10 мг/кг массы, макроскопических патоморфологических изменений характерных для туберкулеза обнаружить не удалось.

Вместе с тем, продолжительное применение препарата оказало неблагоприятное воздействие на течение обменных процессов в печени, селезенке и легких. Следует отметить заметное, по сравнению с контрольной группой животных, увеличение содержания звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и ослабление проявлений отеков перисинусоидальных пространств. Ставшие многочисленными клетки РЭС органа выделялись небольшим объемом цитоплазмы и конденсированностью ядра, что отражало их пониженную функциональную активность (рисунок 9). Селезенка подопытных морских свинок оставалась не увеличенной и была слабого кровенаполнения. Малочисленные, небольших размеров лимфатические узелки органа отличались разреженностью клеток лимфоидного ряда (рисунок 10), что свидетельствовало о цитотоксическом действии изониазида на лимфо-пролиферативную активность лимфоидной ткани.

При макроскопическом исследовании патологического материала от морских свинок 4-ой и 5-ой опытных групп, профилактируемых Тубофеном в дозе 2,5 и 1 мг/кг массы в течение 60 суток, отмечали в разной степени выраженности патологические изменения, свойственные туберкулезу, во многом идентичные изменениям, наблюдаемым у животных 7-ой контрольной группы (не подвергнутых воздействию противотуберкулезных препаратов).

Введение Тубофена зараженным морским свинкам в дозе 5 мг/кг массы (3 опытная группа), в течение 60 суток, привело к исчезновению видимых макроскопических изменений, свойственных туберкулезу. К этому сроку исследования гистологическая структура печени полностью сохранялась. Печеночные балки отличались полиморфизмом, среди них преобладали мелкие, округлой формы клетки.

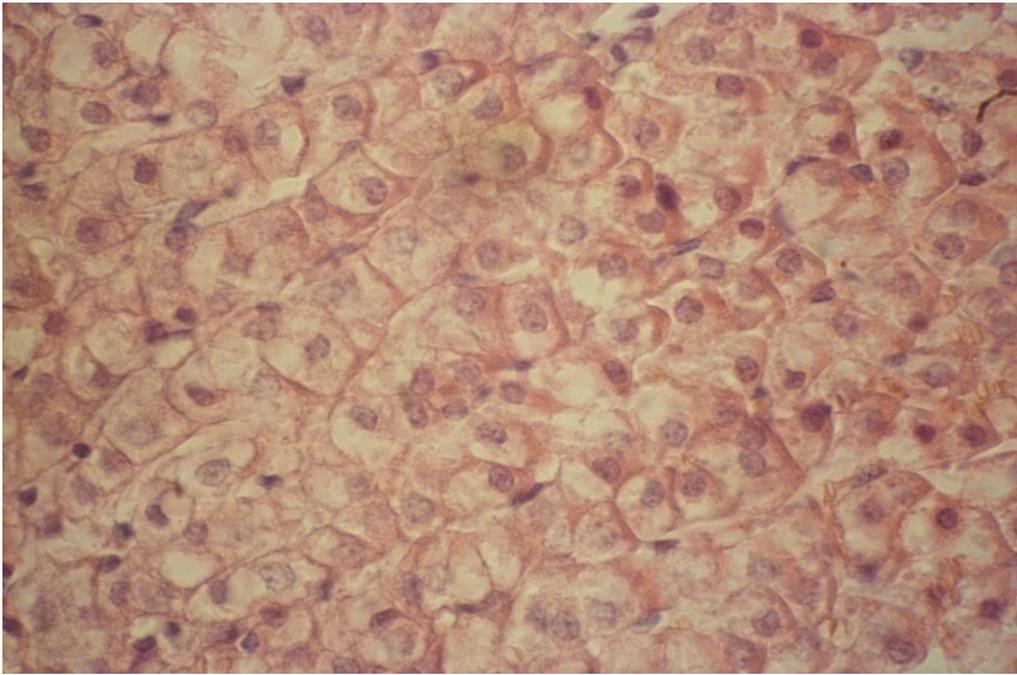


Рисунок 9 - Печень морской свинки 6-ой опытной группы, на 60 сутки применения изониазида. Преобладание гепатоцитов со светлой оксифильной окраской цитоплазмы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 480$ .

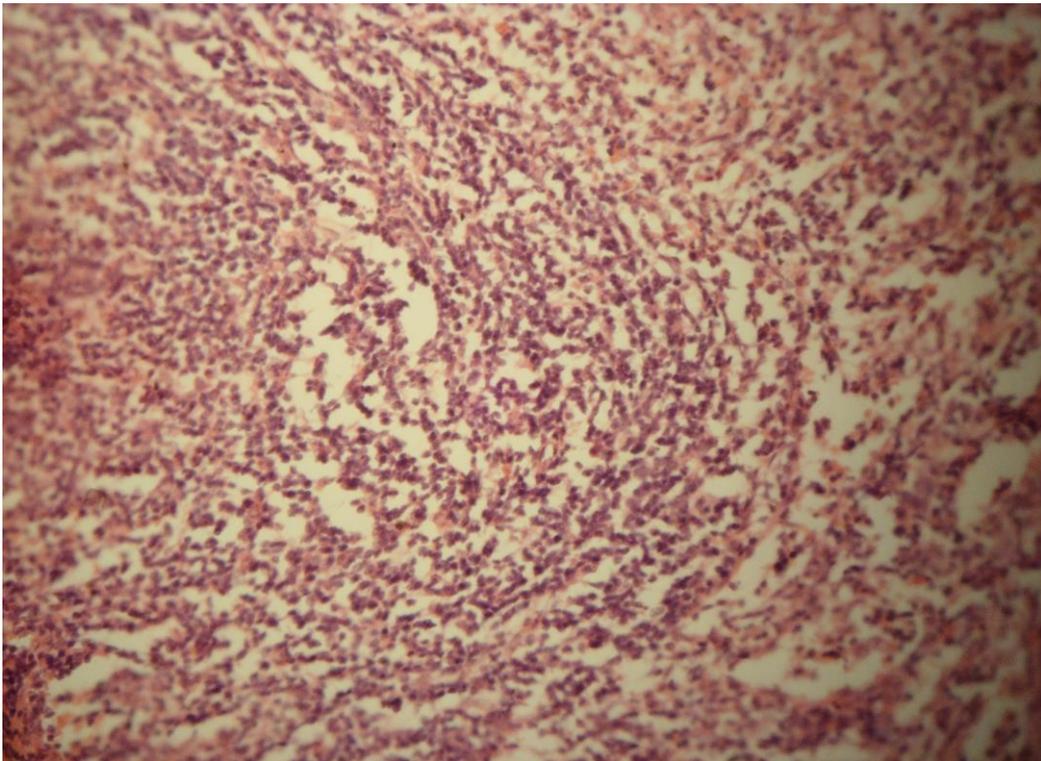


Рисунок 10 - Разрежение клеток лимфатических узлов селезенки морской свинки 6-ой опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ .

В зоне сосудов триад, особенно вокруг желчных протоков обнаруживали разреженное скопление из лимфоидных клеток, макрофагов и фибробластов (рисунок 11). Несмотря на обнаруженные дистрофические и гемодинамические изменения в органе, обнаружить специфические очаги некрозов и инфекционно-клеточных реакций свойственных туберкулезному процессу не удалось.

Селезенка морских свинок 3-ей опытной группы оставалась не увеличенной в объеме, с ровной поверхностью, красно-серого цвета, умеренного кровенаполнения. Видимых очагов поражения, свойственных туберкулезной инфекции, также не обнаруживали.

Печень морских свинок, зараженных микобактериями туберкулеза и подвергнутых профилактической обработке Тубофеном в течение двух месяцев в дозе 10 мг/кг (2 опытная группа), также характеризовалась отсутствием патологических изменений, свойственных туберкулезу. Гистологические изменения в печени характеризовались четким обозначением балочного строения органа. Округлые ядра печеночных клеток с четко обозначенной структурой мембраны и центрально расположенным ядрышком, выделялись преобладанием эухроматина, что отражало возросшую функциональную активность в синтезе рибонуклеопротеидов (рисунок 12). Обращало внимание резкое увеличение содержания гепатоцитов с двумя ядрами. Заметно возрастало содержания клеток РЭС органа. Большинство из них имели базофильно окрашенные ядра, но небольшой объем их цитоплазмы и отсутствие в них содержимого свидетельствовало о низкой фагоцитарной активности.

Селезенка животных, профилактируемых Тубофеном в дозе 10 мг/кг массы в течение двух месяцев, в объеме была не увеличена и имела лентовидную форму, отличалась умеренным кровенаполнением. На разрезе четко обозначивался рисунок строения органа. По всей площади среза располагались лимфатические узелки, реактивные центры которых содержали большое количество фигур митоза, большие лимфоциты и набухшие ретикулярные клетки.

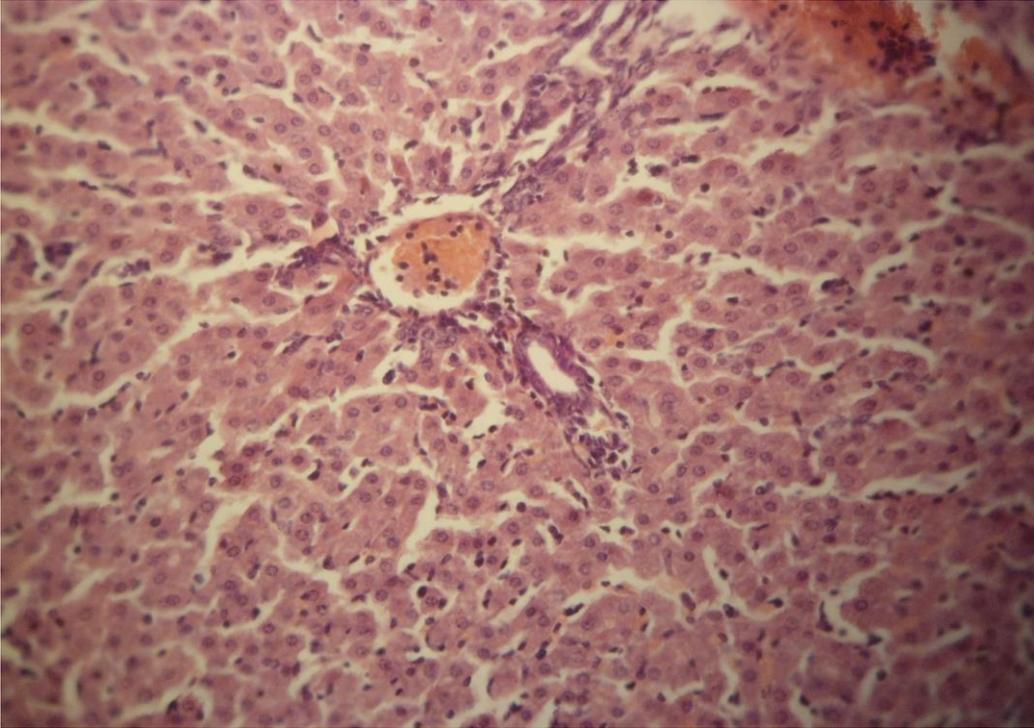


Рисунок 11 - Скопление лимфоидных клеток и макрофагов вокруг желчного протока печени морской свинки 3-ей опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. х 300.

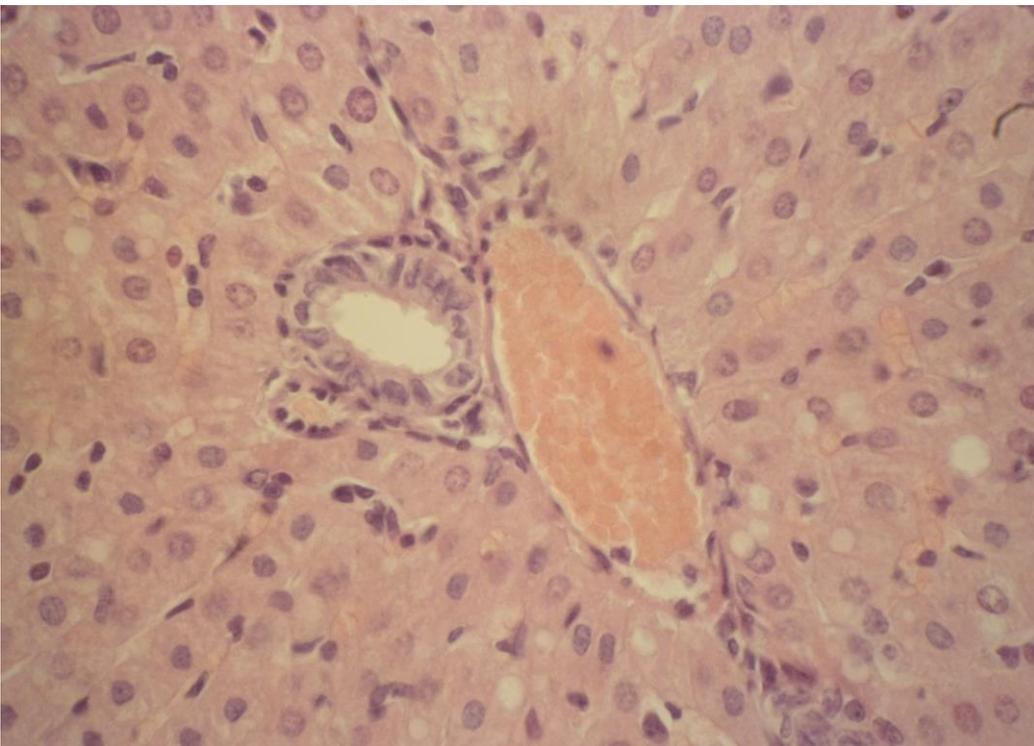


Рисунок 12 - Разрежение клеточных скоплений в области триад печени морской свинки 2-ой опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. х 480.

Следовательно, действие Тубофена в дозе 10 мг/кг массы оказывало благоприятное влияние на восстановление клеточных механизмов иммунной реактивности организма и полностью приостанавливало развитие инфекционного процесса в организме зараженных животных.

Печень морских свинок, зараженных микобактериями туберкулеза и подвергнутых профилактической обработке Тубофеном в течение двух месяцев в дозе 20 мг/кг массы (1 опытная группа), характеризовалась отсутствием каких-либо патологических изменений, свойственных туберкулезу (рисунок 13).

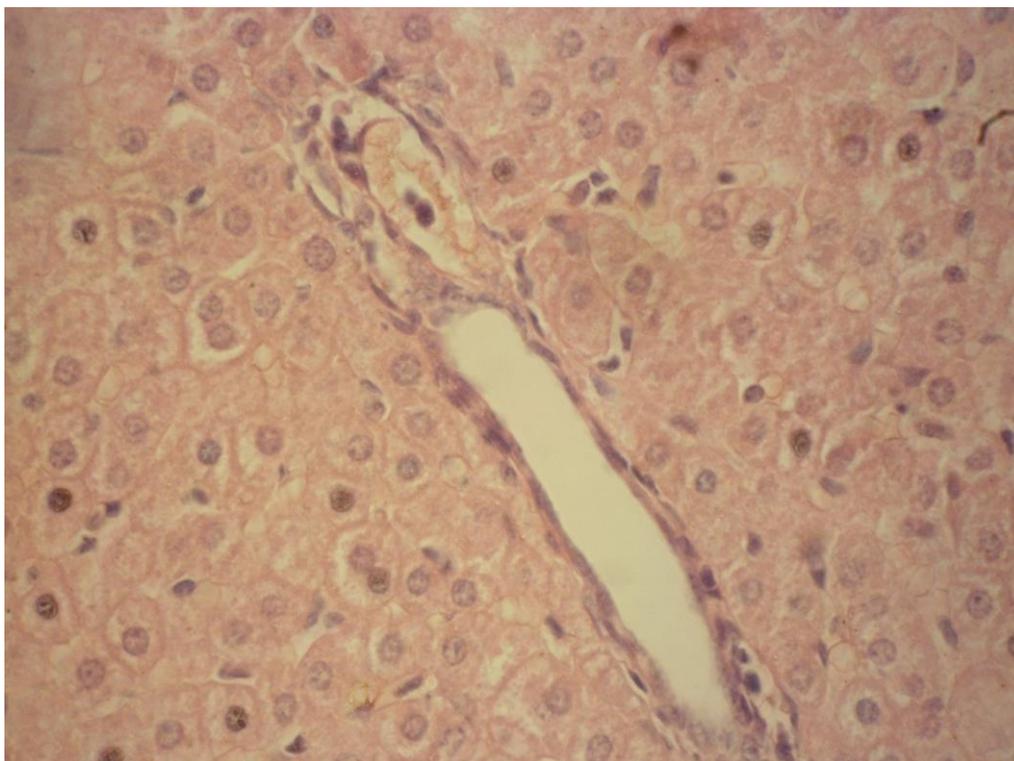


Рисунок 13 - Отсутствие клеточных инфильтратов в области триады печени у морской свинки, зараженной микобактериями туберкулеза, на 60-е сутки применения Тубофена в дозе 20 мг/кг массы. Окраска гематоксилином и эозином. х 400.

Профилактическая обработка зараженных морских свинок Тубофеном в дозе 20 мг/кг массы эффективно подавляло развитие патологических изменений вызываемых микобактериями туберкулеза бычьего вида. Действие Тубофена в исследованных органах вызвало только умеренное проявление дистрофических процессов обратимого характера, без вазопатогенных осложнений.

#### **2.2.6.4 Лекарственная устойчивость микобактерий выделенных от морских свинок профилактируемых Тубофеном**

Лекарственную устойчивость микобактерий к Тубофену испытывали на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок, описанной в разделе 2.2.6.1. Установлено, что у животных получавших ежедневно Тубофен в дозе 5, 10 и 20 мг/кг массы и изониазид в дозе 10 мг/кг массы, в течение 2-х месяцев, ни в одном случае исходная культура возбудителя туберкулеза не выделена. У морских свинок, которым Тубофен вводили ежедневно, в дозах 2,5 и 1 мг/кг массы, количество выделенных микобактерий достигало от 20 до 40% по каждой группе. Следует отметить, что рост микобактерий в посевах из патологического материала, взятого от профилактируемых животных был скудным.

Все выделенные культуры были проверены на лекарственную чувствительность к Тубофену и изониазиду, которую определяли путем выращивания микобактерий на питательной среде Левенштейна-Йенсена (без добавления картофельного крахмала). Тубофен и изониазид в концентрациях 0,1; 0,5; 1; 5 и 25 мкг/мл среды добавляли до свертывания.

Для контроля, культуры выращивали на той же среде без добавления препаратов. Взвесь микобактерий готовили по бактериальному стандарту БЦЖ, содержащему 5 мг бацилл в 1 мл. Полученную взвесь разводили 1:10 в физиологическом растворе и в дозе 0,2 мл засеивали в каждую пробирку. Результаты учитывали по мере появления роста микобактерий в контрольных пробирках без препарата. Результаты исследования лекарственной чувствительности микобактерий к Тубофену отражены в таблице 44.

Из данных таблицы видно, что культура *M. bovis* штамма 14, использованная при заражении животных, и культуры, выделенные от морских свинок после проведенного курса химиофилактики при критической концентрации препаратов (0,1 мкг/мл), роста не дают (менее 20 колоний). При концентрации препаратов в дозе 0,5, 1, 5 и 25 мкг/мл рост микобактерий отсутствовал. В контрольных пробирках отмечался бурный рост микобактерий туберкулеза бычьего вида – более 50 колоний на каждый контрольный косяк.

Таблица 44 - Результаты исследования лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза к Тубофену

Вариант	Минимальная концентрация препаратов, мкг/мл					Контроль
	0,1	0,5	1	5	25	
Тубофен, 1 мг/кг	0-6*	-	-	-	-	++++
Тубофен, 5 мг/кг	0-5	-	-	-	-	++++
Тубофен, 10 мг/кг	0-4	-	-	-	-	++++
Изониазид, 10 мг/кг	0-5	-	-	-	-	++++
Контроль (зараженные)	0-6	-	-	-	-	++++

Примечание: - +++++ - пышный рост; \*- количество колоний; - - отсутствие колоний.

Таким образом, чувствительность выделенных микобактерий к Тубофену и изониазиду, не зависимо от применявшейся дозы препаратов не изменялась.

## 2.2.7 Изучение противотуберкулезной активности Линарола *in vivo*

### 2.2.7.1 Изучение профилактической активности Линарола на экспериментальной модели туберкулеза морских свинок

Для изучения активности и для установления профилактической дозы Линарола на заражённых лабораторных животных, воспроизводили экспериментальный туберкулёз морских свинок, по методике заимствованной у Першина Г.Н. (1971).

Для проведения эксперимента использовали 28 морских свинок, весом 350-400 грамм, которых разделили на 5 групп. Из них 4 группы опытные, по 6 животных в каждой, и 1 контрольная, состоящая из 4 животных.

После адаптации морских свинок к условиям вивария, провели исследование их на туберкулез путем внутрикожного введения 0,1 мл ППД туберкулина для млекопитающих (стандартный раствор). Реакцию учитывали через 24 часа после введения аллергена. Морские свинки на туберкулин не реагировали.

Животных 4 опытных и одной контрольной групп заражали 20 дневной оттитрованной культурой возбудителя туберкулеза бычьего вида (штамм 14).

Бактериальную массу, из расчета 0,1 мг на животное, вводили под кожу правой паховой области в 0,5 мл физиологического раствора.

Химиопрофилактику туберкулеза морских свинок начали проводить на следующий день после заражения. Животным четырех опытных групп перорально, с помощью атравматического зонда с оливой, надетого на шприц, ежедневно вводили растворы Линарола. Причем, морские свинки первой опытной группы получали Линарол в дозе 10 мг/кг массы, второй – 5 мг/кг массы, третьей – 2,5 мг/кг массы, четвертой – 1 мг/кг массы. Животные 5 контрольной группы ежедневно перорально получали растворитель (дистиллированную воду).

Опыт продолжался 60 суток. За животными вели клинические наблюдения и проводили аллергические исследования на туберкулез на 30 и 60 сутки после заражения. По окончании срока химиопрофилактики провели контрольный убой морских свинок. Патологический материал, отобранный у животных, использовали для проведения бактериологических и бактериоскопических исследований, с целью выделения исходной культуры возбудителя туберкулеза.

Результаты исследования профилактических свойств Линарола при экспериментальном туберкулезе морских свинок отражены в таблице 45.

Из цифровых данных таблицы 45 видно, что за время проведения опыта все животные 1, 2 и 3 опытных групп выжили, в то время как 1 морская свинка из 4-ой опытной группы, получавшая Линарол в дозе 1 мг/кг массы и 1 морская свинка из 5-ой контрольной группы (зараженные, не профилактируемые туберкулостатиками) погибли.

В результате проведенных аллергических исследований морских свинок установлено, что животные 1 и 2 опытных групп не реагировали на введение туберкулина ни через 30, ни через 60 суток после заражения их микобактериями туберкулеза.

Таблица 45 - Результаты испытания химиофилактической активности Линарола при экспериментальном туберкулезе морских свинок

Группы животных	Препарат	Суточная доза, мг/кг	Исход		Результат аллергического исследования			Средний индекс поражения органов и высеваемости микобактерий						Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий
			погибло	выжило	До заражения	После заражения через		Место заражения	Лимф. узлы	Регионарный лимф. узел	Легкие	Печень	Селезенка	
						30 дн.	60 дн.							
I	Линарол	10	-	6	-	-	-	0	0	0 <sup>1</sup> /0 <sup>2</sup>	0/0	0/0	0/0	0/0
II	Линарол	5	-	6	-	-	-	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
III	Линарол	2,5	-	6	-	+	+	0	0	1,66/1,5	0/0	0/0	0/0	1,66/1,5
IV	Линарол	1	1	5	-	+	+	1,33	1	3/2,33	1,16/1,16	1,5/1,33	1,33/1,33	9,32/6,15
V	Контроль (зараженные)	-	1	3	-	+	+	2	1,75	4/4	1,75/2,5	3/3,75	1,75/2,25	14,25/12,5

Примечание: <sup>1</sup> – индекс поражения органов;  
<sup>2</sup> – индекс высеваемости микобактерий.

У морских свинок 3 и 4 групп, получавших Линарол в дозах 2,5 и 1 мг/кг массы, а также у животных 5-ой контрольной группы, через 30 и 60 дней после заражения наблюдалось резко выраженная аллергическая реакция в местах введения ППД туберкулина для млекопитающих (стандартный раствор), которая проявлялась в виде гиперемии кожи в местах введения аллергена и образованием уплотненной припухлости.

На основании патологоанатомических и бактериологических исследований установили средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза. У первых двух подопытных групп, получавших Линарол в дозах 5 и 10 мг/кг массы, этот индекс равнялся 0/0. При исследовании патологического материала от 3 подопытной группы животных, получавших препарат в дозе 2,5 мг/кг массы, средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий составил 1,66/1,5, у 4-ой подопытной группы животных, получавших Линарол в дозе 1 мг/кг массы, этот показатель оказался выше и составил - 9,32/6,15. У 5-ой контрольной группы животных общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза составил 14,25/12,5 соответственно.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что Линарол проявил достаточно высокий профилактический эффект и обладает выраженными туберкулостатическими свойствами в дозах 5 и 10 мг/кг массы животного.

#### **2.2.7.2 Патоморфологическое изучение профилактического действия Линарола на экспериментальной модели туберкулёза**

Для патоморфологического изучения профилактической активности Линарола на органы и ткани заражённых микобактериями туберкулеза лабораторных животных, воспроизвели экспериментальный туберкулёз морских свинок по методике, заимствованной у Першина Г.Н. (1971).

Для проведения эксперимента использовали морских свинок, которых разделили на 6 групп. Из них 4 группы опытные, по 6 животных в каждой, и 1 контрольная, состоящая из 4 животных.

Затем животным 4-х опытных и одной контрольной групп заражали культурой возбудителя туберкулеза бычьего вида (штамм 14). Химиопрофилактику туберкулеза морских свинок начали проводить на следующий день после заражения. Животным четырех контрольных групп, перорально, с помощью атраматического зонда с оливой, надетого на шприц, ежедневно вводили растворы Линарола. Причем, морские свинки первой опытной группы получали Линарол в дозе 10 мг/кг массы, второй – 5 мг/кг массы, третьей – 2,5 мг/кг массы, четвертой – 1 мг/кг массы. Животные 5 и 6 контрольной групп получали ежедневно, перорально растворитель (дистиллированную воду).

Опыт продолжался 60 суток. По окончании срока химиопрофилактики, проводили контрольный убой морских свинок, патологоанатомические исследования органов и отбор кусочков органов (легкие, селезенка, правые и левые паховые лимфатические узлы, печень, почки, сердце) для приготовления гистопрепаратов. Уплотнение фиксированного материала проводили путем заливки в парафин, а затем изготавливали гистологические срезы, которые окрасили гематоксилином и эозином.

Осмотр органов и тканей морских свинок 5-ой контрольной группы (зараженные, не получавшие препарат) показал, что наиболее характерные изменения обнаруживались в регионарном, к месту заражения, паховом лимфатическом узле, печени и селезенке. Регионарный к месту заражения паховый лимфатический узел был увеличен, по сравнению с контр регионарным, в 2,5 – 3 раза, неравномерно бугрист с поверхности (рисунок 14).

На разрезе бугорки представляли собой творожистую массу. Печень была незначительно увеличена в объеме. С поверхности окрашивалась в бледно-коричневый цвет с множественными беловато-серыми очажками размером от просяного зерна до небольшой горошины (рисунок 15). На разрезе очажки напоминали творожистую массу.

Селезенка в объеме не увеличивалась. Рисунок фолликулярного строения на разрезе был сохранен. На поверхности были видны мелкие очажки беловато-серого цвета. Легкие, почки были без видимых изменений.



Рисунок 14 - Регионарный и контр регионарный к месту заражения лимфатические узлы морской свинки из 5-ой контрольной группы. Увеличение регионарного лимфатического узла и неравномерная бугристость с поверхности.  $\times 2$ .



Рисунок 15 - Печень морской свинки из 5-ой контрольной группы. Множественные беловато-серые очажки.  $\times 2.0$

При гистологическом исследовании патологического материала у животных 5-ой контрольной группы в регионарном, к месту заражения, лимфатическом узле обнаруживали обедненность фолликулами коркового вещества. В корковом веществе обнаруживались очажки некрозов. В центральной части очажков находилась эозинофильная масса, содержащая единичные некротизированные клетки (рисунок 16), по периферии встречались лимфоидные клетки, часть которых была с признаками кариорексиса. Встречались единичные гигантские многоядерные клетки типа Пирогова - Ланхганса. В синусах отмечались признаки выраженного лимфостаза, они были сильно расширены и содержали незначительное количество клеток. Периваскулярная ткань трабекул отекала, разрыхлялась. Стенки сосудов были с признаками мукоидного набухания.

Лимфатические узелки селезенки имели незначительно расширенные герминативные центры. В красной пульпе обнаруживали умеренное количество эритроцитов. Местами отмечали скопление некротизированных клеток без выраженных признаков клеточной реакции по периферии.

В печени также отмечали наличие арективных некрозов (рисунок 17). Периваскулярные зоны содержали скопления лимфоидно-гистиоцитарных клеток (рисунок 18). Гепатоциты находились в состоянии зернистой дистрофии. В почках отмечалась зернистая дистрофия нефроцитов и пролиферация клеток эндотелия сосудов клубочка. Легкие были воздушные. Местами в межальвеолярных перегородках отмечались очаговые скопления лимфоидных клеток, образуя лимфатические фолликулы. В перибронхиальной ткани также отмечали скопление лимфоидных клеток (рисунок 19).

При вскрытии морских свинок 4-ой опытной группы, получавших с профилактической целью Линарол в дозе 1 мг/кг массы, изменения в органах были схожи с таковыми у 5-ой контрольной группы, но менее выражены по интенсивности.

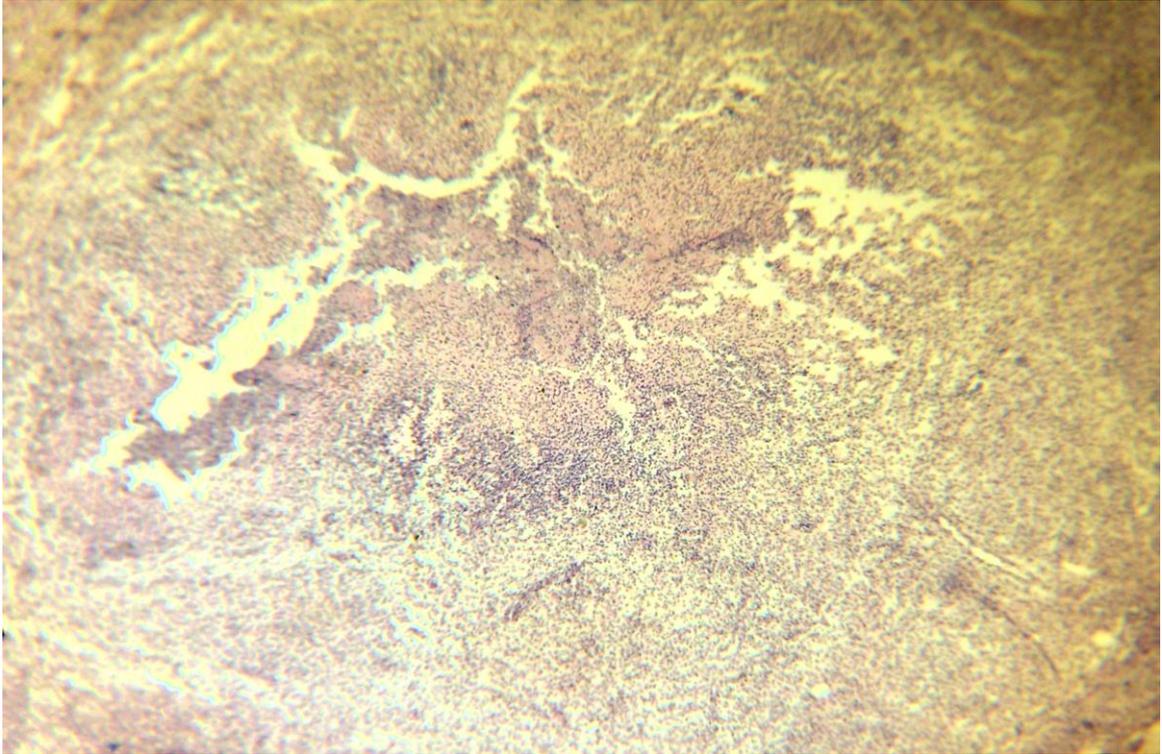


Рисунок 16 - Очаг некроза в лимфатическом узле морской свинки из 5-ой контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 150$ .

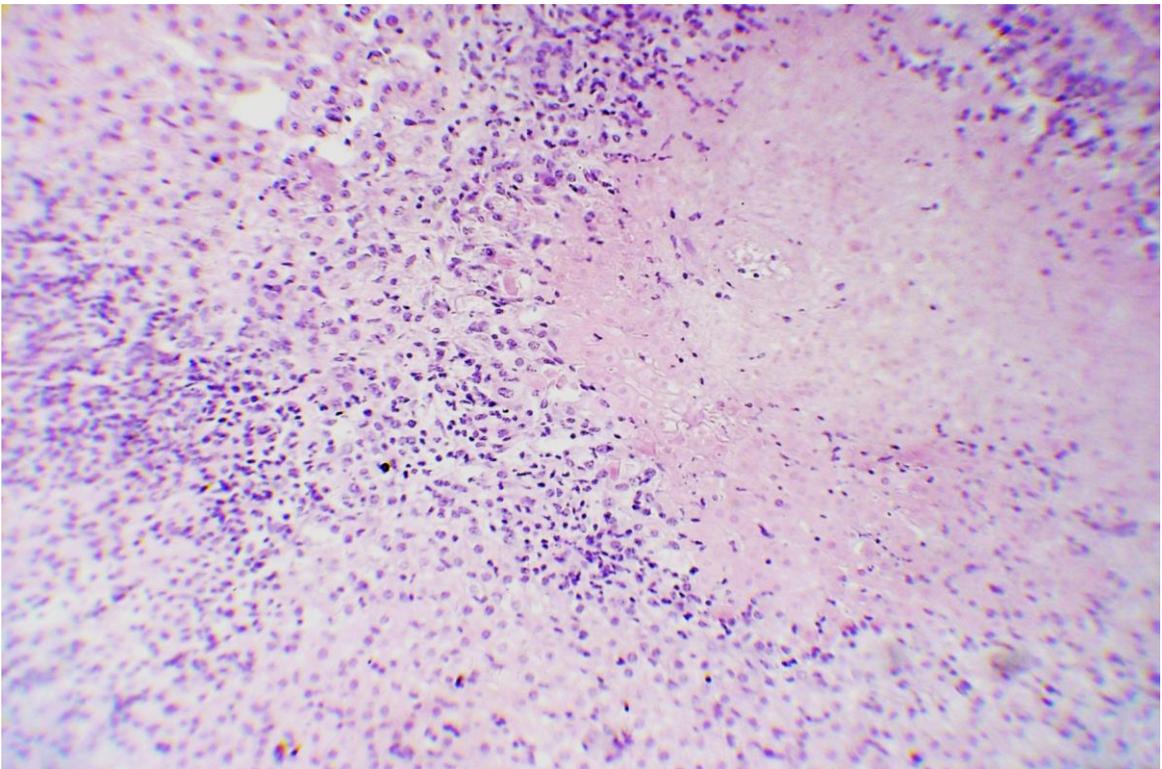


Рисунок 17 - Печень морской свинки 5-ой контрольной группы. Очаг ареактивного некроза. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 300$ .

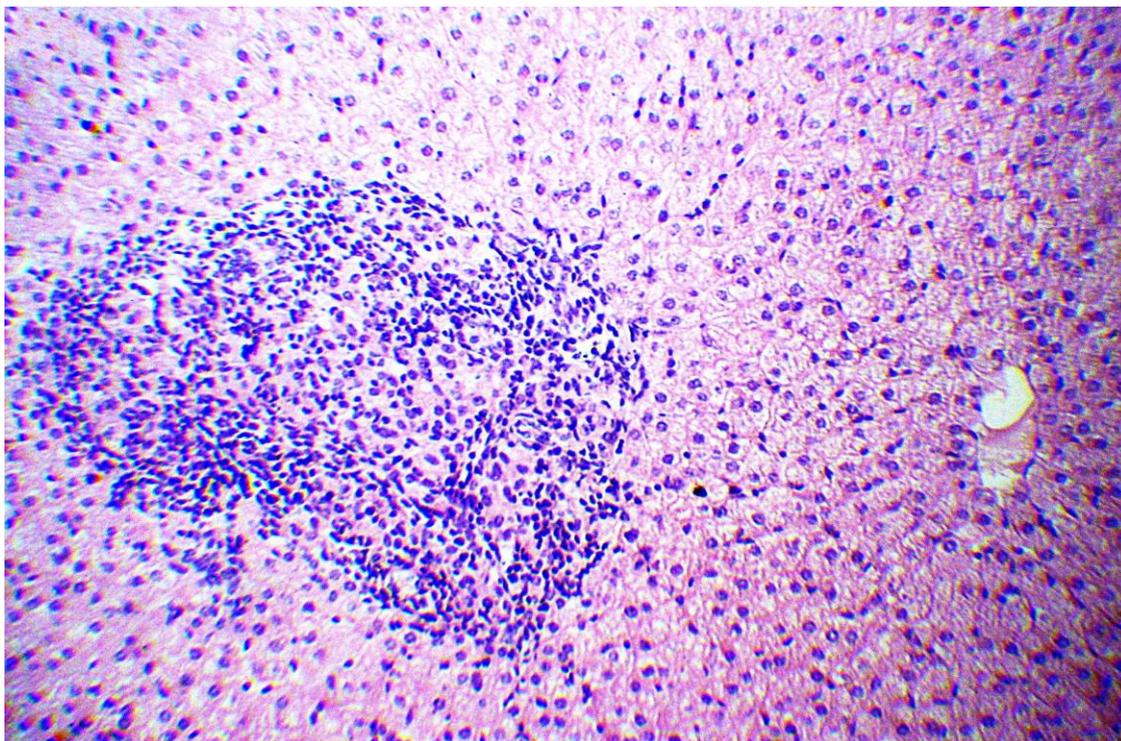


Рисунок 18 - Печень морской свинки 5-ой контрольной группы. Очаговое скопление лимфоидно-гистиоцитарных клеток. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ .

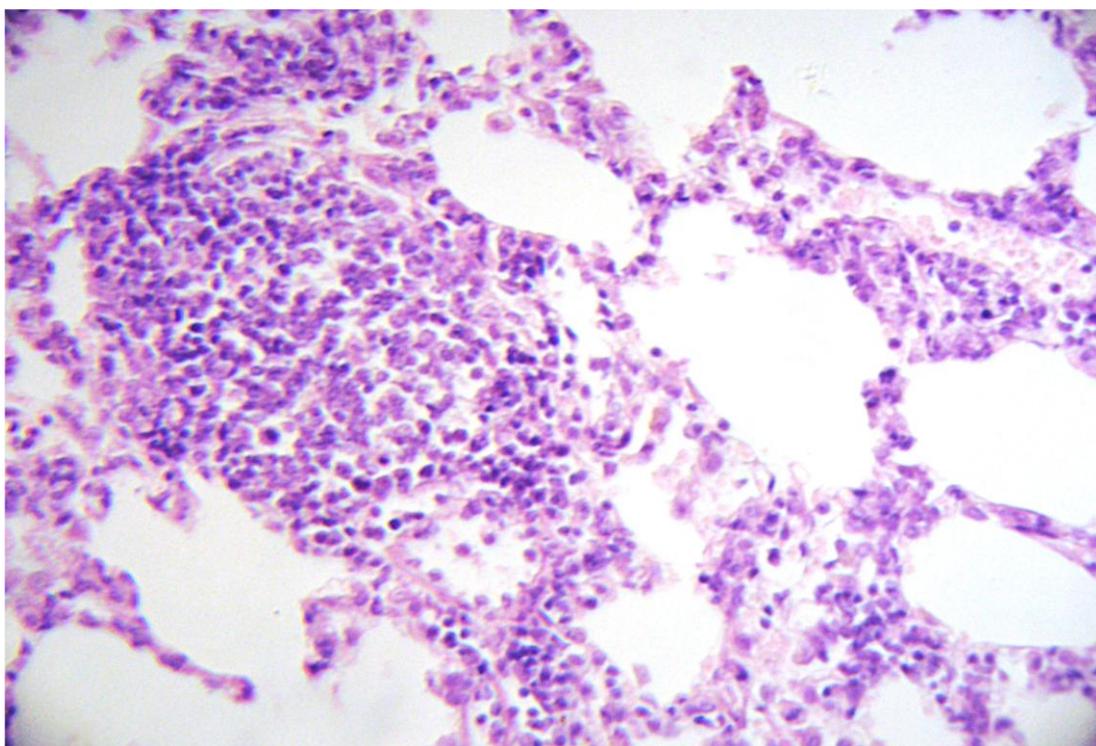


Рисунок 19 - Легкие морской свинки 5-ой контрольной группы. Утолщение межальвеолярных перегородок и очаговое скопление лимфоидно-гистиоцитарных клеток. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ .

Регионарные к месту заражения лимфатические узлы были увеличены, по сравнению с контр регионарными, примерно в 2 раза. На поверхности выявлялись слегка выступающие единичные беловатые очажки размером с просыное зерно. На разрезе беловатые очажки были расположены в основном в корковой зоне лимфатического узла.

Печень в объеме была незначительно увеличена. На поверхности выявлялись единичные очажки беловато-серого цвета (рисунок 20). В легких видимых изменений не отмечалось.

В припухшей селезенке под капсулой и в толще органа обнаруживали мелкие и средних размеров узелки серо-белого цвета, центральная часть которых была заполнена некротизированной массой (рисунок 21).

Патогистологические исследования органов и тканей морских свинок, которым с профилактической целью задавался препарат Линорол в дозе 1 мг/кг массы, показал следующие изменения: регионарный к месту заражения паховый лимфатический узел имел слабо выраженный рисунок фолликулярного строения. Количество фолликулов было незначительным. Герминативные центры не проявлялись. Мякотные шнуры также были не выражены. Синусы находились в расширенном состоянии и содержали умеренное количество макрофагов и единичные лимфоидные клетки. Местами отмечались очаговые скопления некротизированных клеток. Зонарности клеток вокруг этих участков не наблюдалось.

Селезенка имела выраженный рисунок фолликулярного строения. Фолликулы имели нечетко выраженные герминативные центры. Местами встречались очажки микронекрозов, не имеющие четкой выраженности клеточных зон.

В печени отмечалась зернистая дистрофия гепатоцитов. В периваскулярных пространствах в области триад выявлялись незначительные скопления лимфоидно-гистиоцитарных клеток и микронекрозы (рисунок 22).

В почках отмечалась зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев, умеренно выраженная пролиферация эндотелия сосудистых клубочков.

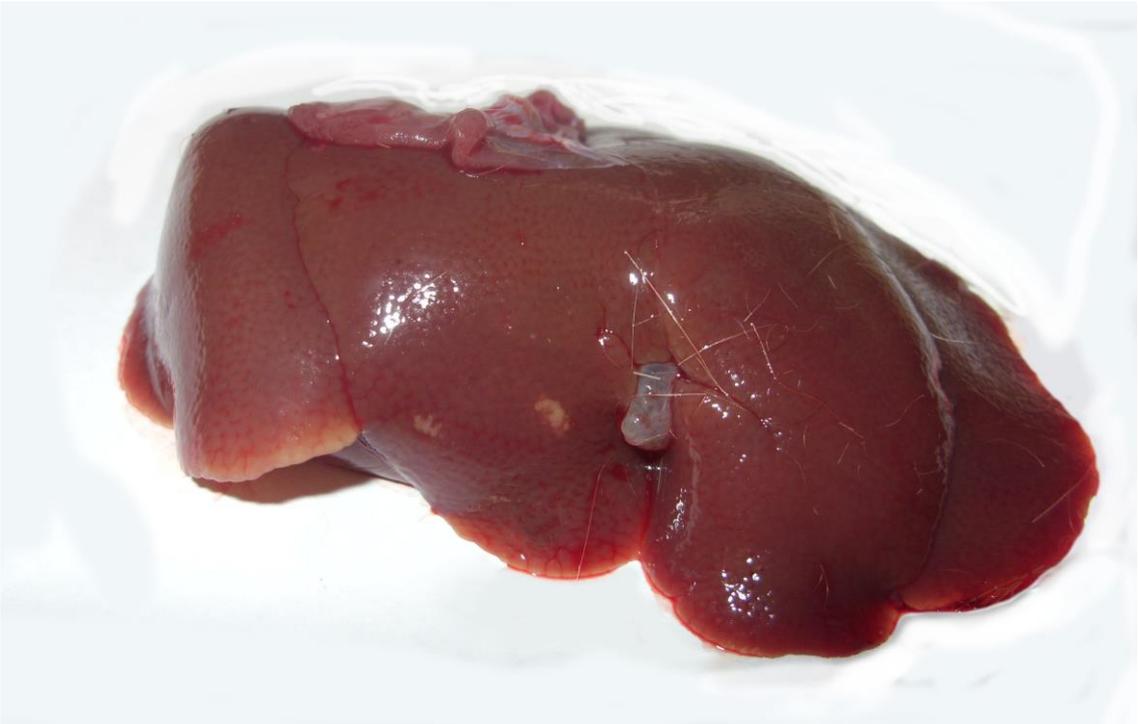


Рисунок 20 - Печень морской свинки из 4-ой опытной группы. Единичные беловато-серые очажки под капсулой.  $\times 2.0$ .



Рисунок 21 - Селезенка морской свинки из 4-ой опытной группы. Серовато-белые очажки некрозов.  $\times 3.0$ .

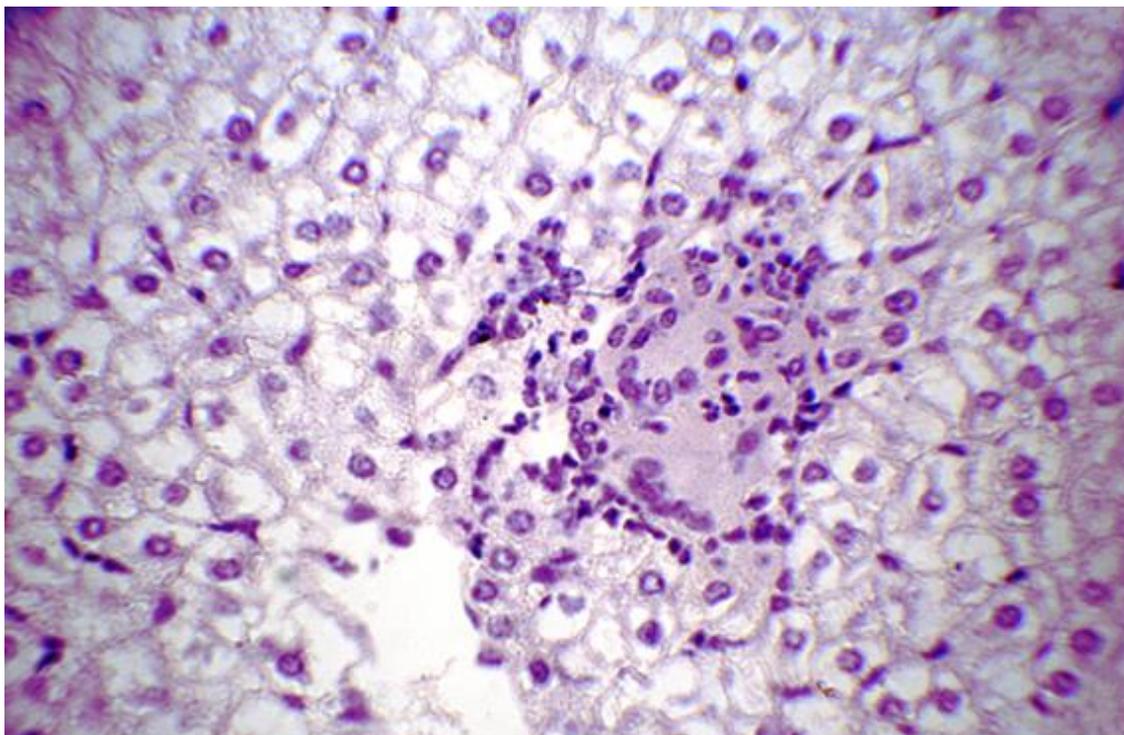


Рисунок 22 - Микронекрозы в печени морской свинки 4 опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 480$ .

Легкие были воздушные, местами в межальвеолярных перегородках отмечались очаговые скопления лимфоидных клеток.

Вскрытие животных 3-ей опытной группы, получавших в течение 60 суток с профилактической целью Линарол в дозе 2,5 мг/кг массы, показало, что макроскопические изменения выявлялись лишь в регионарных к месту заражения паховых лимфатических узлах. Они были незначительно увеличены в объеме. Форма органа не была изменена. С поверхности проявлялись мелкие единичные очажки беловатого цвета. В других органах макроскопически видимых изменений не отмечалось (рисунок 23).

При гистологическом исследовании регионарных к месту заражения паховых лимфатических узлов третьей опытной группы отмечали слабую выраженность их фолликулярного строения. Фолликулы встречались разреженно, без активации герминативного центра. Мякотные шнуры были обеднены клеточными элементами. Наряду с этим были выражены признаки лимфостаза (рисунок 24). Местами встречались небольшие очажки ареактивного некроза.



Рисунок 23 - Печень морской свинки из 3 опытной группы. Отсутствие видимых патологических изменений.  $\times 2.0$ .

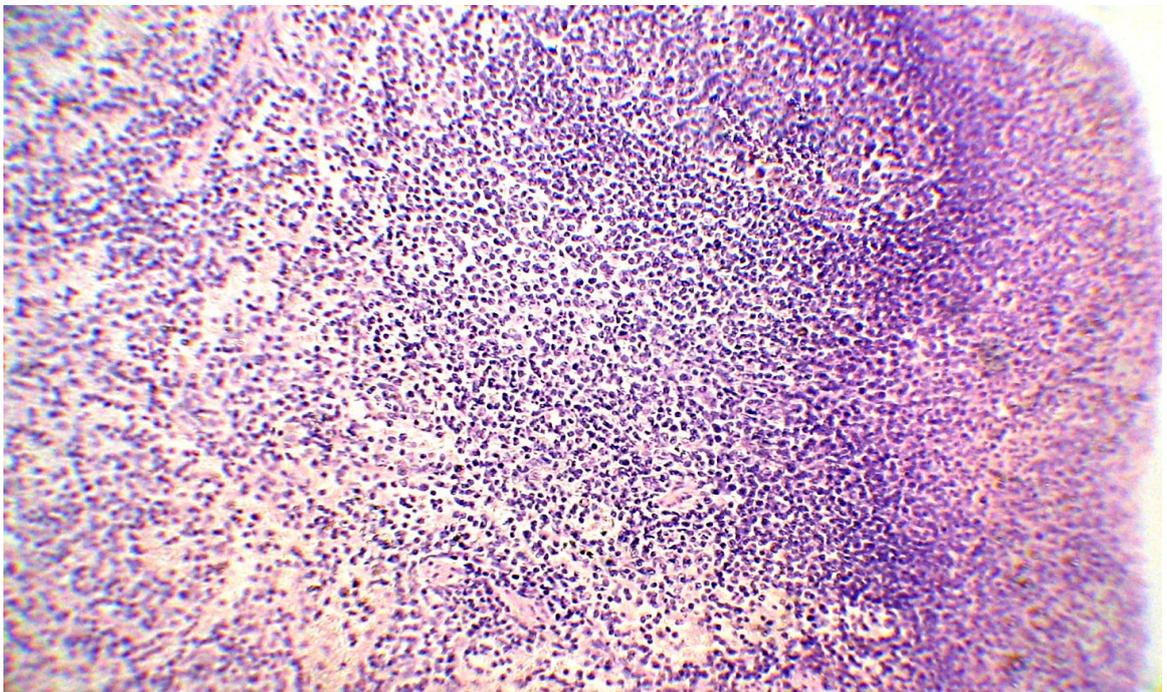


Рисунок 24 - Лимфатический узел морской свинки из 3-ой опытной группы. Разрежение мякотных шнуров и лимфостаз. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 300$ .

В селезенке был хорошо выражен рисунок фолликулярного строения. Фолликулы имели слабо выраженные герминативные центры. В печени, почках отмечалась паренхиматозная дистрофия и умеренно выраженные периваскулярные скопления лимфоидно-гистиоцитарных клеток.

Легкие были воздушны. Межалвеолярные перегородки слабо инфильтрированы лимфоидно-гистиоцитарными клетками. У одной из морских свинок обнаруживали небольшие участки ареактивного некроза (рисунок 25).

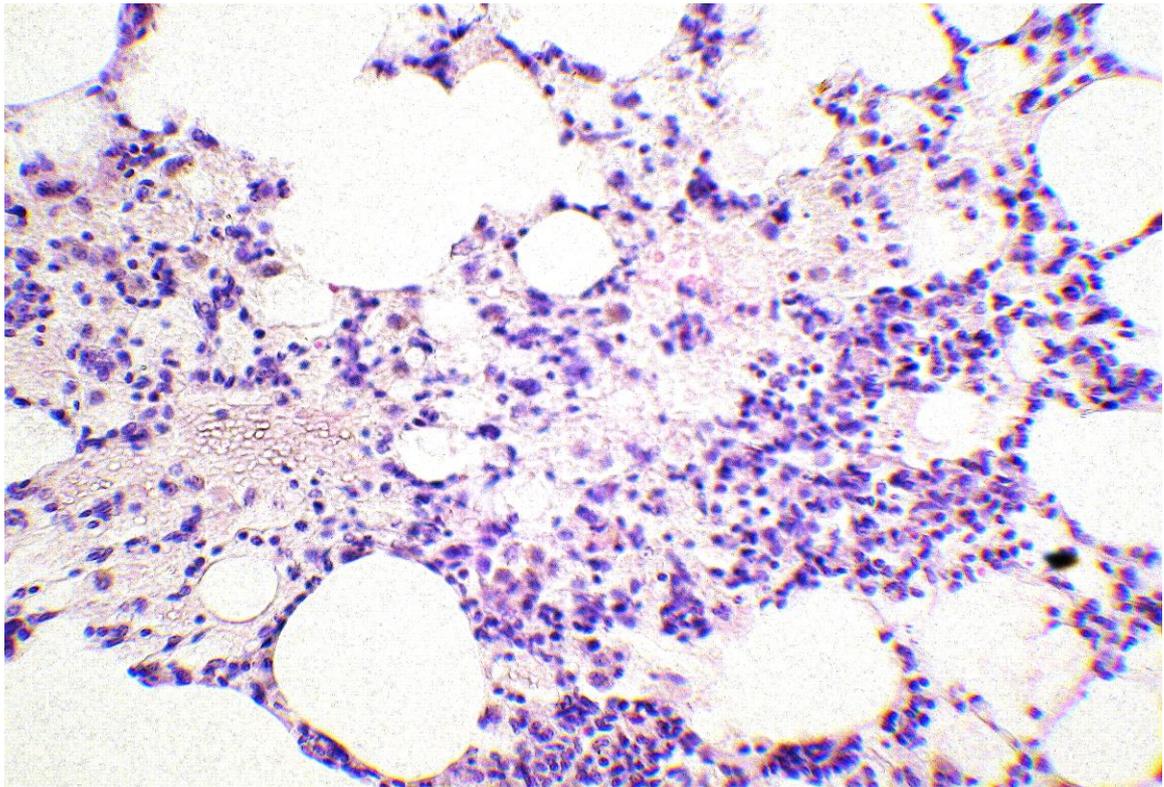


Рисунок 25 - Легкие морской свинки из 3-ой опытной группы. Микронекрозы и инфильтрация лимфоидно-гистиоцитарными клетками межалвеолярных перегородок. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 300$ .

Вскрытие морских свинок 2-ой и 1-ой опытных групп, получавших с профилактической целью, в течение 60 суток, Линарол в дозах 5 и 10 мг/кг массы, видимых макроскопических изменений, характерных для туберкулеза, не выявило. Органы и ткани животных этих групп не отличались от таковых у животных 6 контрольной группы (интактные животные) (рисунок 26 и 27).

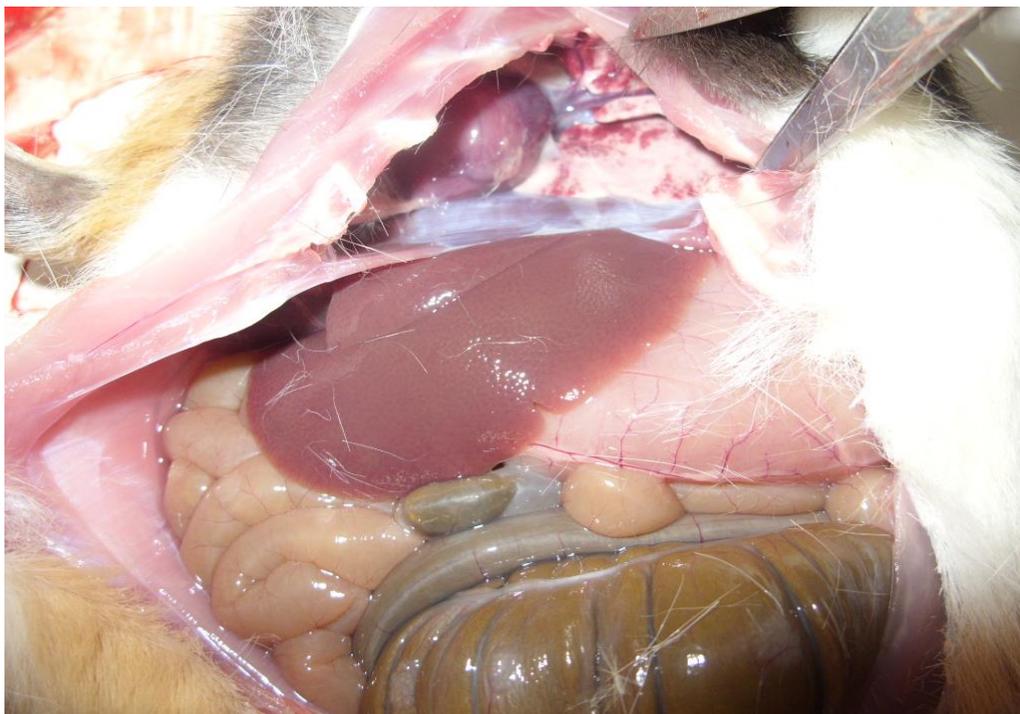


Рисунок 26 - Печень морской свинки на 60 сутки применения Линарола в дозе 5 мг/кг массы (2-я опытная группа). Отсутствие видимых патологических изменений.  $\times 2.0$ .



Рисунок 27 - Регионарный и контр регионарный к месту заражения лимфатические узлы и селезенка морской свинки из 2-ой опытной группы. Отсутствие видимых патологических изменений.  $\times 2$ .

При гистологическом исследовании регионарных, к месту заражения, лимфатических узлов морских свинок 2-й опытной группы получавших перорально Линарол в дозе 5 мг/кг массы тела, в корковом веществе выявляли незначительные скопления эпителиоидных клеток, среди которых выявлялись единичные гигантские клетки (рисунок 28).

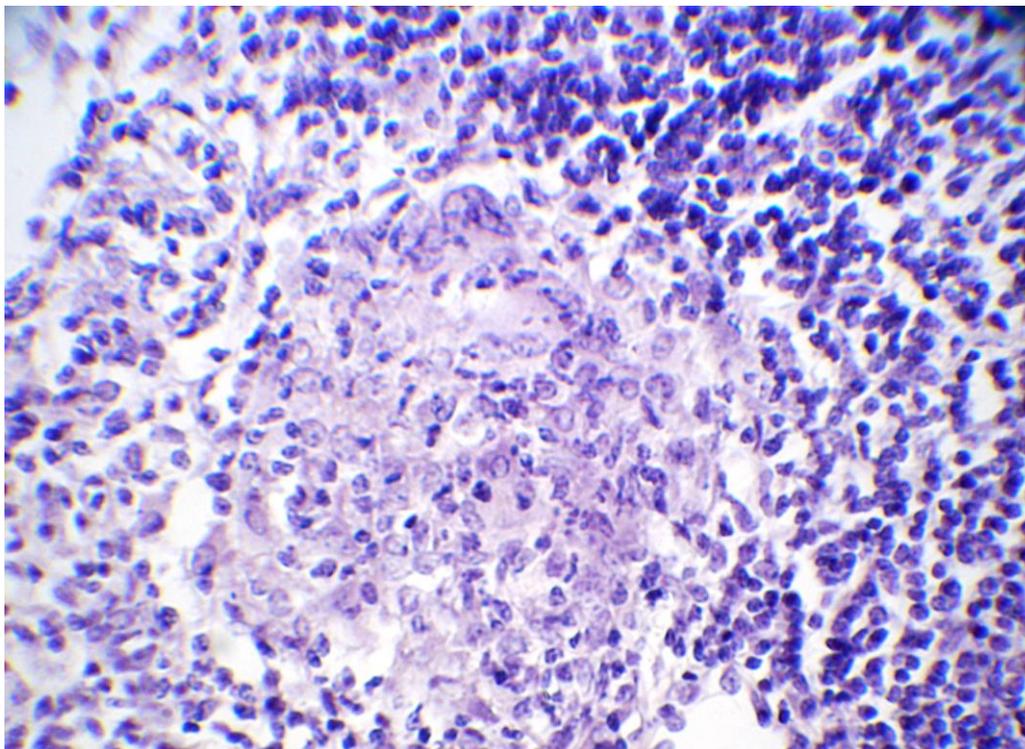


Рисунок 28 - Лимфатический узел морской свинки из 2 опытной группы. Скопления эпителиоидных клеток в корковом веществе с единичными гигантскими клетками. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ .

Рисунок фолликулярного строения селезенки был хорошо выражен. Фолликулы имели расширенные реактивные центры. В печени и почках обнаруживались признаки зернистой дистрофии паренхиматозных клеток и умеренно выраженная пролиферация лимфоидно-гистиоцитарных клеток в периваскулярных пространствах.

В легких отмечали умеренно выраженную инфильтрацию межальвеолярных перегородок лимфоидно-гистиоцитарными клетками (рисунок 29).

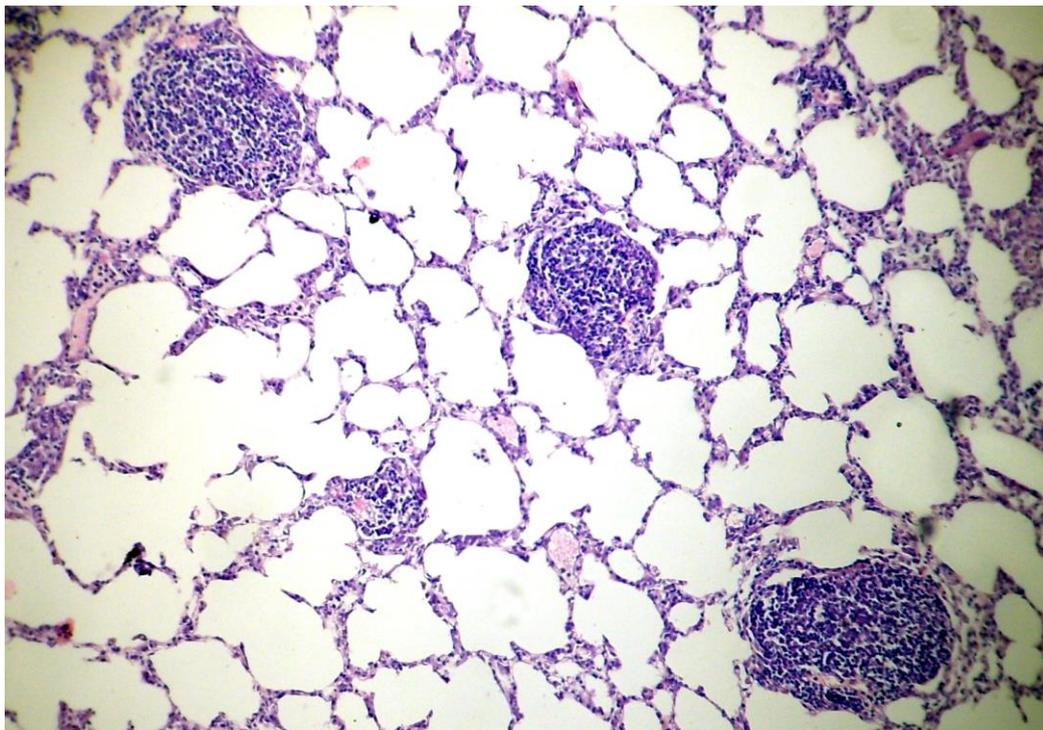


Рисунок 29 - Легкие морской свинки из 2 опытной группы. Очаговые лимфоидно-гистиоцитарные скопления в периваскулярном пространстве. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ .

В органах и тканях животных, обработанных с профилактической целью Линаролом в дозе 10 мг/кг массы (1-я опытная группа), обнаруженные изменения были представлены умеренно выраженными признаками паренхиматозной дистрофии в органах и незначительными лимфоидно-гистиоцитарными пролифератами в периваскулярных пространствах органов.

При гистологическом исследовании селезенки отмечали умеренное проявление лимфо – пролиферативной реакции, в сравнительно небольших лимфатических узелках (рисунок 30).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что препарат Линарол способен оказывать профилактическое действие, сдерживающее развитие туберкулезного процесса в органах и тканях зараженных морских свинок. Причем это действие начинается уже с дозы 2,5 мг/кг массы тела. Практически во всех группах исследованных морских свинок, за исключением 1-ой опытной группы (получавших Линарол в дозе 10 мг/кг массы) и 6-ой

контрольной (интактной) группы, в органах выявлялись признаки туберкулезного процесса различной степени интенсивности.

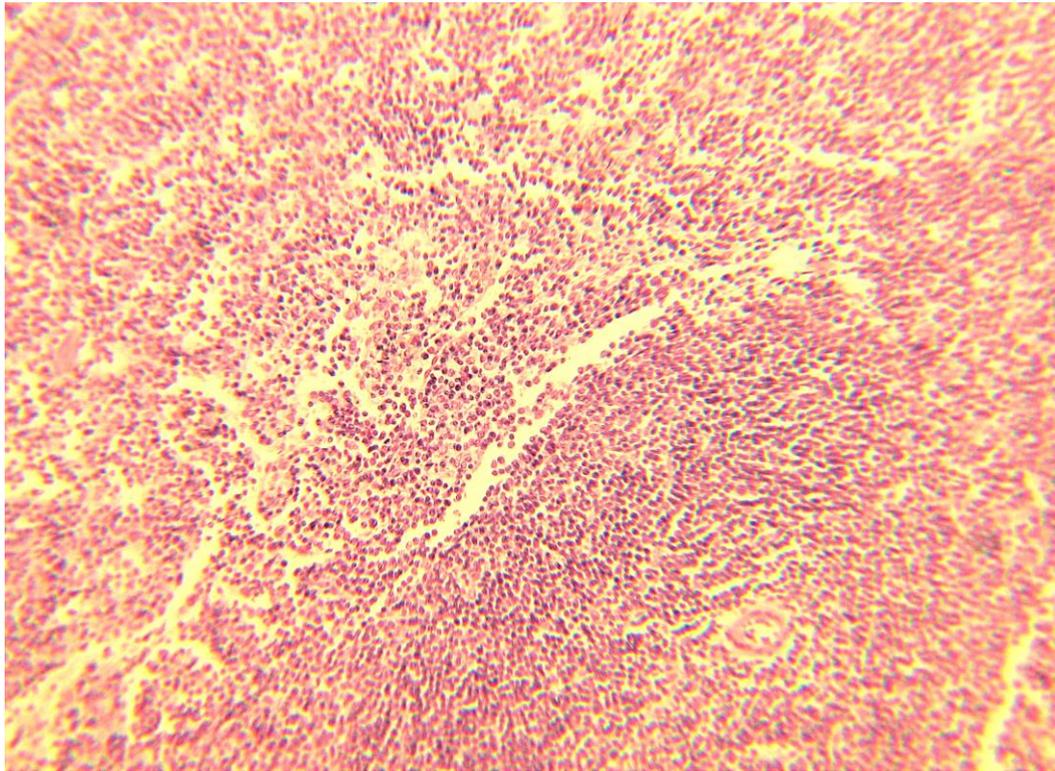


Рисунок 30 - Селезенка морской свинки из 1-ой опытной группы. Умеренное проявление лимфо-пролиферативных реакций в лимфатических узелках. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 280$ .

Наиболее выраженным профилактическим действием обладает доза 10 мг/кг массы, при котором в органах и тканях зараженных животных туберкулезный процесс не проявляется.

### **2.2.7.3 Изучение терапевтической противотуберкулезной активности Линарола на модели острого экссудативно-некротического туберкулеза мышей**

Изучение терапевтической противотуберкулезной активности Линарола в системе *in vivo* проводили на 16 самцах инбредных мышей линии I/St. Мышей содержали в условиях, согласно ветеринарно-санитарным требованиям. Вес мышей – 22 -23 грамма. Всех животных заражали внутривенным введением *M. tuberculosis* штамма H37Rv в латеральную хвостовую вену в летальной дозе 5  $\times$

$10^6$  КОЕ/мышь. Все экспериментальные животные были разделены на следующие группы:

1. Зараженные мыши без лечения (контроль) – 5 шт.;
2. Зараженные мыши, получающие внутривенно препарат изониазид, в дозе 50 мг/кг массы тела – 5 шт.;
3. Зараженные мыши, получающие внутривенно препарат Линарол, в дозе 50 мг/кг массы тела – 6 шт.

Испытуемые препараты вводили через неделю после заражения, ежедневно, внутривенно, с помощью металлического зонда с оливой, в течение 5 суток, предварительно растворив их в дистиллированной воде. Объем вводимых препаратов составлял 0,5 мл/мышь.

Через 14 суток после инфицирования животных опытных и контрольной групп выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации для определения количества колониеобразующих единиц (КОЕ) *M. tuberculosis* в легких и селезенке мышей.

Для определения количества микобактерий (КОЕ МБТ) в органах зараженных мышей легкое и селезенку каждой мыши гомогенизировали в 2 мл физиологического раствора, готовили серию 10 кратных разведений исходной суспензии в физиологическом растворе и 50 мкл каждого разведения помещали на чашку Петри, покрытую агаром Дюбо. Чашки Петри с нанесенными суспензиями клеток легкого и селезенки инкубировали в термостате, в течение 21 суток, при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ , после чего подсчитывали число колоний на чашке и определяли количество КОЕ микобактерий в исследуемых органах мышей.

Основными показателями эффективности специфической антимикобактериальной терапии экспериментальных животных являются – средний срок жизни животных после инфицирования, количество КОЕ МБТ в органах инфицированных животных, тропных к туберкулезу и степень патологических изменений внутренних органов.

На момент убоя все экспериментальные мыши были живы и выглядели клинически здоровыми. Количество КОЕ МБТ, высеянных из органов животных, представлено в таблице 46.

Таблица 46 - Количество КОЕ МБТ в легком и селезенке мышей через 14 суток после инфицирования в дозе  $5 \times 10^6$  КОЕ/мышь

Группы животных	КОЕ МБТ (легкое)	КОЕ МБТ (селезенка)
Линарол (50 мг/кг)	$(2,3 \pm 0,46) \times 10^{7*}$	$(3,73 \pm 0,23) \times 10^{7*}$
Изониазид (50 мг/кг)	$(2,7 \pm 1,5) \times 10^{5*}$	$(1,075 \pm 0,25) \times 10^{7*}$
Контрольная	$(6,99 \pm 0,9) \times 10^7$	$(3,99 \pm 0,29) \times 10^8$

Примечание: \* -  $P \leq 0,06$ .

Представленные в таблице 46 данные показывают, что по сравнению с контрольной группой, количество КОЕ микобактерий туберкулеза в легком у мышей, получавших Линарол, уменьшилось примерно в 3,5 раза. В селезенке этой группы мышей, количество КОЕ микобактерий по сравнению с контрольной группой, сократилось в 10 раз. В группе мышей, получавших изониазид, КОЕ МБТ в легком сократилось более чем в 100 раз, а в селезенке более чем в 10 раз.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что препарат Линарол при внутривентральном введении в дозе 50 мг/кг массы тела, в течение 5 дней достоверно снижал количество КОЕ микобактерий туберкулеза в легких и селезенке экспериментальных мышей в сравнении с мышами контрольной группы. Изониазид, в аналогичной дозе и сроках введения, снижал количество КОЕ МБТ на 2 порядка больше в легких, чем Линарол. Однако, показатели КОЕ в селезенке в группах мышей, получавших изониазид и Линарол, были практически одинаковыми.

На основании полученных данных можно заключить, что препарат Линарол обладает противотуберкулезной активностью, в отношении *M. tuberculosis* штамма H37Rv, которая в исследуемой дозе при краткосрочном введении была в 100 раз ниже в легком экспериментальных животных, чем препарата стандарта изониазид в аналогичной дозе и сроках введения. В селезенке противотуберкулезная активность Линарола и препарата стандарта изониазид

была практически одинаковой. Учитывая низкую токсичность препарата Линарол (максимально вводимая доза белым мышам и крысам – 4000 мг/кг массы тела, для сравнения ЛД<sub>50</sub> изониазида – 213 мг/кг массы тела), оптимально было бы изучить противотуберкулезную активность Линарола в высоких дозах и при длительном сроке лечения.

## **2.2.8 Изучение противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 in vivo**

### **2.2.8.1 Изучение терапевтической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 при лечении экспериментального туберкулеза у морских свинок**

Изучение терапевтического действия Линарола Ф-1 проводилось на морских свинках в течение двух месяцев по методике, заимствованной у Першина Г.Н. (1971). Зараженные животные были разделены на пять групп: две опытные (зараженные животные получали лечение Линаролом Ф-1 в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела) и три контрольные (зараженные животные получавшие лечение изониазидом в дозе 10 мг/кг массы тела, зараженные животные не получавшие никакого лечения и интактные животные).

В каждой группе было по 7 морских свинок (три самки и четыре самца). Морских свинок двух опытных и двух контрольных групп заражали 0,01 мг культуры микобактерий туберкулеза бычьего вида лабораторного штамма (штамм 14). Взвесь культуры в физиологическом растворе в объеме 0,5 мл вводили подкожно в паховую область морской свинки. Лечение животных начиналось через две недели после их заражения и продолжалось 2 месяца, при ежедневном пероральном введении Линарола Ф-1 и изониазида, путем введения растворенных в дистиллированной воде препаратов по 1 мл перорально.

Важным показателем эффективности лечения является разница в весе морских свинок на начало и окончание опыта. Данные по изменению веса животных, подвергнутых химиотерапии Линаролом Ф-1, представлены в таблице 47.

Таблица 47 - Изменение веса морских свинок зараженных микобактерии туберкулеза при терапии Линаролом Ф-1

Группы животных	Вес морских свинок, граммы		
	До начала опыта	Через 30 суток после лечения	Через 60 суток после лечения
I опытная группа (Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг)	308±11,5	362±11,8*	409±13,9*
II опытная группа (Линарол Ф-1 в дозе 5 мг/кг)	328±13,6	408±14,26*	416±20,68*
III контрольная группа (изониазид в дозе 10 мг/кг)	348±10,92	416±14,26*	442±10,79*
IV контрольная группа (нелеченные)	320±7,91	298±7,56	-
V контрольная группа (интактные)	318,4±8,08	373,2±7,29*	436,3±6,45*

Примечание: \* -  $p \leq 0,001$ .

Из таблицы 47 видно, что по окончании исследований масса тела у животных первой опытной группы, получавших Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг, увеличилась в среднем на 24% и практически оказалась равной привесу в группе интактных животных (27%). У морских свинок второй опытной группы, получавших Линарол Ф-1 в дозе 5 мг/кг, масса тела увеличилась на 21%, а морских свинок третьей контрольной группы, получавших изониазид на 22%. Вес животных четвертой контрольной группы (не подвергавшихся курсу химиотерапии) установить не удалось, так как к окончанию эксперимента 5 из 7 свинок погибло.

По окончании лечения животных подвергали эвтаназии, после чего проводили макроскопическое исследование и определяли индекс поражения внутренних органов. Экстракты легкого, печени, селезенки исследовали на наличие микобактерий, путем высева на плотные питательные среды. Результаты исследования терапевтических свойств Линарола Ф-1 при экспериментальном туберкулезе морских свинок, отражены в таблице 48.

Таблица 48 - Результаты испытания терапевтической активности Линарола Ф-1 при экспериментальном туберкулезе морских свинок

Группы животных	Препарат	Суточная доза, мг/кг	Исход		Средний индекс поражения органов и высеваемости микобактерий						Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на 1 животное каждой группы
			погибло	выжило	Место заражения	Лимфатические узлы	Регионарный лимф. узел	Легкие	Печень	Селезенка	
I	Линарол Ф-1	10	0	7	0,3	0	0 <sup>1</sup> /0 <sup>2</sup>	0/0	0/0	0/0	0,3/0
II	Линарол Ф-1	5	0	7	0,7	0	0,3/0,5	0/0	0,3/0,3	0,3/0,4	1,6/1,2
III	Изониазид	10	0	7	0,3	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0,3/0
IV	Контроль (зараженные, нелеченные)	-	5	2	1,4	1	2,6/2,2	1,2/1	2,1/1,7	1,4/1,8	9,7/6,7
V	Контроль (интактные)	-	0	7	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Примечание: <sup>1</sup> – индекс поражения органов;

<sup>2</sup> – индекс высеваемости микобактерий.

В четвертой контрольной группе (не леченые животные) в течение двух месяцев от генерализованного туберкулеза погибло 5 морских свинок. Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на одну морскую свинку составил 9,7/6,7.

У животных первой опытной (Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг) и третьей контрольной (изониазид в дозе 10 мг/кг) групп макроскопических туберкулезных поражений в легких, печени, селезенке не было выявлено. Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на одну морскую свинку в этих группах составил 0,3/0.

На вскрытии у животных второй опытной группы, леченых Линаролом Ф-1 в дозе 5 мг/кг массы тела, макроскопически были выявлены единичные туберкулезные изменения в регионарных лимфатических узлах, печени и селезенке. Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на одну морскую свинку во второй опытной группе составил 1,6/1,2.

При сравнении индексов поражения внутренних органов морских свинок в различных группах, отличается высокое терапевтическое действие Линарола Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела, т.к. индекс поражения внутренних органов равен индексу поражения при лечении животных изониазидом.

#### **2.2.8.2 Влияние Линарола Ф-1 на гематологические показатели крови морских свинок при лечении экспериментального туберкулеза**

У экспериментальных животных во время убоя брали кровь и из показателей гемограммы определяли гемоглобин, количество лейкоцитов и эритроцитов, а также лейкоцитарную формулу, используя общепринятые методы исследования (Меньшиков В.В., 1987). Результаты исследования сравнивали с показателями здоровых животных (таблица 49).

Таблица 49 - Гематологические показатели крови зараженных микобактериями туберкулеза морских свинок на 60 сутки после терапии Линаролом Ф-1

Показатели	Контроль (интактные)	Изониазид (10 мг/кг)	Линарол Ф-1 (10 мг/кг)	Линарол Ф-1 (5 мг/кг)
Эритроциты, ( $\times 10^{12}/л$ )	4,61 $\pm$ 0,02	4,5 $\pm$ 0,05	4,47 $\pm$ 0,34	4,29 $\pm$ 0,14
Гемоглобин (г/л)	132 $\pm$ 8,49	129 $\pm$ 3,31	137 $\pm$ 9,12	133 $\pm$ 9,02
СОЭ (мм/ч)	13 $\pm$ 7,454	12,66 $\pm$ 0,81	7,42 $\pm$ 0,84	5,30 $\pm$ 0,91
Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	4,12 $\pm$ 0,5	3,85 $\pm$ 0,56	5,44 $\pm$ 0,71	7,05 $\pm$ 0,51**
Базофилы (%)	0,8 $\pm$ 0,12	0,85 $\pm$ 0,02	0,64 $\pm$ 0,45	0,8 $\pm$ 0,2
Эозинофилы (%)	2,2 $\pm$ 0,39	2,42 $\pm$ 0,68	2,21 $\pm$ 0,49	2,8 $\pm$ 0,58
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	1,44 $\pm$ 0,17	1,14 $\pm$ 0,001	0,9 $\pm$ 0,001	0,46 $\pm$ 0,07*
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	15 $\pm$ 1,94	18,42 $\pm$ 3,41	20,64 $\pm$ 5,89	32,75 $\pm$ 3,437*
Лимфоциты (%)	74,10 $\pm$ 1,49	64,21 $\pm$ 3,44	68,91 $\pm$ 6,03	57 $\pm$ 3,73**
Моноциты (%)	6,46 $\pm$ 1,28	6,28 $\pm$ 0,67	6,68 $\pm$ 1,03	5,82 $\pm$ 0,74

Примечание: \* -  $P \leq 0,01$ , \*\* -  $P \leq 0,001$ .

При лечении экспериментального туберкулеза у морских свинок Линаролом Ф-1, гематологические показатели крови не меняются, но сохраняется лейкоцитоз в группе животных, получавших препарат в дозе 5 мг/кг массы, тогда как в группе животных, леченных Линаролом Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела, наблюдается выраженная тенденция к нормализации количества лейкоцитов.

В группе больных туберкулезом животных, получавших изониазид, наблюдается снижение числа сегментоядерных нейтрофилов и выраженный рост числа лимфоцитов, что говорит о возможной смене фаз воспаления и соответствует переходу экссудативной реакции в продуктивную фазу инкапсуляции, что в прогностическом отношении является благоприятным. Как видно из таблицы, Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела не влияет на формулу

крови и гематологические показатели крови близки к показателям у здоровых животных контрольной группы.

### 2.2.8.3 Влияние Линарола Ф-1 на биохимические показатели сыворотки крови морских свинок при лечении экспериментального туберкулеза

Результаты исследования воздействия Линарола Ф-1 на биохимические показатели, определяемые в сыворотке крови морских свинок, после двух-месячного курса терапии экспериментального туберкулеза, представлены в таблице 50.

Таблица 50 - Биохимические показатели крови зараженных микобактериями туберкулеза морских свинок на 60 сутки после терапии Линаролом Ф-1

Показатели	Контроль (интактные)	Изониазид (10 мг/кг)	Линарол Ф-1 (10 мг/кг)	Линарол Ф-1 (5 мг/кг)
АЛТ (МЕ/л)	0,92±0,1	1,63±0,42*	1,62±0,11*	0,83±0,08
АСТ (МЕ/л)	1,1±0,14	1,08±0,09	0,74±0,06	1,17±0,09
Билирубин (мкмоль/л)	7±0,4	6,9±0,32	7,4±0,39	7,03±0,54
Глюкоза (моль/л)	5,91±0,64	7,05±1,17*	5,84±0,67	5,07±0,21
Мочевина (моль/л)	5,69±0,34	6,84±2,17	6,35 ± 0,4	6,23±0,19
Общий белок (г/л)	51±0,89	55±5,43*	53,71±1,71	57,25±0,72*
Альбумины (г/л)	45,86±1,13	48,6±1,05	49,05±1,66	46,48±1,75
Глобулины (г/л)	54,13±1,13	51,4±1,03	50,95±1,66	53,51±1,75
А/Г	0,84	0,94	0,96	0,87
α1-глобулины (г/л)	9±0,23	8,3±0,73	8,43 ± 0,99	9,48±1,1
α2-глобулины( г/л)	18,48±0,33	19,54±2,6	19,06±1,67	20,12±2,02
β-глобулины (г/л)	11,22±0,33	9,04±0,22	8,54±0,86	10,12±1,09
γ-глобулины (г/л)	15,41±0,62	14,51±0,91*	14,91±1,06	13,77±0,69

Примечание: \* -  $P \leq 0,01$ .

Из таблицы следует, что у животных, получавших изониазид, достоверного изменения общего белка не отмечалось. Нормализация количества альбумина и восстановление нормального альбумино-глобулинового соотношения в группе животных, леченных Линаролом Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела, значительно опережало таковое в группе животных, леченных препаратом в дозе 5 мг/кг массы.

В группах животных, где проводилась терапия противотуберкулезными препаратами (изониазид и Линарол) концентрации мочевины в сыворотке крови достоверно не менялись. Линарол в дозе 10 мг/кг массы тела не оказывал токсического действия на почки и поджелудочную железу.

О состоянии функции печени судили по изменению аминотрансфераз в сыворотке крови. Достоверность изменений общего билирубина не наблюдалась. Как видно из данных таблицы, исходные показатели АЛТ и АСТ отличаются от полученных в процессе эксперимента. Наблюдалось снижение активности АЛТ в группе животных, получавших Линарол в дозе 5 мг/кг массы тела. Очевидно, исследуемый препарат не оказывает цитолитического действия на гепатоциты, а несколько угнетает активность АЛТ печени, что отражает понижение поступления фермента в сыворотку крови.

### **2.2.9 Применение Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 для специфической профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота**

В связи с высокой заболеваемостью маточного поголовья, длительной стационарностью и постоянной передержкой реагирующих на туберкулин животных в условиях Республики Татарстан, возникла необходимость выращивания ремонтного молодняка в хозяйствах с различной эпизоотической обстановкой, в том числе и телят, рожденных от реагирующих на туберкулин коров.

Завоз телок из-за пределов республики в зону с длительным неблагополучием по туберкулезу не решает проблему оздоровления. Профилактические и оздоровительные мероприятия в таких хозяйствах необходимо проводить с учетом сложившихся особенностей, а решение проблем оздоровления возможно путем полной замены неблагополучного поголовья здоровым.

Основной задачей в этом аспекте является создание внутрихозяйственных специализированных ферм по выращиванию ремонтных телок, на которых возможна изоляция телят в 5 -7 суточном возрасте. Однако, опасность заражения

телят в первые дни и месяцы жизни требовала изыскания методов предохранения их от заболевания с помощью химиопрофилактических средств.

Открытие противотуберкулезных химиопрепаратов расширило возможность для успешной борьбы с туберкулезом. Они используются во многих регионах как профилактические противотуберкулезные средства у сельскохозяйственных животных, особенно в зонах с широким распространением болезни.

Эффективность химиопрофилактики во многом зависит от метода использования препарата. Оценивая методы введения противотуберкулезных средств (подкожное введение Тубофена на физиологическом растворе в дозе 10 мг/кг массы животного), нами установлено, что подкожный, как и внутримышечный метод введения, сопряжены с определенными трудностями – стерильные инструменты и растворы, индивидуальная обработка, фиксация и другие. Эти методы довольно трудоемки и не могут быть рекомендованы для крупных животноводческих комплексов.

Пероральный метод способ введения противотуберкулезных препаратов мы считали наиболее удобным и экономически выгодным, так как его можно применять групповым методом.

Обнадеживающие результаты перорального применения химиопрепаратов на лабораторных животных позволили, с разрешения Главного управления ветеринарии при Кабинете Министров Республики Татарстан, поставить контролируемые опыты в производственных условиях.

#### **2.2.9.1 Изучение профилактической противотуберкулезной активности Тубофена в производственных условиях**

Предыдущими исследованиями экспериментально установлено, что оптимальной дозой Тубофена для профилактики туберкулеза у морских свинок является доза 5 и 10 мг/кг массы. Однократное и длительное его применение с кормом не вызывало отрицательных изменений в организме животных, что подтверждается проведенными нами исследованиями. Все это дало основание к производственному испытанию Тубофена, как химиопрофилактического средства,

для профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота в длительно неблагополучном по этому заболеванию хозяйстве.

Опыт поставлен в условия хозяйства Агрофирма «Теньковская», филиала «Большие Салтыки» Камско-Устьинского района Республики Татарстан. Хозяйство считается неблагополучным по туберкулезу крупного рогатого скота с 1994 года, когда в январе при проведении туберкулинизации, количество реагирующих на туберкулин животных составило 192 головы – 14,2% от всего поголовья (1350 голов).

В связи с латентной формой течения туберкулеза, при которой скот не реагирует на туберкулин (ареактивные к туберкулину животные) в хозяйстве с 2002 года практикуется вакцинация новорожденных телят вакциной БЦЖ, а крупный рогатый скот исследуется на туберкулез методом БЦЖ – теста, который создает у животных не только иммунитет, но и провоцирует скрытые формы инфекции, усиливая интенсивность внутрикожной туберкулиновой пробы у инфицированных животных. Это в свою очередь предупреждает рецидивы туберкулеза в ранее оздоровленных неблагополучных хозяйствах и распространение инфекции животными микробоносителями на благополучные стада.

Наблюдения проводились над 52 телятами в возрасте от 3 до 7 дней, полученных от реагирующих на туберкулин коров. Телята были разделены на 4 группы: 3 подопытные и одну контрольную, по 13 голов в каждой. Телята первой группы получали Тубофен в дозе 5 мг/кг массы, телята второй группы – Тубофен в дозе 10 мг/кг массы, телята третьей группы изониазид в дозе – 10 мг/кг массы и телята 4-ой контрольной группы – физиологический раствор. Препараты задавали перорально, групповым методом, в течение 60 дней, в смеси с молоком. По результатам контрольного взвешивания животных, один раз в 2 недели проводили коррекцию дозы препаратов.

Телята содержались вместе в одном помещении. Условия кормления, ухода и содержания были одинаковы. Животные после рождения в течение месяца получали цельное молоко по общим нормам, принятым в хозяйстве, а затем ЗЦМ.

По мере роста им в рацион вводили фураж, сено и свежескошенную, провяленную траву.

В течение 2-х месяцев за животными вели клиническое наблюдение, гематологические исследования и ежемесячно всех телят исследовали двукратным аллергическим методом на туберкулез. В качестве аллергена использовали ППД туберкулин для млекопитающих (стандартное разведение). Учет реакции проводили через 72 и 96 часов после введения туберкулина. По окончании курса химиопрофилактики по 5 животных из каждой группы были убиты на санитарной бойне Агрофирмы «Теньковское», филиала «Большие Салтыки» Камско-Устьинского района Республики Татарстан. Полученный патологический материал подвергнут лабораторным исследованиям.

Через 10 дней после окончания курса химиопрофилактики, оставшиеся животные всех четырех групп были вакцинированы вакциной БЦЖ, в дозе 1 мг, внутрикожно в 0,2 мл растворителя, согласно наставлению по применению вакцины БЦЖ на крупном рогатом скоте, утвержденному ГУВ МСХ от 26 февраля 1990 года.

В течение опыта от интеркурентных заболеваний пало 2 животных из третьей и четвертой групп. Клиническое наблюдение за животными показали, что применение Тубофена в испытываемых дозах не вызывает отклонений от физиологической нормы. Телята 3-х опытных групп за время проведения испытаний находились в естественной для них позе, легко и быстро передвигались, после приема корма обычно ложились и лежали в характерном для них положении. Телосложение у телят правильное, упитанность средняя, конституция плотная, мышцы, суставы, сухожилия хорошо очерчены, животные легко и быстро реагировали на внешние раздражители, конъюнктивы, слизистая носа и ротовой полости бледно-розового цвета, умеренной влажности, припуханий и нарушений их целостности не отмечали. Кожа тонкая, эластичная, специфического запаха, умеренной влажности. Шерстяной покров блестящий, гладкий, хорошо удерживался в волосяных луковицах. Лимфатические узлы:

подчелюстные, предлопаточные и коленной складки – гладкие, ровные, подвижные, плотные и безболезненные.

В результате проведенных аллергических исследований в длительно неблагополучном по туберкулезу хозяйстве агрофирма «Теньковская», филиалы «Большие Салтыки» установили, что в течение 2-х месяцев применения Тубофена и изониазида ни одно животное из подопытных групп не реагировало на введение туберкулина. Отрицательная реакция на введения туберкулина также отмечалась и в контрольной группе животных.

По истечении всего курса химиопрофилактики (60 дней) произвели контрольный убой пяти телят из каждой группы, при этом во внутренних органах и тканях животных опытных и контрольной групп изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено.

Результаты лабораторного исследования противотуберкулезной эффективности Тубофена и изониазида у телят длительно неблагополучного по туберкулезу хозяйства отражены в таблице 51.

Таблица 51 - Результаты исследований противотуберкулезной активности Тубофена в производственных условиях

Препарат, доза	Количество животных, (гол).	Проведенные исследования					
		Патолого- анатомические	Бактериоскопические	Бактериологические	Гистологические	Биопроба	Установлен туберкулез
Тубофен, 5 мг/кг	5	—	—	—	—	—	—
Тубофен, 10 мг/кг	5	—	—	—	—	—	—
Изониазид, 10 мг/кг	5	—	—	—	—	—	—
Контроль	5	—	—	3	—	3	3

Из данных таблицы 51 видно, что при проведении патологических, гистологических и бактериоскопических исследований не удалось установить туберкулез ни в опытных, ни контрольной группах. Однако при проведении бактериологического исследования и проведении биопробы на морских свинках, у трёх телят из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Таким образом, Тубофен в дозах 10 и 5 мг/кг массы и изониазид в дозе 10 мг/кг массы, задаваемые с молоком, в течение двух месяцев, предотвратили возможное развитие туберкулезной инфекции в организме телят длительно неблагополучного по данному заболеванию хозяйства.

Кроме того, в процессе эксперимента, нами изучено влияние Тубофена на клинико-гематологические показатели телят, находившихся в данном опыте. Изменение клинико-гематологических показателей у телят трех опытных и одной контрольной групп учитывали до проведения исследований, затем через 10 дней, 30 дней и по окончании опыта (60 дней). Клинико-гематологические показатели телят при профилактическом применении Тубофена представлены в таблице 52.

Из данных таблицы 52 следует, что клинические показатели телят трех опытных и одной контрольной групп при двухмесячном курсе химиопрофилактики туберкулеза Тубофеном и изониазидом, не отклонялись от изменений возрастных показателей физиологической нормы.

В свою очередь, гематологические показатели телят трех подопытных групп также соответствовали возрастным изменениям показателей физиологической нормы. Контрольная группа животных, получавшая за весь период опыта физиологический раствор, к концу испытания имела незначительные отклонения количественного содержания эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина крови. Так, количество эритроцитов по завершении опыта у них составляло  $8,85 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$ , что на 5,14% меньше показателя в первой группе, на 3,38% - во второй и на 1,6% - в третьей.

Таблица 52 - Клинические и гематологические показатели телят при профилактическом применении Тубофена

Группы животных	Показатели	Сроки исследования, сут.			
		До лечения	10	30	60
1 (Тубофен в дозе 5 мг/кг массы)	Температура, °С	39,3±0,2	39,4±0,4	39,1±0,15	39,0±0,07
	Пульс, уд./мин.	118±3,7	108,8±2,71	119,1±2,6	123,6±3,97
	Дыхание, д.дв./мин	49,6±2,42	55,8±3,17	52,1±2,48	44,7±2,38
	Э, ×10 <sup>12</sup> /л	10,17±0,3*	10,79±0,3	9,44±0,26*	9,33±0,25*
	Л, ×10 <sup>9</sup> /л	7,86±0,18	7,42±0,2	6,82±0,28*	8,27±0,3
	Нв, г/л	162,7±0,32*	109,5±0,3*	114,2±0,2*	108,25±0,3*
	Масса тела, кг	29,2±0,39	31,3±0,3	41,6±0,52	52,1±0,56
2 (Тубофен в дозе 10 мг/кг массы)	Температура, °С	38,6±0,28	39,3±0,1	39,4±0,1	39,2±0,11
	Пульс, уд./мин.	122,2±3,8	120,2±3,4	110±3,64	128,5±2,61
	Дыхание, д.дв./мин	52,2±2,51	53±2,57	47,7±2,85	43,6±2,34
	Э, ×10 <sup>12</sup> /л	11,28±0,29	10,66±0,3	9,27±0,24*	9,16±0,24*
	Л, ×10 <sup>9</sup> /л	8,2±0,32	7,82±0,27	6,87±0,27*	7,9±0,28
	Нв, г/л	168,2±0,22*	113,2±0,32*	111,7±0,25	114,5±0,34*
	Масса тела, кг	30,1±0,38	32,2±0,28	42,0±0,46	53,0±0,32
3 (изониазид в дозе 10 мг/кг массы)	Температура, °С	39,4±0,21	39,4±0,26	39,6±0,23	39,2±0,22
	Пульс, уд./мин.	109,6±4,17	116,3±3,62	121,6±2,52	114,1±3,17
	Дыхание, д.дв./мин	45,4±2,2	56,2±2,5	48,5±2,5	49,0±2,39
	Э, ×10 <sup>12</sup> /л	10,35±0,46	10,49±0,36	9,14±0,23*	9,0±0,25*
	Л, ×10 <sup>9</sup> /л	8,33±0,32	8,05±0,29*	7,3±0,23	8,12±0,34
	Нв, г/л	159,7±0,23	105,5±0,32*	107,0±0,3	107,1±0,34*
	Масса тела, кг	30,5±0,41	31,9±0,34	41,0±0,54	51,2±0,59
4 (контрольная группа)	Температура, °С	39,3±0,22	39,6±0,19	39,4±0,24	39,1±0,19
	Пульс, уд./мин.	113,2±3,94	117,8±3,7	124,5±3,71	122,7±2,99
	Дыхание, д.дв./мин	47,8±2,15	54,1±2,75	51,0±1,85	43,1±1,88
	Э, ×10 <sup>12</sup> /л	11,06±0,41	10,36±0,18	8,95±0,2	8,85±0,21
	Л, ×10 <sup>9</sup> /л	7,72±0,31	7,55±0,3	7,42±0,2	8,67±0,3
	Нв, г/л	166,5±0,21	103,7±0,31	105,7±0,26	103,1±0,36
	Масса тела, кг	31,2±0,32	32,4±0,37	40,8±0,58	52,7±0,34

Примечание: \* - p &lt; 0,01; \*\* - p &lt; 0,05.

Количество лейкоцитов было незначительно увеличено и составляло  $8,67 \pm 0,3 \times 10^9$ /л, что на 4,6% больше, чем в первой контрольной группе, на 8,88% - во второй и на 6,34% - в третьей. Количество гемоглобина у контрольной группы животных было также незначительно уменьшено и составляло  $103,14 \pm 0,36$ г/л, что на 4,7% меньше, чем в первой опытной группе, на 10 % - во второй и на 3,7% - в третьей.

Живая масса телят трех опытных и одной контрольной групп за весь период наблюдения (2 месяца) изменялась в пределах физиологической нормы.

### **2.2.9.2 Изучение профилактической противотуберкулезной активности Линарола в производственных условиях**

Исследованиями в предыдущих главах установлено, что при экспериментальном туберкулезе у морских свинок, Линарол проявил достаточно высокий профилактический эффект и обладает выраженными туберкулостатическими свойствами в дозах 5 и 10 мг/кг массы животного. Двухмесячное пероральное его применение не вызывало отрицательных изменений в организме животных, что подтверждается проведенными нами бактериологическими, патоморфологическими и гистологическими исследованиями. Все это дало основание к производственному испытанию Линарола, как химиопрофилактического средства, для профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах.

Опыт поставлен в условия хозяйств ООО СХП «Золотой Колос» МТФ «Сокуры» Лаишевского муниципального района и ООО «Агроспецстрой» МТФ «Монашево» Менделеевского муниципального района Республики Татарстан.

На период испытаний хозяйства являлись неблагополучными по туберкулезу крупного рогатого скота. ООО СХП «Золотой Колос» приобрело статус неблагополучия по туберкулезу крупного рогатого скота с 28 октября 2008 года, когда при проведении массовых аллергических диагностических исследований реагировало на туберкулин 72 головы, в том числе 48 коров, при

среднегодовом поголовье 430 голов. В ООО «Агроспецстрой» карантинные (ограничительные) мероприятия по туберкулезу крупного рогатого скоты были введены с 18 января 2010 года. При проведении массовых аллергических исследований из 438 голов стада, на туберкулин реагировали 307 голов.

В опыте находилось 28 телят в возрасте от 3 до 10 дней, которых отбирали по принципу аналогов как от реагирующих на туберкулин коров, так и от не реагирующих (условно здоровых) животных. Схема проведения производственного испытания эффективности Линарола, как химиофилактического средства у телят молочного периода онтогенеза в неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйствах отражена в таблице 53.

Таблица 53 - Схема производственного испытания Линарола

Название хозяйства	Группы животных	Доза Линарола, мг/кг	Количество телят в группе
ООО «Золотой Колос» МТФ «Сокуры»	1 опытная	10	6
	2 опытная	5	6
	3 контрольная	-	6
ООО «Агроспецстрой» МТФ «Монашево»	1 опытная	10	5
	2 контрольная	-	5

В ООО СХП «Золотой Колос», МТФ «Сокуры» опыты проведены на 18 телятах 3-10 дневного возраста. По принципу аналогов были сформированы 3 группы телят, по 6 голов в каждой. Животным первой опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально Линарол, в дозе 10 мг/кг, второй – Линарол, в дозе 5 мг/кг. Телята третьей, контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В ООО «Агроспецстрой» опыты проведены на 10 телятах 3-6 дневного возраста, полученных от реагировавших на туберкулин коров, которые по принципу аналогов были сформированы в 2 группы, по 5 голов в каждой. Животным первой опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально Линарол, в дозе 10 мг/кг массы тела. Телята

второй, контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В течение 2-х месяцев за животными вели клиническое наблюдение и ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез. По результатам контрольного взвешивания животных, один раз в 2 недели проводили коррекцию дозы препаратов.

Результаты аллергических исследований телят показали, что через месяц ни одно животное из опытных и контрольных групп на введение туберкулина не реагировало. При проведении аллергического исследования через 2 месяца, после начала эксперимента, реакция на туберкулин отмечалась у 2 телят контрольной группы в хозяйстве «Золотой Колос» и у 1 теленка контрольной группы в хозяйстве «Агороспецстрой» и характеризовались увеличением кожной складки на 4 - 5 мм. Животные опытных групп на введение туберкулина не реагировали.

По истечении курса химиопрофилактики (60 дней) провели контрольно - диагностический убой телят из каждой группы, причем в контрольной группе на убой отобрали телят, реагировавших на туберкулин. Результаты изучения специфической профилактической активности Линарола на телятах неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйств отражены в таблице 54.

Из результатов исследований, отраженных в таблице 54, видно, что при контрольно-диагностическом убое 2 телят из каждой группы в МТФ «Сокуры» во внутренних органах и тканях животных первой опытной группы, получавших Линарол в дозе 10 мг/кг массы тела, изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено. У одного из двух убитых телят второй опытной группы, получавших Линарол в дозе 5 мг/кг массы тела, отмечали лишь незначительное увеличение бронхиальных лимфатических узлов. У телят контрольной группы была незначительная гиперемия и увеличение подчелюстных и бронхиальных лимфатических узлов.

Таблица 54 - Результаты изучения профилактической противотуберкулезной активности Линарола в производственных условиях

Название хозяйства	Доза препарата (мг/кг)	Количество реагирующих на туберкулин животных (голов)	Контрольно-диагност. убой (голов)	Проведенные исследования:		
				Патоморфологические	Бактериологические	Установлен туберкулез (голов)
ООО «Золотой Колос» МТФ «Сокуры»	10	0	2	-	-	-
	5	0	2	-	-	-
	контроль	2	2	2	2	2
ООО «Агроспецстрой» МТФ «Монашево»	10	0	3	-	-	-
	контроль	1	3	1	1	1

При гистологическом исследовании патологического материала (лимфатические узлы, легкие, селезенка и печень) лишь у телят контрольной группы отмечали первоначальное формирование туберкулезных узелков, состоящих из лейкоцитов, лимфоидных клеток, расположенных вокруг них эпителиоидных и разрозненных гигантских многоядерных клеток. В отдельных, из формирующихся узелков, выявлены незначительные некротические изменения. У телят, получавших Линарол в дозе 5 и 10 мг/кг массы, характерных туберкулезных изменений в органах и лимфатических узлах не установлено, за исключением разрозненных и собранных в мелкие группы лейкоцитов и потерявших четкие контуры эпителиоидных клеток.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала, взятого от убитых животных опытных и контрольной групп, путем бактериологических исследований и проведения биопробы на морских свинках, у двух телят из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

При контрольно-диагностическом убое 3 телят из каждой группы в МТФ «Монашево» во внутренних органах и тканях животных первой опытной группы,

получавших Линарол в дозе 10 мг/кг массы тела, изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено. В свою очередь, у 2 телят из контрольной группы отмечали гиперемию и увеличение бронхиальных лимфатических узлов. Других патологических изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружили. При гистологическом исследовании патологического материала первоначальное формирование туберкулезных узелков отмечали только в бронхиальных лимфатических узлах полученных, от одного теленка контрольной группы.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала, взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведения биопробы на морских свинках, только у одного теленка из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Таким образом, применение Линарола по описанной схеме в комплексе оздоровительных мероприятий позволило в опытных группах вырастить свободных от возбудителя туберкулеза, здоровых телят. В контрольных группах животных, не подвергавшихся курсу химиопрофилактики Линаролом, инфицированность поголовья молодняка была в пределах 20 – 30%.

### **2.2.9.3 Изучение профилактической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 в производственных условиях**

В предыдущих экспериментах нами установлено, что оптимальной дозой Линарола Ф-1 для терапии туберкулеза у морских свинок является доза 10 мг/кг массы. Однократное и длительное (60 суток) его пероральное применение не вызывало отрицательных изменений в организме животных, что подтверждается проведенными нами исследованиями. Все это дало основание к производственному испытанию Линарола Ф-1, как химиопрофилактического средства, для профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота в неблагополучных по этому заболеванию хозяйствах.

Опыты по изучению профилактической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 проведены в условиях трех хозяйств: ООО «Агроспецстрой» МТФ «Монашево» Менделеевского муниципального района РТ, ОАО «Красный Восток-Агро» ЖК «Челны» Алькеевского муниципального района РТ и ООО «Черемшан Агроуслуги», МТФ отделение «Туймет» Черемшанского муниципального района РТ. На период испытаний вышеперечисленные хозяйства являлись неблагополучными по туберкулезу крупного рогатого скота.

В опыте находилось 49 телят в возрасте от 3 до 12 дней, которых отбирали по принципу аналогов как от реагирующих, так и от не реагирующих на туберкулин коров, неблагополучного по туберкулезу стада. Схема проведения производственного испытания Линарола Ф-1, как специфического химиофилактического средства у телят молочного периода онтогенеза в неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйствах отражена в таблице 55.

Таблица 55 - Схема производственного испытания Линарола Ф-1

Название хозяйства	Группы животных	Доза Линарола Ф-1, мг/кг	Количество телят в группе
МТФ «Монашево»	1 опытная	10	5
	2 опытная	5	5
	3 контрольная	-	5
Животноводческий комплекс «Челны»	1 опытная	10	6
	2 опытная	5	6
	3 контрольная	-	6
МТФ отделения «Туймет»	1 опытная	10	8
	2 контрольная	-	8

В ООО «Агроспецстрой», МТФ «Монашево» опыты проведены на 15 телятах 3-10 дневного возраста, полученных от реагировавших на туберкулин коров, которые по принципу аналогов были сформированы в 3 группы, по 5 голов в каждой. Животным первой опытной группы пероральным методом, в смеси с молоком, в течение 60 дней задавали Линарол Ф-1, в дозе 10 мг/кг массы, животным второй опытной группы Линарол Ф-1, в дозе 5 мг/кг массы тела.

Телята четвертой (контрольной) группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В ОАО «Красный Восток-Агро», ЖК «Челны» опыты проведены на 18 телятах 4 - 10 дневного возраста, которые по принципу аналогов были сформированы в 3 группы, по 6 голов в каждой. Животным первой опытной группы пероральным методом, в смеси с молоком, в течение 60 дней задавали Линарол Ф-1, в дозе 10 мг/кг массы, животным второй опытной группы Линарол Ф-1, в дозе 5 мг/кг массы тела. Телята контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В ООО «Черемшан-Агроуслуги», МТФ отделения «Туймет» изучение химиофилактической активности Линарола Ф-1 проводилось на 16 телятах в возрасте от 5 до 12 дней. Животные были разделены на 2-е группы - опытную и контрольную, по 8 голов в каждой. Телята опытной группы получали Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы, а телята контрольной группы – физиологический раствор. Препарат задавали перорально, групповым методом, в течение 60 дней, в смеси с молоком.

Телята контрольных и опытных групп содержались в одном помещении. Условия кормления, ухода и содержания были одинаковы. Животные после рождения в течение месяца получали молоко, полученное от условно благополучных по заболеванию коров, по общим нормам, принятым в хозяйстве, а затем обрат и ЗЦМ. По мере роста в рацион вводили фураж, сено или свежескошенную, провяленную траву.

В течение 2-х месяцев за животными вели клиническое наблюдение, проводили гематологические и биохимические исследования крови и ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез. В качестве аллергена использовали ППД туберкулин для млекопитающих. За весь период исследований падежа телят в опытных и контрольных группах не наблюдалось. По результатам контрольного взвешивания животных, один раз в две недели проводили коррекцию дозы препарата.

Результаты аллергических исследований на 30 сутки исследования показали, что ни одно животное подопытных и контрольных групп на введение туберкулина не реагировало. При проведении аллергического исследования через 2 месяца после начала эксперимента реакция на туберкулин отмечалась у одного теленка контрольной группы в сельскохозяйственном предприятии «Агороспецстрой» (4 мм) и у трех животных контрольной группы в хозяйстве «Черемшан-Агроуслуги», причем у двух телят с увеличением кожной складки на 3мм и у одного - на 4 мм. Животные опытных групп и одной контрольной группы в ООО «Красный Восток-Агро» на введение туберкулина не реагировали. По окончании курса химиопрофилактики по три теленка из каждой группы были подвергнуты контрольно-диагностическому убою на санитарной бойне хозяйства. Полученный патологический материал подвергнут лабораторным исследованиям.

Результаты изучения специфической профилактической активности Линарола Ф-1 на телятах неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйств отражены в таблице 56.

Таблица 56 - Результаты изучения профилактической противотуберкулезной активности Линарола Ф-1 в производственных условиях

Предприятие	Доза препарата (мг/кг)	Количество реагирующих на туберкулин животных (голов)	Контрольно - диагност. убой (голов)	Проведенные исследования:		
				Патоморфологические	Бактериологические	Установлен туберкулез (голов)
«Агроспец-строй»	10	0	3	-	-	-
	5	0	3	-	-	-
	контроль	1	3	1	1	1
«Красный Восток-Агро»	10	0	3	-	-	-
	5	0	3	-	-	-
	контроль	0	3	-	2	2
«Черемшан-Агроуслуги»	10	0	3	-	-	-
	контроль	3	3	-	1	1

Из результатов исследований, отраженных в таблице 56 видно, что при контрольно-диагностическом убое трех телят из каждой группы в ООО «Агроспецстрой» во внутренних органах и тканях животных опытных групп, получавших Линарол Ф-1 в дозе 10 и 5 мг/кг массы тела, изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. В свою очередь у двух телят из контрольной группы отмечали гиперемию и увеличение бронхиальных лимфатических узлов. Других патологических изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружили.

При гистологическом исследовании патологического материала первоначальное формирование туберкулезных узелков отмечали только в бронхиальных лимфатических узлах, полученных от теленка контрольной группы.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала, взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биопробы на морских свинках, только у одного теленка из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

При контрольно-диагностическом убое трех телят из каждой группы в ООО «Красный Восток-Агро» во внутренних органах и тканях животных подопытных и контрольной групп патологических изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала, взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биопробы на морских свинках, у двух телят из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

При проведении патологоанатомических исследований у животных в ООО «Черемшан-Агроуслуги» установлено, что во внутренних органах и тканях телят подопытной группы, получавшей Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/массы тела, изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено. В контрольной группе у двух животных отмечалось лишь незначительное увеличение заглочных лимфатических узлов.

При проведении бактериоскопических и гистологических исследований нам также не удалось выделить микобактерии туберкулеза ни в опытной, ни в контрольной группах. Однако при проведении бактериологического исследования и проведении биопробы на морских свинках у одного из трех телят контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Для изучения влияния Линарола Ф-1 на гематологические показатели крови телят у экспериментальных животных перед началом эксперимента, на 30 сутки и по окончании эксперимента (60 суток) брали кровь и определяли количество лейкоцитов и эритроцитов, а также лейкоцитарную формулу, используя общепринятые методы исследования. Результаты исследования сравнивали с показателями животных контрольной группы.

Кроме того, важным показателем эффективности лечения является разница в весе животных на начало и окончание опыта. Данные гематологических показателей крови и массы тела телят при химиопрофилактике туберкулеза Линаролом Ф-1 представлены в таблице 57.

Из результатов, отраженных в таблице 57, следует, что пероральное введение Линарола Ф-1 телятам, в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 60 суток, не повлияло на гематологические показатели крови, которые не отличались от таковых у контрольной группы, ни на 30, ни на 60 сутки исследования.

Установлено, что достоверно увеличивалось (в пределах верхних границ допустимой нормы) лишь количество лейкоцитов у животных контрольной группы на 60 сутки исследований. Это говорит о незначительном воспалительном процессе, происходящем в организме.

Таблица 57 - Гематологические показатели и изменение веса телят на 30 и 60 сутки после перорального введения Линарола Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела

Наименование показателей	Сроки исследования, сутки					
	до начала эксперимента		30		60	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Эритроциты (*10 <sup>12</sup> /л)	8,94±0,17	9,08±0,18	8,4±0,15	8,7±0,23	8,62±0,27	8,12±0,19
Лейкоциты (*10 <sup>9</sup> /л)	8,86±0,15	9,1±0,17	9,1±0,18	8,82±0,27	10,4±0,49	8,84±0,31*
Палочкоядерные (%)	9,2±0,74	9,8±0,65	5,6±0,57	4,2±0,82	4,4±0,84	3,2±0,65
Сегментоядерные (%)	28,2±1,43	27,8±1,67	21±1,46	21,4±1,6	21,8±1,98	20,6±1,44
Эозинофилы (%)	1,0±0,35	0,4±0,27	0,4±0,45	0,2±0,22	0,6±0,27	0,2±0,22
Базофилы (%)	0,6±0,45	0,2±0,22	0,4±0,27	0,4±0,27	0,6±0,45	0,4±0,45
Моноциты (%)	3,4±0,57	4,4±0,76	5,4±0,57	4,2±0,96	4,6±0,57	4,8±1,08
Лимфоциты (%)	43±1,94	40,8±1,75	56,8±3,65	52,2±3,07	67,2±2,07	69,4±2,39
Живая масса, кг	36,6±1,04	34,6±1,2	48±1,27	49,6±1,75	62,8±2,9	67,4±2,59

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ .

Изменение массы тела телят опытной и контрольной групп происходило в результате их физиологического роста. Причем показатель живой массы телят опытной группы, получавшей перорально Линарол Ф-1, на 60 сутки исследования оказался на 7% выше, в сравнении с контрольной и составил  $67,4 \pm 2,59$  кг.

Характер воздействия исследуемого соединения на биохимические показатели, определяемые в сыворотке крови телят, проводили одновременно с работой по изучению гематологических показателей крови и массы тела телят при химиопрофилактике туберкулеза Линаролом Ф-1. Результаты исследования приведены в таблице 58.

Из таблицы 58 следует, что биохимические показатели сыворотки крови опытной группы, до начала эксперимента, не отличались от таковых у контрольной группы. На 30 сутки исследования у животных контрольной группы, не подвергавшихся курсу химиопрофилактики Линаролом Ф-1, отмечалось достоверное увеличение количества общего белка и альбуминов в сыворотке крови. Так, если в опытной группе показатели общего белка и альбуминов на 30 сутки эксперимента составляли  $57,44 \pm 0,65$  г/л и  $26 \pm 0,49$  г/л, то в контрольной группе они были на 5% выше ( $60,2 \pm 0,93$  г/л и  $27,26 \pm 0,21$  г/л соответственно). По другим биохимическим показателям (аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), билирубин, мочевины, креатинин и другие) опытная группа не отличалась от контрольной.

На 60 сутки исследования у телят контрольной группы продолжалось достоверное увеличение количества общего белка в сыворотке крови. Так, если в опытной группе этот показатель составил  $61,2 \pm 0,65$  г/л, то в контрольной группе он был выше уже на 9%.

Таблица 58 - Биохимические показатели телят на 30 и 60 сутки после перорального введения Линарола Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела

Наименование показателей	Сроки исследования, сутки					
	до начала эксперимента		30		60	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Глюкоза (ммоль/л)	4,54±0,27	4,42±0,29	4,32±0,17	4,44±0,23	3,7±0,18	3,88±0,16
АЛТ (МЕ/л)	17±1,27	18±1,7	17,8±1,08	18,2±0,89	22,2±1,29	20,6±1,48
АСТ (МЕ/л)	39,6±2,08	38,6±1,48	43,2±2,48	42,6±2,28	48±2,89	44,8±2,77
Общий белок (г/л)	56,88±1,55	57,96±1,54	60,2±0,93	57,44±0,65*	66,8±2,16	61,2±1,75*
Альбумины (г/л)	20,46±0,81	21,4±1,29	27,26±0,21	26±0,49*	29,64±0,72	28,36±0,79
α1-глобулины (г/л)	3,92±0,1	4,08±0,24	4,52±0,3	4,62±0,22	4,88±0,22	4,36±0,28
α2-глобулины (г/л)	2,9±0,17	2,9±0,29	3,84±0,29	4,2±0,22	3,7±0,38	3,06±0,19
β-глобулины (г/л)	5,56±0,29	6,3±0,33	7,5±0,15	7,04±0,33	7,4±0,39	6,6±0,38
γ-глобулины (г/л)	7,32±0,22	6,92±0,18	8,18±0,44	7,7±0,28	9,62±0,61	7,38±0,39*
А/Г коэффициент	1,03	1,06	1,14	1,1	1,15	1,32
Биллирубин (мкмоль/л)	8,56±0,27	8,58±0,2	8,16±0,41	7,72±0,2	5,92±0,36	5,66±0,26
Креатинин (мкмоль/л)	164,4±2,2	166,6±1,57	114±3,48	116,2±2,95	113,6±1,82	111,4±3,82
Мочевина (ммоль/л)	2,62±0,2	2,56±0,17	2,84±0,12	2,94±0,1	3,44±0,16	3,18±0,14

Примечание: \* -  $P \leq 0,05$ .

Выраженная гиперпротеинемия не может наблюдаться при нормальных физиологических процессах и развивается только при наличии патологии. В частности, повышение общего белка в крови может свидетельствовать о развитии инфекционного заболевания.

Кроме того, на 60 сутки исследований у животных контрольной группы отмечалось достоверное увеличение количества гамма-глобулинов в сыворотке крови, что также может свидетельствовать о развитии инфекционного процесса в организме.

Концентрации мочевины в сыворотке крови у телят опытной группы достоверно не менялись на протяжении всего исследования, тем самым можно утверждать, Линарол Ф-1 не оказывал токсического действия на почки и поджелудочную железу.

О состоянии функции печени судили по изменению аминотрансфераз в сыворотке крови. Достоверность изменений общего билирубина не наблюдалась. Как видно из данных таблицы, исходные показатели АЛТ и АСТ у телят опытной группы не отличаются от результатов, полученных в процессе эксперимента у контрольной группы. Очевидно, что исследуемый препарат не оказывает цитолитического действия на гепатоциты.

Таким образом, в результате проведенных исследований, установлено, что пероральное введение Линарола Ф-1, телятам, в течение молочного периода, в дозе 5 и 10 мг/кг массы тела, обеспечивает 100% защиту их от инфицирования микобактериями туберкулеза и позволяет провести гарантированное выращивание на внутрихозяйственных фермах здоровых животных, полученных от коров неблагополучных стад, в том числе и от больных туберкулезом.

В контрольных группах телят, не подвергавшихся курсу химиопрофилактики Линаролом Ф-1, инфицированность поголовья молодняка была в пределах 12,5 - 30%.

Однако необходимо отметить, что высокие результаты эффективности проведенной нами химиопрофилактики напрямую зависят от множества факторов, таких как инфицированность поголовья, уровня ветеринарно-санитарного

состояния хозяйства, квалификации специалистов, культуры ведения животноводства и тщательного выполнения комплекса профилактических мероприятий.

Внедрение Линарола Ф-1 для химиопрофилактики туберкулеза, как вынужденного дополнительного мероприятия в технологии изолированного выращивания телят, в условиях сложной эпизоотической обстановки по туберкулезу крупного рогатого скота, позволило:

1. Подтвердить правильность выбора перорального метода введения препарата и его дозу (10 мг/кг массы) для профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота.
2. Создать оптимальную и длительную концентрацию Линарола Ф-1 в крови, которая предотвращает возможность инфицирования телят на время молочного периода развития, а у инфицированных животных оказывает лечебное действие, что позволяет профилактировать, в более поздние сроки, переход скрытой инфекции в тяжелые формы заболевания.
3. Провести в 100% случаев гарантированное выращивание на внутрихозяйственных фермах здоровых телят, полученных от коров неблагополучных стад, в том числе и от больных туберкулезом.
4. Улучшить эпизоотическую обстановку и способствовать оздоровлению от туберкулеза крупного рогатого скота хозяйств, методом поэтапной замены поголовья, выращенным здоровым скотом.
5. Рекомендовать опыт по изолированному выращиванию телят молочного периода развития с применением химиопрофилактики, на фермах неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на успехи, достигнутые в борьбе с туберкулезом сельскохозяйственных животных, эта инфекция остается одной из ведущих, наиболее сложных и экономически значимых в инфекционной патологии, причиняя огромный ущерб народному хозяйству и представляя серьезную опасность населению. Благодаря достижениям науки и практики, эпизоотическая обстановка по туберкулезу крупного рогатого скота за последние 15 лет в Российской Федерации неуклонно улучшается (Смолянинов Ю.И., Лопунов С.В. 2008, 2009). Однако, положительные тенденции в борьбе с этой инфекцией в целом по стране, зачастую не совпадают с таковыми в отдельных ее регионах (Жуков А.П., 2006; Баратов М.О., 2017).

Ретроспективный анализ динамики эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Татарстан за 40 лет (с 1960 по 2000 годы) показывает, что в этот период она оставалась крайне напряженной. Стационарность и множественность очагов инфекции, а также систематическое инфицирование животных, в силу невыполнения хозяйствами профилактических мер снижали эффективность проводимых оздоровительных мероприятий. Всего за этот период было оздоровлено 726 неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов, но при том вновь было выявлено – 665. За 1960 – 2000 гг. заболело 130479 животных, на учете на территории РТ ежегодно в среднем состояло более 50 неблагополучных пунктов.

Максимальное количество неблагополучных пунктов по туберкулезу крупного рогатого скота было выявлено в 1966 году. К началу 1966 года в 20 из 36 районов республики было 138 неблагополучных пункта. В течение года было оздоровлено от туберкулеза 54 пункта, вновь выявлено - 34, в которых заболело 10248 животных, т.е. 1,5% к числу исследованных.

Следует отметить, что к концу 1987 года в результате интенсивной противоэпизоотической работы ветеринарной службы эпизоотическая ситуация становится менее напряженной. Так, за этот год было выявлено всего 2 неблагополучных пункта, оздоровлено 7. Впервые на начало 1988 года не

осталось на передержке больного скота и не было ни одного неблагополучного по туберкулезу пункта.

Однако обострилась проблема длительно неблагополучных хозяйств, где туберкулез регистрировался стационарно (по 10-15 лет), оздоровить которые общепринятыми методами не удавалось.

В период с 1995 по 2000 годы были усилены профилактические мероприятия по охране благополучных хозяйств от заноса в них туберкулезной инфекции, строго осуществлялись мероприятия по своевременному и полному выявлению и удалению из стада больных и инфицированных животных. Все ранее неблагополучные по туберкулезу крупного рогатого скота пункты находились под строжайшим ветеринарным контролем, особенно хозяйства Бавлинского, Верхнеуслонского, Дрожжановского, Камско-Устьинского, Муслимовского, Новошешминского и Черемшанского районов РТ, где туберкулез имел значительное распространение, а в ряде хозяйств на протяжении десятка лет регистрировался стационарно. На таких предприятиях более эффективным оказалась полная замена маточного поголовья здоровым молодняком.

В результате такого «кропотливого» труда ветеринарной службы республики к 2000 году оздоровлены последние 18 неблагополучных по туберкулезу пунктов, новых очагов инфекции в этот год выявлено не было.

В период с 2000 по 2016 годы борьба с туберкулезом крупного рогатого скота в республике шла с переменным успехом. За 16 лет наблюдения в Республике Татарстан было выявлено 45 неблагополучных пунктов. Из 43 районов республики туберкулез регистрировался в 16. Причем, заболевание уже не регистрировалось в некоторых районах, которые имели статус «длительного неблагополучия» (Бавлинский, Верхнеуслонский, Камско-Устьинский и др.). Максимальное количество неблагополучных пунктов было зарегистрировано в 2001 и 2013 годы, в которые выявлено 11 и 12 пунктов, соответственно. По количеству первичных неблагополучных пунктов, лидером оказался Черемшанский район, в котором за 16 лет таковых было выявлено 9 очагов инфекции, причем 8 из них, было зарегистрировано в 2013 году. Эпизоотическая

кривая за этот период наблюдения имеет широкую амплитуду. Линия многолетнего тренда, т.е. общая однонаправленная тенденция изменения эпизоотического процесса (неблагополучия) при туберкулезе КРС в республике, имеет тенденцию к нарастанию.

Это может быть обусловлено целым рядом факторов: неудовлетворительным осуществлением общих противоэпизоотических мероприятий (очистка помещений и территории ферм от навоза, антисанитарное содержание животных); неудовлетворительным проведением специальных противоэпизоотических мероприятий (несвоевременные диагностические исследования, передержка больного скота в неблагополучных стадах, несоблюдение режима обеззараживания молока и обраты на молокоперерабатывающих предприятиях и на фермах); неконтролируемым завозом племенного молодняка из неблагополучных по данному заболеванию регионов; запоздалой диагностикой туберкулеза и несвоевременным, неполным и некомплексным проведением противотуберкулезных мероприятий, а также преждевременным снятием ограничений по туберкулезу до достижения полного оздоровления хозяйств; низкой резистентностью организма животных, в результате несоблюдения технологии содержания и кормления; отсутствием специфической защиты молодняка крупного рогатого скота в молочный период онтогенеза в оздоравливаемых от туберкулеза хозяйствах.

В результате изучения динамики количества неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов в РТ за период с 2000 по 2016 годы, с целью определения нозоареала болезни, нами составлена эпизоотическая карта. В результате анализа этой картограммы нами установлено, что неблагополучные по туберкулезу пункты территориально приурочены к определенной местности: т.е. расположились в основном на юге, и разрозненно (небольшими группами – «очагами») в центральной части республики.

Так, в районах Предволжья и Предкамья (Арский, Атнинский, Балтасинский, Высокогорский, Зеленодольский, Кукморский, Сабинский, Тюлячинский и др.) заболевание скота протекает в виде энзоотии или проявляется спорадически, в

таких хозяйствах после удаления выявленных больных животных, достигается полное оздоровление стад и редко когда наблюдаются рецидивы болезни.

Более тяжелое течение туберкулезной инфекции по широте охвата поголовья и количеству неблагополучных пунктов наблюдается в Заволжье и Закамье. Это Алькеевский, Алексеевский, Дрожжановский, Лениногорский, Черемшанский, Чистопольский и другие районы. В указанных зонах регистрируется выраженная мозаичность поражения отдельных районов и животноводческих ферм. Проведение оздоровительных мер в ряде хозяйств этой зоны связано с большими усилиями и значительными затратами. Именно здесь ранее имелись стационарные неблагополучные пункты и, как правило, в оздоровленных от туберкулеза хозяйствах через 3-5 лет вновь регистрировались рецидивы болезни.

Многолетнее наблюдение за распространением туберкулеза крупного рогатого скота в Республике Татарстан, обследование эпизоотических очагов и проведение производственных опытов позволило прийти к выводу о неадекватности проводимых противотуберкулезных мероприятий. Несмотря на большие усилия, предпринимаемые для профилактики и ликвидации туберкулеза животных, на протяжении многих лет эта инфекция в республике остается непобежденной.

Для успешной борьбы с заболеванием противотуберкулезные мероприятия должны носить активный, наступательный характер. Необходимо энергично и комплексно проводить мероприятия по выявлению и удалению из стада больных животных - источников возбудителя, с последующей тщательной многократной деконтаминацией внешней среды. Кроме того, необходимо организовать изолированное выращивание молодняка и надежную защиту его от заражения туберкулезом в молочном периоде онтогенеза.

Одним из методов, повышающих эффективность комплекса оздоровительных мероприятий при туберкулезе крупного рогатого скота, является химиопрофилактика антимиикобактериальными препаратами. К настоящему времени в литературе накоплен обширный материал о высокой

профилактической эффективности применения с этой целью производных изоникотиновой кислоты (Ротов В.И. и соавт., 1964; А.Б. Ли, 1980; Хайкин Б.Я. и соавт., 1983; Г.К. Щелканов, А.И. Аверихин, 1986; Ю.И. Смолянинов, Н.Н. Кошечев, 2001; Донченко Н.А., 2008).

Однако не все ученые признают химиопрофилактику в системе противозoonотических мероприятий при туберкулезе животных. Основное альтернативное мнение этих оппонентов – появление микобактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к основным, имеющимся в медицине, противотуберкулезным препаратам (Медников Б.Л., 2005).

Мы считаем, что применение химиопрофилактических средств в животноводстве, в отличие от медицинской практики, не преследует цель излечения больных туберкулезом, когда противотуберкулезные препараты принимаются годами, а направлено на недопущение заражения и развития инфекционного процесса в организме новорожденных животных в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах и, как следствие, быстрому и полному оздоровлению всего поголовья.

Заменять поголовье неблагополучного маточного стада целесообразно за счет здоровых не инфицированных нетелей. Вырастить таких нетелей в условиях длительно неблагополучных хозяйств удастся не всегда, в связи с широким распространением инфекции, длительным сохранением микобактериями вирулентности во внешней среде, отсутствием ферм изолированного выращивания молодняка, использование для выпойки телятам необезвреженного молока и молочных продуктов, полученных от больных коров. По этим и некоторым другим причинам подавляющее большинство телят в длительно неблагополучных хозяйствах заболевают туберкулезом в первые месяцы жизни. Телята, инфицированные микобактериями в молочном периоде, выявляются в основном только по достижению ими случного возраста, что способствует возникновению повторных вспышек туберкулеза. Поэтому профилактика этой инфекции у телят в молочном периоде является основой эффективного и активного предупреждения туберкулеза среди крупного рогатого скота.

В связи с этим, учитывая сложность эпизоотической ситуации по данному заболеванию в республике и отсутствию в ближайшее время перспективы оздоровления неблагополучных пунктов, нами были начаты всесторонние исследования по изучению возможности химиопрофилактики туберкулеза молодняка с помощью новых, разработанных нами препаратов.

На сегодняшний день существует широкий арсенал противотуберкулезных средств для профилактики и лечения туберкулеза человека и животных, однако, не все они отвечают современным требованиям из-за высокой токсичности, длительного курса применения и высокой цены (Перельман М.И., 2007; Мишин В.Ю., 2007; Меньшикова Л.А., 2016). В этих условиях становится очевидной необходимость поиска и создания более эффективных и безопасных инновационных противотуберкулезных препаратов, способных предотвратить развитие множественной лекарственной устойчивости у микобактерий, снизить частоту побочных действий, тем самым повысить эффективность химиопрофилактики и этиотропной терапии

В связи с вышеизложенным, в Институте органической и физической химии имени А.Е. Арбузова - обособленном структурном подразделении ФИЦ КазНЦ РАН синтезированы соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен) и 3 группы новых химических соединений: изоцианураты, триазины и  $\alpha, \omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканы, которые могли быть использованы в качестве средств для профилактики туберкулеза у животных.

Из широкого многообразия препаратов (82 химических соединения) нами были подобраны наиболее эффективные средства из каждой представленной группы, и этот выбор, в первую очередь, основывался на проявлении туберкулостатической активности испытуемых соединений.

При исследовании Тубофена установлено, что туберкулостатическая активность препарата высока и не уступает таковой изониазида. В концентрации 0,075 мкг/мл среды Тубофен оказывал полное бактериостатическое действие на штамм 14 *Mycobacterium bovis* и штамм H37Rv *Mycobacterium tuberculosis*. В

свою очередь, изониазид оказывал полное бактериостатическое действие на вышеуказанные штаммы, только при концентрации 0,15 мкг/мл среды. Причем штамм H37Rv *Mycobacterium tuberculosis* оказался более устойчив к изониазиду, чем штамм 14 *Mycobacterium bovis* и в концентрации 0,037 мкг/мл среды рост микобактерий не отличался от их роста в контрольных пробирках, не содержащих туберкулостатика. Атипичные микобактерии вида *Mycobacterium fortuitum*, оказались не чувствительны к испытуемым препаратам даже в концентрациях 10 мкг/мл среды.

При исследовании бактерицидной активности Тубофена установлено, что частичное бактерицидное действие препарата впервые начало проявляться через 6 часов контакта Тубофена со штаммом 14 *Mycobacterium bovis* в концентрациях 50, 25 и 12,5 мкг/мл среды. Полная гибель микобактерий наступила через 5 суток – при концентрации препарата 6,2 мкг/мл среды и через 8 суток – при концентрации 0,75 мкг/мл среды.

При изучении туберкулостатической активности изоциануратов, выяснилось, что только 16 из 45 исследованных химических соединений обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv, а некоторые из них, например 1-[5-(карбазилометилсульфинил)-пентил]-3,5-диметилизоцианурат (впоследствии названный авторами Линарол) проявляют свою антимикобактериальную активность на уровне туберкулостатика первого ряда – изониазида (МИК - 0,1 мкг/мл среды).

Все 3 испытуемых химических соединения, относящиеся к группе триазины, также проявили достаточно выраженную туберкулостатическую активность. Однако, соединение №1, которое представляет собой 2,4-диамино-6-(карбазилометилсульфинилметил)-1,3,5-триазин (впоследствии названный авторами - Аликон) оказалось гораздо эффективней своих аналогов и полностью подавляло рост микобактерий туберкулеза в течение 4 суток. Изониазид в аналогичной концентрации (0,1 мкг/мл среды) сдерживал рост культуры возбудителя туберкулеза лишь в течение 3 суток.

Высокую бактериостатическую активность в отношении микобактерий туберкулеза проявила и группа химических соединений (34 препарата) относящихся к  $\alpha$ ,  $\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил) алканам. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) их находилась в пределах от 12,5 до 0,6 мкг/мл среды. Однако, самую высокую туберкулостатическую активность в отношении штамма H37Rv проявило соединение 1.3, которое представляет собой 1,4-бис(амидометилсульфинил)бутан (именуемый авторами Линарол Ф-1), минимальная ингибирующая концентрация которого составила 0,3 мкг/мл. В контрольных пробирках, содержащих изониазид, во всех исследуемых концентрациях отмечалось наличие зон задержки роста микобактерий туберкулеза, поэтому МИК данного препарата составила 0,1 мкг/мл среды, что не противоречит данным ряда исследователей (Смирнов Г.А., 1969; Машковский М.Д., 1984; Перельман М.И., Корякин В.А., 1996; Yoshikawa T.T. et al., 1982; Grosset J., 1985).

Эффективность любого противотуберкулезного препарата оценивают не только по наличию бактерицидной и бактериостатической активности, но и по способности предотвращать развитие лекарственной устойчивости (Бочарова И.В., 2014; Zhang Y., Yew W., 2011). Поэтому целью наших следующих исследований было выяснение влияния синтезированных соединений - лидеров на лекарственную чувствительность различных штаммов микобактерий. Чувствительность микобактерий к исследуемым препаратам проводили в сравнительном аспекте по отношению с уже известными и используемыми в медицинской практике противотуберкулезными препаратами. Концентрации изониазида, рифампицина, офлоксацина, стрептомицина, этамбутола, этионамида и их различные сочетания вели себя согласно литературным данным (Мишин, В.Ю., 2003; Zignol M., Hosseini M.S. et al., 2006) - штамм H37Rv и *M. bovis* 14 был чувствителен ко всем концентрациям этих препаратов при положительном контроле.

Штамм микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью проявил свою резистентность ко всем вышеназванным препаратам,

кроме Аликона, Линарола и Линарола Ф-1 в концентрациях 10 мкг/мл среды, а также изониазида в сочетании с рифампицином (изониазид в концентрации 10 мкг/мл и рифампицин в концентрации 40 мкг/мл среды). Штаммы *M. avium* и *M. terrae*, оказались не чувствительными ко всем исследуемым препаратам, в том числе и к синтезированным нами соединениям в концентрациях 10 мкг/мл среды. Тубофен в концентрации 10 мг/мл среды проявил свое бактериостатическое действие лишь в отношении референтных штаммов, культура клинического штамма с множественной лекарственной устойчивостью оказалась резистентной к данному препарату в исследованной дозе.

Таким образом, проведенное исследование показало, что новые туберкулостатики Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 обладают выраженным бактериостатическим действием на референтные, в том числе и лекарственно – устойчивый, штаммы микобактерий.

По данным ряда исследователей (Смирнов Г.А., 1969; Визель А.А., 1998) большинство микроорганизмов, кроме микобактерий туберкулеза, обладает абсолютной устойчивостью к туберкулостатику первого ряда - изониазиду (МИК 600 мкг/мл). Поэтому определенный интерес вызывало выявление у синтезированных соединений возможных антибактериальных и фунгистатических свойств, которые определялись в отношении 3-х бактериальных штаммов (*Staphylococcus aureus* 209p, *Escherichia coli* F-50, *Bacillus cereus* 8035) и 3-х штаммов грибов (*Candida albicans* 855-653, *Trichophyton mentagrophytes* - 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119).

В результате проведенных исследований установили, что ни одно из четырех испытуемых соединений ни в одной из исследуемых концентраций (5, 2,5, 1,25 и 0,6 мг/мл среды) не проявило выраженного антибактериального и фунгистатического действия в отношении тестируемых культур и рост их в опытных пробирках не отличался от таковых в контрольных. На основании проведенного исследования нами доказано, что синтезируемые препараты: Тубофен, Аликон, Линарол и Линарол Ф-1 - обладают избирательным антибактериальным действием, лишь в отношении микобактерий туберкулеза.

Учитывая, что действующее начало Тубофена – изониазид, который как препарат относится категории высокотоксичных веществ, а также то что не были изучены пороги токсичности испытуемых химических соединений – лидеров, нами проведено изучение ряда фармако-токсикологических свойств этих препаратов.

Результаты оценки острой токсичности Тубофена на белых мышах показали, что летальная доза ( $LD_{50}$ ) препарата составляет  $668 \pm 63$  мг/кг; доверительный интервал генеральной (ДИГ) средней  $LD_{50}$  равен 668 ( $538 \div 798$ ) мг/кг;  $LD_{100}$  - 1000 мг/кг. В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968) Тубофен согласно ГОСТ 12.1.007.76, является веществом обладающим средней токсичностью (по степени опасности III класс, опасные химические вещества).

Результаты оценки острой токсичности Тубофена на белых крысах показали, что летальная доза ( $LD_{50}$ ) препарата составила  $5675 \pm 245$  мг/кг; доверительный интервал генеральной средней  $LD_{50}$  - 5675 ( $5195 \div 6155$ ) мг/кг;  $LD_{100}$  - 7000 мг/кг. В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968) Тубофен согласно ГОСТ 12.1.007.76, является малотоксичным соединением (по степени опасности IV класс, незначительно опасные химические вещества).

В свою очередь, по данным Булавина С.П. (1982, 1983) изониазид является высокотоксичным соединением для мышей ( $LD_{50}$  равна  $178,0 \pm 6,79$  мг/кг), кроликов ( $LD_{50}$  равна  $203,0 \pm 30,0$  мг/кг) и телят ( $LD_{50}$  равна  $215,0 \pm 17,3$  мг/кг).

Установив параметры токсичности Тубофена на белых мышах и крысах при внутрижелудочном введении, приступили к изучению субхронической токсичности и кумулятивных свойств препарата. При этом оценивали влияние длительного введения препарата на общее состояние животных, массы их тела в динамике, гематологические (уровень гемоглобина, число эритроцитов и лейкоцитов) и биохимические (содержание общего белка и глюкозы) показатели.

Согласно проведенным исследованиям коэффициент кумуляции Тубофена составил 4,72, что по принятой в настоящее время классификации (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968) соответствует веществам, обладающим умеренной кумуляцией.

При внутрижелудочном длительном применении исследуемого средства установлено, что прирост массы тела крыс опытной группы, которым Тубофен задавали в дозе 1/20 от ранее установленной однократной дозы ЛД<sub>50</sub> и затем, через каждые 4 дня прежнюю дозу препарата увеличивали в 1,5 раза, происходил только до 15 суток и процент изменения составил 1,5. С 15 по 25 сутки отмечалось снижение массы крыс опытной группы на 6,16% с момента введения препарата, в то время как в контрольной группе животных происходило увеличение живой массы на 7,11%.

При исследовании гематологических и некоторых биохимических показателей крови белых крыс по окончании опыта (25 сутки) отмечали достоверное ( $p < 0,01$ ) уменьшение количества эритроцитов на 3%, лейкоцитов на 7,8%, гемоглобина на 8,7%. Показатели общего белка и глюкозы были также незначительно снижены и составляли соответственно  $60,08 \pm 2,02$  г/л и  $50,84 \pm 1,8$  ммоль/л.

Одним из требований, предъявляемым к потенциальным лекарственным средствам, является оценка его аллергенных свойств. Исследование аллергенных свойств Тубофена проводили с помощью реакции специфического лизиса лейкоцитов крови, в результате чего установили, что препарат при внутрикожной сенсибилизации морских свинок не обладает аллергенными свойствами.

Анализ результатов эмбриотоксического и тератогенного действия Тубофена показал, что беременные крысы хорошо переносили введение исследуемого препарата. При введении химического соединения с 1 по 20 сутки беременности существенной разницы между показателями эмбриотоксической и тератогенной активности не отмечалось. Препарат не влиял на репродуктивные качества крыс. Показатели пред- и постимплантационной гибели у опытных и контрольных животных практически не отличались. При этом количество желтых

тел и мест имплантации в группах, примерно было равным и не отличалось более чем на 5,8%. Полученные данные свидетельствуют о том, что Тубофен не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

При изучении острой токсичности Аликона расчет среднесмертельной дозы ( $LD_{50}$ ),  $LD_{16}$  и  $LD_{84}$  не представлялся возможным в виду его плохой растворимости в воде. Согласно «Методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» как максимально возможная для введения, была принята доза 2000 мг/кг массы тела. Таким образом, исследуемое химическое соединение, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относится к IV классу (незначительно опасные химические вещества).

Однако дальнейшие токсикологические и бактериологические исследования химических соединений данной группы противотуберкулезных препаратов были прекращены, по 3-м основным причинам:

4. Трудности синтеза химических соединений, производных триазина, в больших количествах;
5. Плохая растворимость синтезированных соединений в воде, что ухудшает биодоступность;
6. Относительная дороговизна реактивов.

При изучении фармако-токсикологических свойств Линарола, определить параметры острой токсичности препарата нам также не удалось, в связи с неполной растворимостью высокой концентрации данного химического соединения в дистиллированной воде, в объеме, вводимом в желудок подопытным белым мышам и крысам. Поэтому, согласно «Методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» была использована доза - 4000 мг/кг массы тела, как максимально возможная для введения. Таким образом, исследуемый препарат Линарол, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относятся к IV классу (малоопасные вещества).

В серии экспериментов на белых крысах и кроликах нами установлено, что Линарол обладает слабовыраженными кумулятивными свойствами и не обладает местно-раздражающим действием на кожу и конъюнктиву глаза.

Одним из важных факторов снижения эффективности использования противотуберкулезных препаратов является также и развитие побочных реакций. В отечественной и зарубежной литературе достаточно много сообщений о способности изониазида, пиразинамида, циклосерина, ПАСК и других туберкулостатиков вызывать серьезные поражения печени (Мясников В.Г., 1982; Скакун Н.П., Шманько В.В., 1985; Николаев В.П. и др., 1986; Серов В.В., Лапиш К., 1989; Еврохин В.В. и др., 1991; Саджая Л.А., 1999; Вохминцева Л.В., 2009; Удут В.В. с соавт., 2012; Яценков А.И., 2013; Jollons D., Mitchel I., Potter W., 1973; Black M., Mitchell I., Zimmerman H., 1975; Biour M. et al., 1984; Bloss E., Kukša L., 2011). Известно, что все процессы, протекаемые в печени и лежащие в основе её функции, являются ферментозависимыми (Саратиков А.С., Скакун Н.П., 1977; Есипенко Б.Е., Жалило Л.И., Костромина А.П. и др., 1983). Поэтому блокада таких ферментов противотуберкулезными препаратами приводит к угнетению секреторной, антитоксической и обменной функций. В связи с вышеизложенным, мы изучили влияние Линарола на антитоксическую функцию печени, используя методику Розина Д.Г. (1964), в основе которой лежит способность различных препаратов влиять на продолжительность сна животных, вызванного гексеналом, инактивируемым печенью. Инъекция гексинала после внутрижелудочного введения Линарола, в дозе 400 мг/кг массы, через 1, 2, 5 и 24 часа не приводила к достоверному увеличению продолжительности сна подопытных крыс, при сравнении с контрольными животными. На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что исследуемый препарат не влияет на антитоксическую функцию печени.

По данным ряда исследователей (Симонян Л.К., 1968; Рабухин А.Е., 1970; Шмелёв Н.А. с соавторами, 1974; Яценков А.И., 2013), длительное воздействие на организм ряда химических противотуберкулезных препаратов, может приводить к отдаленным негативным последствиям. Поэтому нами были проведены опыты по изучению длительного влияния Линарола на гематологические и биохимические показатели крови белых крыс, в дозе, которая в 20 раз превышала предполагаемую химиопрофилактическую. Проведенные нами исследования

позволяют утверждать, что ежедневное пероральное введение Линарола белым крысам в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела), в течение 30 суток, существенно не повлияло на гематологические и биохимические показатели крови животных, даже в такой высокой дозе и продолжительном его применении.

При изучении фармако-токсикологических свойств Линарола Ф-1 нами установлено, что параметры острой токсичности препарата для белых мышей (ЛД<sub>50</sub>) составляют 800 мг/кг, ЛД<sub>100</sub> - 1100 мг/кг массы тела. В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Линарол Ф-1, является веществом, обладающим средней токсичностью (по степени опасности III класс - опасные химические вещества, ГОСТ 12.1.007.76). Однако, при изучении параметров острой токсичности на белых крысах максимально переносимую и среднесмертельную дозы (ЛД<sub>50</sub>) установить не удалось, так как химическое соединение в дозах более 4000 мг/кг массы тела, не растворялось в растворителе (дистиллированной воде) и соответственно вводить препарат в таких дозах внутрижелудочно не представлялось возможным. В соответствии с «Гигиенической классификацией пестицидов по основным параметрам вредности» (Медведь Л.И., Каган Ю.С., Спыну Е.И., 1968), Линарол Ф-1, является малотоксичным соединением для белых крыс (по степени опасности IV класс - незначительно опасные химические вещества, ГОСТ 12.1.007.76).

Исходя из того, что предлагаемый нами метод химиопрофилактики туберкулеза у телят основан на пероральном групповом введении исследуемых противотуберкулезных препаратов в течение молочного периода (60 суток), нами проведено изучение хронической токсичности Линарола Ф-1 на белых крысах. Проведенные экспериментальные исследования Линарола Ф-1 показали, что ежедневное внутрижелудочное введение препарата в дозах 10, 100 и 200 мг/кг массы тела в течение 60 суток ни в одном случае не привело к гибели белых крыс. Однако вес животных в опытной группе, получавшей препарат в дозе 200 мг/кг массы, к окончанию эксперимента снижался на 7%, тогда как в контрольной группе этот показатель увеличивался на 7%. Исходя из вышеизложенного, можно

сделать вывод, что препарат не обладает выраженной хронической токсичностью в дозах 10 и 100 мг/кг массы тела при ежедневном введении в течение 60 суток.

Кроме того, назначение препарата в дозах 10 и 100 мг/кг массы тела, в течение 60 суток не повлияло на биохимические показатели сыворотки крови опытных животных и практически не отличалось от таковых у контрольной группы. В то же время, применение препарата в дозе 200 мг/кг массы тела, в течение 60 суток привело к достоверному увеличению количества АЛТ, общего белка и  $\beta$ -глобулинов, что свидетельствует о наличии ряда отклонений, связанных с нарушением работы печени и, как следствие, нарушением обмена веществ в организме.

Дальнейшие опыты показали, что препарат Линарол Ф-1, при внутрижелудочном введении белым крысам в течение всей беременности в дозе 400 мг/кг массы тела не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием. В серии экспериментов на кроликах нами установлено, что Линарол Ф-1 не обладает местно-раздражающим действием на кожу и конъюнктиву глаза.

Одним из основных требований, предъявляемых к изучению химических препаратов, является его концентрация в крови, а также скорость выведения из организма. В результате чего, нами была изучена фармакокинетика Линарола Ф-1 и установлено, что уровни концентраций субстанции в плазме крови белых крыс при однократном внутривенном применении его в дозе 20 мг/кг массы тела, быстро возрастают к 15 минуте после введения до 22 мкг/мл, затем плавно уменьшаются до 6 мкг/мл к концу 4-х суток. В ткани легких концентрация препарата нарастает так же быстро, как и в крови, выходя на максимальное плато (18 мкг/г ткани) на 10-15 минуте после введения вещества, к концу 4-х суток уровень химического соединения снижается до 5 мкг/г ткани.

Таким образом, по данным предварительных фармакокинетических исследований Линарол Ф-1 можно отнести к долгоживущим химическим веществам с хорошей способностью проникновения в легочную ткань, что имеет важное фармакологическое значение при профилактике и терапии легочных форм туберкулеза.

Все вышеизложенное, в частности высокая туберкулостатическая активность, низкая токсичность и безопасность изучаемых химических соединений при длительном применении позволили провести дальнейшие исследования их химиопрофилактической эффективности в опытах на лабораторных животных.

Для изучения антимикобактериальной активности и определения профилактической дозы Тубофена *in vivo*, воспроизводили экспериментальную модель туберкулеза морских свинок. Профилактическое действие препарата в дозах 20, 10, 5, 2,5 и 1 мг/кг массы оценивали в сравнении с наиболее эффективным туберкулостатиком первого ряда – изониазидом, который задавали перорально в профилактической дозе 10 мг/кг массы в течение 60 суток (срок молочного периода у телят).

В результате аллергических исследований морских свинок установили, что животные, получавшие ежедневно перорально Тубофен в дозах 20, 10 и 5 мг/кг массы и изониазид в дозе 10 мг/кг массы через 30 суток и по окончании опыта (60 суток) на введение туберкулина не реагировали. У лабораторных животных, получавших Тубофен в дозах 2,5 и 1 мг/кг массы, а также морских свинок контрольной группы, через 30 и 60 суток после заражения наблюдалась резко выраженная аллергическая реакция в местах введения туберкулина.

Кроме того, у морских свинок, ежедневно получавших препарат в дозах 5, 10 и 20 мг/кг массы, а также у животных, получавших ежедневно изониазид в дозе 10 мг/кг массы, каких-либо отклонений гематологических показателей от физиологической нормы, в течение всего эксперимента не наблюдалось.

Всех морских свинок опытных и контрольных групп, прошедших курс химиопрофилактики (60 суток), подвергали убою и полученный патологический материал подвергали бактериоскопическим, бактериологическим, патологоанатомическим и гистологическим исследованиям. На основании этих исследований установили средний индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза. У животных, получавших Тубофен в дозах 5, 10 и 20 мг/кг массы, а также у интактной группы, этот индекс равнялся 0/0. При

исследовании патологического материала от морских свинок, получавших Тубофен в дозе 2,5 мг/кг массы, средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий составил 6,45/6,65, а у животных, получавших Тубофен в дозе 1 мг/кг массы, этот показатель оказался выше (17,06/12,46) и практически достигал таковой у контрольной группы (20,2/12,8).

При исследовании патологического материала от морских свинок, получавших изониазид в дозе 10 мг/кг массы, этот индекс составил 0,37/0, так как при незначительном увеличении регионарных лимфатических узлов у некоторых животных данной группы выделить исходную культуру возбудителя туберкулеза не удалось.

Результаты нашего эксперимента подтверждаются исследованиями, проведенными Хайкиным Б.Я. (1972), который определял профилактические свойства изониазида при экспериментальном туберкулезе морских свинок. Автор утверждает, что изониазид, задаваемый ежедневно с питьевой водой в дозе 10 мг/кг массы один раз в сутки в течение 75 дней, предупреждал развитие туберкулезных процессов и способствовал инактивации введенных в организм микобактерий.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют, что синтезированный противотуберкулезный препарат – Тубофен проявил достаточно высокий профилактический эффект и обладает выраженными туберкулостатическими свойствами в дозах 5, 10 и 20 мг/кг массы животного.

Эффективность любого противотуберкулезного препарата оценивают не только по наличию бактерицидной активности, но и способности предотвращать развитие лекарственной устойчивости. Поэтому целью наших исследований было также выяснение влияния метода химиопрофилактики на лекарственную чувствительность микобактерий.

В результате проведенных исследований установлено, что микобактерии туберкулеза, выделенные от морских свинок, подвергнутых ежедневной профилактике Тубофеном в дозе 1 и 2,5 мг/кг массы в течение 2-х месяцев, не потеряли чувствительность к данным препаратам, независимо от применявшейся

дозы. В нашем опыте курс двухмесячной химиопрофилактики был оптимальным, так как лекарственная устойчивость не успела развиваться. Вполне возможно, что при увеличении профилактического курса чувствительность микобактерий к препаратам понизится.

Аналогичные исследования, по определению лекарственной устойчивости микобактерий выделенных от морских свинок и телят профилактируемых альдозоном и изониазидом, провел Мироненко Е.Е. (1990). Исследования данного автора также свидетельствуют, что чувствительность выделенных микобактерий к данным препаратам, которые вводились перорально в течение 2-х месяцев в дозах 12,5, 25 и 50 мг/кг массы с интервалом 1 и 3 дня, не менялась (независимо от применявшейся дозы препаратов).

Известно, что в связи с выраженной токсичностью, изониазид способен вызывать изменения структурно-функционального состояния органов и систем (Казанбиев Н.К. и др., 1989; Бальцева Л.Б. и др., 1990; Шилова М.В., 2005; Мишина А.В., Чернова И.П. и др., 2012). Целый ряд авторов (Смирнов Г.А., 1977; Визель А.А., 1998; Саджая Л.А., 1999; Борисова М.И. и др., 2003; Перельман М.И., 2004; Яценков А.И., 2013; Pessaure D., Benhamou J., 1979) указывают на токсичность изониазида в первую очередь на нервную систему и печень.

Исходя из этого, нами проведено патоморфологическое изучение профилактической активности Тубофена и возможность его патогенного влияния на органы и системы организма. Для этого использовали морских свинок находящихся в эксперименте по изучению профилактической активности препарата.

У больных туберкулезом морских свинок контрольной группы в органах и тканях отмечали патологические изменения, характерные для прогрессирующего первичного туберкулеза с генерализацией процесса. В печени, селезенки, легких и других органах неравномерно располагались мелкие и средних размеров некрозы и гранулемы со слабо выраженной специфической зоной демаркации, что отражало активное течение инфекционного процесса в организме животных. При обострении инфекционного процесса гранулемы и некрозы резко увеличивались и

целиком охватывали лимфатические узелки селезенки и значительные участки печени.

В печени зараженных *M. bovis* морских свинок, по окончании двухмесячного курса применения изониазида в дозе 10 мг/кг массы тела, патоморфологических изменений характерных для туберкулеза не обнаруживали. Длительное применение изониазида привело к развитию у подопытных животных гепатоциллюлярной патологии, осложненной деструктивными васкулитами и застойными явлениями в желчных путях. Токсическое, кумулятивное действие препарата вызывало в печени геалиново-капельную и вакуольную дистрофии гепатоцитов, возникновение очагов микронекрозов, разрежение клеток РЭС. Выраженное вазопатогенное действие изониазида проявлялось мукоидным, фибриноидным набуханиями вплоть до фибриноидного некроза стенок сосудов органа. Остаточные явления предшествующего инфекционного процесса, вызванного микобактериями туберкулеза, проявлялись сохранением небольших очагов инфильтрации лимфоидных клеток и макрофагов, преимущественно вблизи кровеносных сосудов и желчных протоков. Лимфопролиферативные процессы в селезенке были резко подавленными. Малочисленные, небольших размеров лимфатические узелки отличались разреженностью клеток лимфоидного ряда и оголением их ретикулярной основы.

Результаты наших исследований подтверждаются данными многих авторов (Содиков Э.С., Гапонько Л.А., 1968; Бистрицкайте-Рудайтене А.П., 1971; Гуркин А.В., Азарян Л.Т. и др., 1986; Богадельникова И.В., Перельман М.И., 1997; Viour M. и др., 1984), которые после применения изониазида в различных дозах отмечали возникновение множественных мелкоочаговых некрозов, а также пролиферативные и дистрофические изменения паренхимы печени.

У зараженных морских свинок после применения Тубофена в дозах 2,5 и особенно 1 мг/кг массы в исследованных органах отмечали малочисленные мелкие гранулемы.

Введение Тубофена зараженным морским свинкам в дозе 5 мг/кг массы подавляло проявление признаков инфекционного процесса. Несмотря на

обнаружение дистрофических процессов и гемодинамических нарушений в системе микроциркуляции сосудов печени и селезенки, выявить специфические реакции свойственные туберкулезному процессу не удалось.

По результатам наших исследований установлено, что наиболее эффективной химиопрофилактической дозой Тубофена, как туберкулостатического препарата при экспериментальном туберкулезе у морских свинок, является доза 10 мг/кг массы. Продолжительное применение препарата в указанной дозе эффективно предотвращает развитие инфекционного процесса. В печени по истечении двухмесячного курса химиопрофилактики полностью сохранилась структура балочного строения органа, в том числе популяционный состав эпителиальных клеток был без признаков нарушения обмена веществ. Увеличивалось количество клеток ретикулоэндотелия. Тубофен в дозе 10 мг/кг массы тела оказывает выраженный бактерицидный эффект по отношению к микобактериям туберкулеза бычьего вида и не вызывает повреждения паренхиматозных и мезенхимальных структур, не обладает вазопатогенным и иммунодепрессивным действиями.

Профилактическая обработка зараженных морских свинок Тубофеном в дозе 20 мг/кг массы эффективно подавляло развитие патологических изменений, вызываемых микобактериями туберкулеза. Действие препарата в этой дозе вызывало в исследованных органах только умеренное проявление дистрофических процессов обратимого характера, без вазопатогенных осложнений.

Для изучения химиопрофилактической активности и определения профилактической дозы Линарола *in vivo*, экспериментальную модель туберкулеза морских свинок воспроизводили по аналогии с опытами по изучению Тубофена. На основании патологоанатомических и бактериологических исследований установили, что у животных, получавших Линарол в дозах 5 и 10 мг/кг массы, средний общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза равнялся 0/0. При исследовании патологического материала от животных, получавших препарат в дозе 2,5 мг/кг массы, средний

общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий составил 1,66/1,5, у морских свинок получавших препарат в дозе 1 мг/кг массы, этот показатель оказался выше и составил - 9,32/6,15. У контрольной группы животных (зараженные, без курса химиопрофилактики) общий индекс поражения органов и высеваемости микобактерий туберкулеза составил 14,25/12,5 соответственно.

Проведенные исследования свидетельствуют, что Линарол проявил достаточно высокий профилактический эффект и обладает выраженными туберкулостатическими свойствами в дозах 10 мг/кг массы животного.

При патоморфологическом изучении профилактической активности Линарола на органы и ткани зараженных микобактериями туберкулеза морских свинок установлено, что у животных, получавших с профилактической целью препарат в дозе 1 мг/кг массы, изменения в органах и тканях были схожи с таковыми у контрольной группы (зараженные, без курса химиопрофилактики), но менее выражены по интенсивности. Линарол в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг массы, оказывал профилактическое действие, сдерживающее развитие туберкулезного процесса в органах и тканях зараженных морских свинок. Причем это действие проявляется уже с дозы 2,5 мг/кг массы тела. Практически во всех группах исследованных морских свинок, за исключением животных, получавших Линарол в дозе 10 мг/кг массы, в органах выявлялись признаки туберкулезного процесса различной степени интенсивности. Наиболее выраженным профилактическим действием обладает доза 10 мг/кг массы, при которой в органах и тканях зараженных животных туберкулезный процесс не был обнаружен.

С целью подтверждения туберкулостатических свойств Линарола *in vivo*, провели изучение терапевтической противотуберкулезной активности препарата на модели острого экссудативно-некротического туберкулеза мышей. На основании полученных данных можно заключить, что препарат Линарол обладает противотуберкулезной активностью. Однако в тканях легких экспериментальных животных данная активность была в 100 раз ниже, чем у препарата изониазид при аналогичной дозе и сроках введения. В тканях же селезенки противотуберкулезная активность Линарола и туберкулостатика 1-го ряда

изониазида была практически одинаковой. Учитывая низкую токсичность Линарола (максимально вводимая доза белым мышам – 4000 мг/кг массы тела, для сравнения LD<sub>50</sub> изониазида – 213 мг/кг массы тела), мы не исключаем вероятность усиления противотуберкулезной активности препарата при использовании его в более высоких дозах.

Противотуберкулезная активность Линарола Ф-1 *in vivo* была изучена в опытах по терапии экспериментального туберкулеза у морских свинок. В результате проведенных исследований было установлено, что Линарол Ф-1 оказывает эффективное терапевтическое действие в дозе 10 мг/кг массы тела, так как средний общий индекс поражения внутренних органов и высеваемости микобактерий оказался идентичен индексу, полученному при лечении животных туберкулоостатиком первого ряда - изониазидом (0,3/0).

На вскрытии у животных, подвергнутых терапии Линаролом Ф-1 в дозе 5 мг/кг массы тела, макроскопически были выявлены единичные туберкулезные изменения в регионарных лимфатических узлах, печени и селезенке. Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на одну морскую свинку составил 1,6/1,2.

У животных контрольной группы (зараженные) в течение двух месяцев от генерализованного туберкулеза погибло 5 морских свинок. Средний общий индекс поражения и высеваемости микобактерий на одну морскую свинку составил 9,7/6,7.

Важным показателем эффективности лечения является разница в весе животных на начало и окончание опыта. Масса тела у морских свинок, получавших Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг, к окончанию эксперимента (60 суток) увеличилась в среднем на 24% и практически оказалась равной привесу в группе интактных животных (27%). У морских свинок, получавших Линарол Ф-1 в дозе 5 мг/кг, масса тела увеличилась на 21%, а у морских свинок, получавших изониазид - на 22%.

Многие исследователи (Гольбер Л.М., 1958; Фирсова Л.П., 1971; Ахундов Р.А., 1974) указывают, что во время лечения туберкулеза изониазидом изменяется

белковый состав сыворотки крови, причем содержание альбуминов существенно не меняется, а количество гамма-глобулинов в начале лечения сильно понижается. Однако мы в своих исследованиях установили, что введение Линарола Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы в течение 2-х месяцев, как терапевтического средства при экспериментальном туберкулезе морских свинок, существенно не повлияло на их гематологические и биохимические показатели.

Результаты проведенных нами экспериментальных лабораторных исследований дали основание для производственного испытания Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 как химиофилактических средств для профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота.

Несмотря на успешное проведение противозпизоотических мероприятий, проявление рецидивов туберкулеза в ранее оздоровленных от этой инфекции хозяйствах, продолжается. Появилась проблема длительно неблагополучных хозяйств, где туберкулез регистрируется стационарно, в течение многих лет и оздоровление их общепринятыми методами не позволяет добиться стойкого благополучия, так как не разработаны эффективные методы выявления животных туберкулоносителей и отсутствует защита молодняка в молочном периоде (Овдиенко Н.П., 2004, 2009; Смолянинов Ю.И., 2008; Нуратинов Р.А., 2014).

В условиях Республики Татарстан в связи с высокой заболеваемостью маточного поголовья крупного рогатого скота, длительной стационарностью и постоянной передержкой реагирующих на туберкулин животных возникла необходимость выращивания ремонтного молодняка в хозяйствах с различной эпизоотической обстановкой, в том числе и телят, рожденных от реагирующих на туберкулин коров.

Завоз телок из-за пределов республики в зону с длительным неблагополучием по туберкулезу не решает проблему оздоровления. Профилактические и оздоровительные мероприятия в таких хозяйствах необходимо проводить с учетом сложившихся особенностей, а решение проблем оздоровления возможно лишь путем полной замены неблагополучного поголовья здоровым.

На основании тщательного анализа результативности проведения противотуберкулезных мероприятий нами разработана, апробирована и внедрена в сельскохозяйственное производство система профилактики и искоренения туберкулеза крупного рогатого скота, которая при четком проведении мероприятий позволяет в короткие сроки резко снизить заболеваемость в длительно неблагополучных хозяйствах, вырастить свободное от туберкулеза ремонтное поголовье, сохранить благополучие оздоровленных стад и на этой основе поэтапно в масштабах ферм, провести замену неблагополучного поголовья здоровыми животными.

Основной задачей в этом направлении является создание внутрихозяйственных специализированных ферм по выращиванию ремонтных телок, на которых возможна изоляция телят 5 -7 дневного возраста. Однако, опасность заражения телят в первые дни и месяцы жизни требовала изыскания методов предохранения их от заболевания с помощью химиофилактических средств.

В подтверждении правильности проведения наших исследований имеется много примеров выращивания здорового молодняка от реагирующих на туберкулин коров в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах при выполнении всего комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий (Ротов В.И., 1974, 1978; Пионтковский В.И., 1980; Новак Д.Д., 1983). В то же время, это трудновыполнимая работа в силу возможного инфицирования телят самого раннего возраста через молозиво и молоко коров матерей, а также сборное молоко и обрат. По этой причине молодняк, полученный от больных коров, «выбраковывают».

В хозяйствах неблагополучных по туберкулезу выращивание здорового молодняка является серьезной проблемой, возможна передача возбудителя алиментарным, аэрогенным и внутриутробными путями. Степень заболеваемости скота зависит главным образом от условий, в которых животные развиваются в раннем возрасте (Хазипов Н.З. и соавт., 1997; Баратов М.О. и соавт., 2007; Сафин М.А. и соавт., 1992, 2010).

С целью профилактики возможного заболевания туберкулезом телят молочного периода развития в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах, мы дополнительно к комплексу противотуберкулезных мероприятий применяли исследуемые препараты (Тубофен, Линарол, Линарол Ф-1).

Эффективность химиопрофилактики во многом зависит от метода использования препарата. Оценивая методы введения противотуберкулезных средств (подкожное введение Тубофена на физиологическом растворе в дозе 10 мг/кг массы животного), нами установлено, что подкожный, как и все парентеральные методы введения, сопряжены с определенными трудностями – стерильные инструменты и растворы, индивидуальная обработка, фиксация и другие. Эти методы довольно трудоемки и не могут быть рекомендованы для крупных животноводческих комплексов. Пероральный метод способ введения противотуберкулезных препаратов мы считали наиболее удобным и экономически выгодным, так как его можно применять групповым методом.

Производственные испытания были проведены в условиях хозяйств Республики Татарстан, неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота. Профилактическую эффективность изучаемых препаратов оценивали в опытах, на новорожденных телятах полученных как от реагировавших на туберкулин коров, так и от коров условно-здорового стада. Весь молодняк, находившийся в опыте, содержался изолированно от взрослого поголовья. Тубофен, Линарол и Линарол Ф-1 задавали в течение всего молочного периода (2-а месяца) ежедневно в смеси с молоком в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела. Другая группа новорожденных животных (контроль) получала по аналогичной схеме физиологический раствор. В течение 2-х месяцев за животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования и биохимические исследования крови, а также ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез. По результатам контрольного взвешивания животных, один раз в 2-е недели проводили коррекцию дозы препаратов.

В результате проведенных аллергических исследований установлено, что телята опытных групп, получавшие исследуемые химические соединения, не

реагировали на введение туберкулина ни в месячном, ни в 2-х месячном возрасте. В контрольных группах телят, не получавших курс химиопрофилактики, в месячном возрасте реакция на внутрикожное введение туберкулина отсутствовала, а в 2-х месячном возрасте процент реагировавших животных в отдельных хозяйствах составлял от 0 до 33%. В этом наши результаты находят подтверждения в исследованиях многих ученых (Кузин А.И., 1982; Донченко, А.С. 1983, 2004; Колосов А.А., 2001; Сафин М.А., 2010), которые установили, что инфицированные микобактериями туберкулёза телята в молочном периоде, реагируют на туберкулин в основном только по достижению ими случайного возраста, что затрудняет раннюю диагностику заболевания и способствует появлению длительно неблагополучных хозяйств.

Химиопрофилактика туберкулеза телят в течение молочного периода с использованием исследуемых химических соединений в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела не повлияла на изменение возрастной динамики живой массы подопытных животных, а так же на их гематологические и биохимические показатели крови.

При контрольно-диагностическом убое животных выяснилось, что во внутренних органах и тканях животных опытных и контрольных групп патологических изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено. Однако при бактериологическом исследовании патологического материала, практически в каждой из контрольных групп (не подвергавшихся курсу химиопрофилактики), удалось выделить микобактерии туберкулеза бычьего вида, причем процент инфицированности убитого с диагностической целью молодняка крупного рогатого скота, содержащегося в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах, составлял от 12,5 до 33%.

В свою очередь, при бактериологическом исследовании патологического материала, полученного от телят опытных групп, обработанных Тубофеном, Линаролом и Линаролом Ф-1 в дозах 5 и 10 мг/кг массы тела, выделить возбудитель туберкулеза не удалось. Проведенные производственные опыты показали, что инфицированность микобактериями туберкулеза животных

контрольных групп, подвергшихся курсу химиопрофилактики при условии строгого контролируемого эксперимента – отсутствовала.

Результаты наших опытов согласуются с исследованиями многих авторов (Ротов В.И. и др., 1974; Ли А.Б., 1980; Смолянинов Ю.И. и др., 2001; Донченко Н.А., 2008), которые использовали изониазид и его производные для профилактики туберкулеза молодняка крупного рогатого скота со 100% профилактическим эффектом.

Тем не менее, мы даем себе отчет в том, что эффективность химиопрофилактики туберкулеза у новорожденного молодняка крупного рогатого скота в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах напрямую зависит от уровня инфицированности коров, ветеринарно-санитарного состояния на фермах, наличия и квалификации специалистов, культуры ведения животноводства, выполнения комплекса противоэпизоотических мероприятий, в том числе внедрения пастеризации молока и обрата.

Нашими исследованиями доказано, что у телят, родившихся от реагирующих на туберкулин коров и подвергнутых химиопрофилактике изучаемыми химическими соединениями, проявляется не только профилактическое, но вероятно и лечебное действие, благодаря которому удается избежать скрытого течения туберкулезной инфекции (ареактивные к туберкулину телята). Наши результаты согласуются с данными исследований многих ученых (Урбан В.П., 1980; Щеткин А.А., 1983; Щелканов К.Г., Аверихин А.И., 1986). Так, по мнению В.П. Урбана (1980): «При использовании противотуберкулезных препаратов и формирования новых стад из молодняка неблагополучных по туберкулезу коров, речь идет не только о профилактическом, но и лечебном действии, то есть, применяя препарат практически здоровым, но уже зараженным животным, мы добиваемся освобождения их от возбудителя, помогаем организму справиться с инфекцией и таким образом обеспечиваем профилактику заболевания в стаде».

Исходя из вышеизложенного, нами и были проведены исследования терапевтической активности изучаемых препаратов на лабораторных животных.

В этой связи, мы рекомендуем для применения в качестве химиопрофилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота препараты (Тубофен, Линарол, Линарол Ф-1) в дозах 10 мг/кг массы тела, хотя в наших экспериментах выделить возбудитель туберкулеза от групп телят, получавших вышеперечисленные препараты в дозах 5 мг/кг массы, нам также не удалось.

На основании проведенных исследований можно заключить, что Тубофен, Амикол, Линарол и Линарол Ф-1 относятся к малотоксичным средствам, являются безопасными при длительном применении и проявляют высокую туберкулостатическую активность при химиопрофилактике туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота в молочном периоде.

Из четырех исследованных химических соединений (Тубофен, Амикол, Линарол и Линарол Ф-1), по нашему мнению, наиболее перспективным противотуберкулезным препаратом способным предотвратить развитие множественной лекарственной устойчивости у микобактерий, снизить частоту побочных реакций и тем самым повысить эффективность химиопрофилактики - является препарат Линарол Ф-1.

Нами доказана возможность выращивания здоровых телят, в том числе и от реагирующих на туберкулин коров, в хозяйствах с различной эпизоотической ситуацией. Обоснованное применение химиопрофилактики туберкулеза у телят молочного периода Тубофеном, Линаролом и Линаролом Ф-1, способствует полной ликвидации заболевания. Указанный метод, на наш взгляд, заслуживает внедрения в ветеринарную практику, особенно в зонах широкого распространения туберкулеза.

Мы понимаем, что предложенный нами комплексный метод профилактики и оздоровления хозяйств от туберкулеза крупного рогатого скота с использованием разработанных нами противотуберкулезных препаратов, не исчерпывает всех возможностей научного и практического поиска, он будет дополняться и совершенствоваться по мере накопления знаний, хозяйственных возможностей и передового опыта. Однако рациональные основы наших разработок уже в настоящее время с большим успехом используются при

решении важнейших государственных задач – снятии эпизоотической и эпидемической опасности действующих очагов туберкулеза, повышение продуктивности крупного рогатого скота и выполнение государственной программы развития сельского хозяйства.

Таким образом, из вышеперечисленного можно сделать следующие выводы:

1. Туберкулез крупного рогатого скота в Республике Татарстан носит стационарный характер, линия многолетнего тренда имеет тенденцию к нарастанию:

- за 40 лет (1960-2000 годы) было оздоровлено 726 неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов;
- в период с 2000 по 2016 годы выявлено 45 новых эпизоотических очагов в 16 из 43 районов республики;
- большая часть неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота пунктов регистрируется на юге республики, в центральной же части – их немного и располагаются они разрозненно;
- в районах Предволжья и Предкамья инфекция протекает в виде энзоотии или проявляется спорадически;
- более интенсивное по широте охвата поголовья и количеству неблагополучных пунктов течение эпизоотического процесса наблюдается в районах Заволжья и Закамья, именно здесь ранее имелись стационарные неблагополучные пункты и, как правило, в оздоровленных от туберкулеза хозяйствах через 3-5 лет вновь регистрировались рецидивы болезни.

2. Соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты (Тубофен), 45 химических соединений относящихся к изоциануратам, 3 соединения относящиеся к триазидам и 34 соединения относящиеся к  $\alpha,\omega$  – бис(амидо- и гидразидометилсульфинил- и сульфонил)алканам обладают выраженными бактериостатическими свойствами в отношении микобактерий туберкулеза штамма H37Rv и оказывают свое ингибирующее действие в концентрациях от 0,075 до 50 мкг/мл среды.

3. В результате комплексных испытаний туберкулостатической активности исследуемых синтетических препаратов из каждой группы выбраны наиболее эффективные в отношении микобактерий туберкулеза «соединения – лидеры»: Тубофен (соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты) с МИК – 0,075 мкг/мл среды; Линарол (1-5-(карбазоилметилсульфинил)-пентил)-3,5-диметилизоцианурат) с МИК – 0,1 мкг/мл среды; Аликон (2,4-диамино-6-(карбамоилметилсульфинил-метил)-1,3,5-триазин) с МИК – 0,1 мкг/мл среды и Линарол Ф-1 (1,4-бис (амидометилсульфинил) бутан) с МИК – 0,3 мкг/мл среды.

4. Химические соединения Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 проявили выраженное бактериостатическое действие на микобактерии туберкулеза референтных штаммов H37Rv, *M. bovis* 14 и культуру клинического штамма микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в концентрациях 10 мкг/мл среды. Тубофен в концентрации 10 мг/мл среды проявил бактериостатическое действие лишь в отношении референтных штаммов, культура клинического штамма с множественной лекарственной устойчивостью оказалась резистентной к данному препарату в исследованной дозе.

5. Тубофен, Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 в концентрациях 5,0; 2,5; 1,25 и 0,6 мг/мл среды обладают избирательным антибактериальным действием лишь в отношении микобактерий туберкулеза и не проявили выраженного антибактериального и фунгистатического действия на тестируемые культуры (*Staphylococcus aureus* 209p, *Escherichia coli* F-50, *Bacillus cereus* 8035, *Candida albicans* 855-653, *Trichophyton mentagrophytes* - 1773, *Aspergillus niger* ВКМФ-1119).

6. Химиопрофилактические туберкулостатические препараты: Тубофен, Линарол, Аликон и Линарол Ф-1 являются малотоксичными соединениями, не обладают кумулятивным, эмбриотоксическим, тератогенным и местно-раздражающим действиями. Длительное (в течение 30-60 суток) их введение лабораторным животным в дозе 10 мг/кг массы тела не влияло на изменение гематологических и биохимических показателей крови. Однако препарат Аликон

оказался бесперспективным для дальнейших исследований в связи с трудностью его синтеза в промышленных масштабах и дороговизной исходных реактивов, а также плохой растворимостью в воде, что ухудшает его биодоступность.

7. При экспериментальном туберкулезе морских свинок Тубофен и Линарол проявляют высокий химиопрофилактический эффект и в дозах 10 мг/кг массы предотвращают развитие в тканях и органах структурных изменений, характерных для туберкулезного процесса. Пероральное применение Тубофена и Линарола в течение 2-х месяцев, в сравнении с изониазидом, не вызывает развития токсической гепатоцеллюлярной патологии, деструктивных васкулитов и не угнетает лимфопролиферативные процессы в селезенке.

8. Туберкулостатический препарат Линарол Ф-1 в дозе 10 мг/кг массы тела животного обладает высокой терапевтической активностью при лечении экспериментального туберкулеза у морских свинок в течение 60 суток. Препарат Линарол также проявил противотуберкулезную терапевтическую активность в отношении микобактерий туберкулеза, однако эта активность на два порядка меньше в тканях легкого экспериментальных животных ( $(2,3 \pm 0,46) \times 10^7$  КОЕ МБТ), чем у препарата изониазид в аналогичной дозе и сроках введения ( $(2,7 \pm 1,5) \times 10^5$  КОЕ МБТ). В тканях селезенки противотуберкулезная активность Линарола и препарата изониазид была практически одинаковой.

9. Пероральное назначение Тубофена, Линарола и Линарола Ф-1 телятам, полученных от коров неблагополучных стад, в молочный период в дозе 10 мг/кг массы тела, обеспечивает 100% защиту от развития у них инфекционного процесса, вызванного микобактериями туберкулеза, и позволяет провести гарантированное выращивание на таких фермах здоровых животных.

10. Наиболее перспективным (из тестируемых химических соединений) оказался Линарол Ф-1, который наряду с низкой токсичностью, обладает выраженными туберкулостатическими свойствами, в том числе и по отношению к микобактериям туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, протективными свойствами для телят молочного периода развития, что позволяет

профилактировать болезнь и в более поздние сроки, а также переход скрытой инфекции в тяжелые формы заболевания.

11. Разработанный комплексный метод химиопрофилактики туберкулеза у телят молочного периода с использованием синтезированных препаратов, позволяет обеспечить их защиту от туберкулеза и способствует оздоровлению длительно неблагополучных хозяйств.

## ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Результаты исследований использованы при разработке следующих документов:

1. «Инструкция» по применению нового противотуберкулезного средства Линарол в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), утвержденное Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан от 18 июня 2010 года;

2. «Временные ветеринарные правила» по применению нового противотуберкулезного средства Линарол Ф-1 в ветеринарии (в порядке производственных испытаний), утвержденные Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан от 8 декабря 2015 года.

Полученные результаты исследований необходимо учитывать при оздоровлении неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйств. В качестве средств химиопрофилактики туберкулеза у телят, рекомендуется применять туберкулостатические препараты (Тубофен, Линарол, Линарол Ф-1) перорально, групповым методом, в дозе 10 мг/кг массы тела, в течение молочного периода развития, с первого дня после рождения (60 суток).

Основные положения и выводы диссертации предлагаем использовать в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно- практических занятий в профильных ВУЗах, при написании соответствующих разделов учебных и справочных руководств и пособий по инфекционной патологии животных.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

РФ	Российская Федерация
РТ	Республика Татарстан
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
МЗ	Министерство здравоохранения
МЭБ	Международное эпизоотическое бюро
НБ	неблагополучный пункт
МБТ	микобактерии туберкулеза
МИК	минимальная ингибирующая концентрация
КОЕ	колониеобразующие единицы
МЛУ	множественная лекарственная устойчивость
ШЛУ	широкая лекарственная устойчивость
ЛД <sub>50</sub>	среднесмертельная доза
МПД	максимально переносимая доза
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
АЛТ	аланинаминотрансфераза
АСТ	аспартатаминотрансфераза
ГИНК	гидразид изоникотиновой кислоты
РЭС	ретикуло-эндотелиальная система
РСЛЛ	реакция специфического лизиса лейкоцитов
МПБ	мясо-пептонный бульон
КРС	крупный рогатый скот

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александров, Н.А. Некоторые вопросы оздоровления длительно неблагополучных по туберкулезу хозяйств / Н.А. Александров, К.К. Алексеев, З.И. Мендельман // Тр. Саратовского НИВС. – Саратов. - 1974. – Т.9. – С.51 – 54.
2. Александров, Н.А. Обоснование и опыт искоренения туберкулеза методом замены / Н.А. Александров. – Саратов, 1975. – 31 с.
3. Александров, Н.А. Эпизоотология туберкулеза крупного рогатого скота и организационные формы его искоренения в длительно неблагополучных хозяйствах Северной зоны Нижнего Поволжья: автореф. дис... докт. вет. наук. – Саратов, 1973. - 38 с.
4. Александровский, Ю.А. Клиническая фармакология транквилизаторов / Ю.А. Александровский. – М.- 1973. – 210 с.
5. Алимбекова, О.А. Туберкулез гениталий у женщин в регионе с высоким распространением заболевания (эпидемиология, диагностика, клиника, лечение): автореф. дис. .... докт. мед. наук: 14.00.01 / Алимбекова Орункуль Ахметовна – М., 1989. – 40 с.
6. Алюшин, М.Т. Синтетические полимеры в отечественной фармакологии /М.Т. Алюшин, И.А. Артемьев, Ю.Г. Тракман// Синтетические полимеры в отечественной фармации. – М.: Медицина, 1974. – 248 с.
7. Андрющенко, В.В. Химиопрофилактика туберкулеза телят в комплексе противотуберкулезных мероприятий / В.В. Андрющенко // Сборник – Ветеринария. - 1969. – Вып. 20. – С. 33 – 39.
8. Архипова, О.П. Влияние на организм морских свинок длительного введения терапевтических и повышенных доз изониазида / О.П. Архипова, О.А. Уварова, А.А. Диковицкий // Сборник трудов ЦНИИ туберкулеза. – М. - 1977. – Т. 21. – С. 85 – 87.
9. Астахова, А.В. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности лекарств: Руководство по фармаконадзору / А.В. Астахова, В.К. Лопехин. - М.: Копи-Центр, 2004. – 200 с.

10. Ахундов, Р.А. Изучение токсичности изониазида в эксперименте / Р.А. Ахундов // Азербайджанский медицинский журнал. – 1973. - №2. – С. 22 – 28.
11. Ахундов, Р.А. Новые данные по токсическому и фармакологическому исследованию некоторых производных изоникотиновой кислоты: автореф. дис... кан. биол. наук. – Баку, 1974. – 24 с.
12. Ахундов, Р.А. О действии изониазида и фтивазида / Р.А. Ахундов // Азербайджанский медицинский журнал. – 1972. - №12. – С. 48 – 51.
13. Бакулов, И.А. География болезней животных зарубежных стран / И.А. Бакулов, М.Г. Таршис. - М.: Колос, 1971. – 200 с.
14. Бакулов, И.А. Основы общей эпизоотологии: Учебное пособие для студентов вузов по спец. «Ветеринария» / под ред. И.А. Бакулова и А.С. Донченко. – Новосибирск, 2008. – 263 с.
15. Баласанянц, Г.С. Побочные действия противотуберкулезных препаратов и методы их устранения: Уч. пособие / Г.С. Баласанянц, Д.С. Суханов// СПб., 2014. – 64 с.
16. Балашенко, С.Г. Развитие ветеринарии и совершенствование противоэпизоотических мероприятий в Белоруссии: автореф. дис.... д-ра, ветеринар. наук. – Л., 1978. – 27 с.
17. Бальцева, Л.Б. Устранение побочных реакций химиотерапии больных туберкулезом легких / Л.Б. Бальцева, Г.В. Мельник, В.П. Манько // Врачебное дело. – 1990. - №4. – С. 71 – 73.
18. Банщиков, В.М. Психозы, вызываемые противотуберкулезными препаратами – изониазидом и ипраниазидом, и применение этих препаратов для лечения психических заболеваний / В.М. Банщиков, Г.В. Столяров // Журнал невропатологии и психиатрии им. Корсакова. – 1961. – Т. 61. – Вып. 1. – С. 127 – 139.
19. Баранников, В.М. Химиопрофилактика туберкулеза при выращивании молодняка, полученного от реагирующих на туберкулин коров/ В.М. Баранников, К.Т. Кусаинова, К.Е. Баркитова // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике, профилактике туберкулеза и

- бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. науч. конф. СибНИВИ. – Омск. - 1980. – С. 134 – 137.
20. Баратов, М.О. Зависимость интенсивности эпизоотического процесса туберкулеза от природно–географических условий региона / М.О. Баратов, М.М. Ахмедов, О.П. Сакидибиров // Матер. юбилейной конф., посвящ. 40 – летию со дня создания ГНУ ПЗНИВИ «Основные проблемы ветеринарной медицины и стратегия борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных животных в современных условиях». – Махачкала. - 2007. С. 129 – 132.
  21. Баратов, М.О. Особенности туберкулеза крупного рогатого скота в Республике Дагестан (эпизоотология, диагностика, дифференциальная диагностика и меры борьбы): автореф. дис. .... докт. вет. наук: 06.02.02/ Баратов Магомед Омарович. – Ставрополь, 2017. – 46 с.
  22. Баратов, М.О. Эпизоотические особенности туберкулеза крупного рогатого скота в РД / М.О. Баратов, М.М. Ахмедов, О.П. Сакидибиров// Матер. Всерос. науч.-прак. конф., посвящ. 75-летию ДагГАУ «Образование, наука, инновационный бизнес сельскохозяйственных регионов». – Махачкала, 2007. – С. 88 – 92.
  23. Беленький, М.Л. Материалы к фармакологии и токсикологии тубазида / М.Л. Беленький, М.А. Витониль // Сб. статей Акад. наук Латвийской ССР. – Рига. - 1958. – С. 39 – 50.
  24. Бистрицкайте-Рудайтене, А.П. Действие основных противотуберкулезных препаратов на печень при длительном лечении туберкулеза легких в эксперименте / А.П. Бистрицкайте-Рудайтене // Проблемы туберкулеза. – 1971. – №5. – С. 80 – 81.
  25. Богадельникова, И.В. Антибактериальная терапия туберкулеза легких / И.В. Богадельникова, М.И. Перельман: – М.: Универсум Паблишинг, 1997. – 80 с.
  26. Бондарев, И.М.. Изучение влияния изониазида на центральную нервную систему по данным дисперсного анализа электрической активности мозга /

- И.М. Бондарев, В.И. Бартельсон // Проблемы туберкулеза. – 1978. - №10. – С. 40 –44.
27. Борисова, М.И. Применение феназида у больных туберкулезом легких с плохой переносимостью изониазида / М.И. Борисова, В.А. Стаханов, Т.И. Шаркова // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. - №7. – С. 34 – 37.
28. Бочарова, И.В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата Тиозонид / И.В. Бочарова // Туберкулез и болезни легких, 2014. - №6 - С. 46-50.
29. Булавин, С.П. Токсическое действие тубазида на организм животных / С.П. Булавин // Бюллетень ВИЭВ. – М., 1983. – Вып. 50. – С. 60 – 63.
30. Булавин, С.П. Фармакологическая характеристика тубазида / С.П. Булавин // Бюллетень ВИЭВ. – М., 1982. – Вып. 48. – С. 61 – 62.
31. Буткина, Т.К. Бактериостатическая концентрация тубазида при экспериментальном туберкулезе / Т.К. Буткина // Проблемы туберкулеза. – 1969. - №5. – С. 77 – 79.
32. Валиев, Р.Ш. Совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики туберкулеза легких в условиях социально-экономических преобразований и распространения ВИЧ – инфекций / Р.Ш. Валиев // ГОУ ДПО «КГМА». Казань, 2009. – 39 с.
33. Василенко, К.В. Химиопрофилактика туберкулеза свиней в экспериментальных и производственных условиях / К.В. Василенко, Е.Е. Власова // Инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1983. – С. 26 – 29.
34. Василенко, К.Ф. К вопросу эпизоотологии туберкулеза крупного рогатого скота / К.Ф. Василенко // Вопросы профилактики и лечения сельскохозяйственных животных. Сб. науч. работ. СибНИВИ. – Омск, 1964. – Вып. 12. -С. 143 – 148.
35. Василенко, К.Ф. Химиопрофилактика туберкулеза свиней / К.Ф. Василенко // Сб. науч. работ СибНИВИ. – Омск, 1975. – Вып. 25. – С. 35 – 40.

36. Васильев, Н.А. Туберкулез: Учебное пособие / Н.А. Васильев, Б.Д. Матвиенко, П.И. Бублик П.И.: – М.: Медицина, 1990. – С. 128 – 140.
37. Васильева, О.А. Оценка влияния противотуберкулезных препаратов на цитохимический статус лимфоцитов *in vitro* / О.А. Васильева, О.И. Уразова, В.А. Серебрякова и др.// Проблемы туберкулеза. - 2008. - №3. – С 27 – 30.
38. Васильченко, Г.А. Выращивание здоровых телят от коров неблагополучного по туберкулезу стада / Г.А. Васильченко // Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. Сб. науч. трудов. – Новосибирск, 1986. – С. 45 – 49.
39. Вейсфейлер, Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичные микобактерии / Ю.К. Вейсфейлер. – Будапешт, 1975. – 334 с.
40. Ветра, Ф.Я. Пролонгация действия лекарственных веществ / Ф.Я. Ветра, Е.А. Дульбинский, Я.Я. Шустер // Ветеринария. - 1981. -№1. – С. 71 – 72.
41. Визель, А.А. Лечение туберкулеза органов дыхания / А.А.Визель. – Казань: КГМУ МЗ РФ – ГП ВЭО «Саламат», 1998. – С. 13 – 20.
42. Витониль, М.А. Некоторые итоги экспериментального изучения токсических свойств тубазида / М.А. Витониль // Сборник статей. Академия наук Латвийской ССР, 1951. – Т. 2. – С. 252 – 261.
43. Витониль, М.А. Токсическое действие тубазида (гидразида изоникотиновой кислоты) на центральную нервную систему / М.А. Витониль // Избирательное действие лекарств на центральную нервную систему. Сб. работ. – М., 1957. – С. 72 – 89.
44. Власова, Е.Е. Влияние альдозона на морфофункциональное состояние организма экспериментальных животных / Е.Е. Власова // Методы диагностики и профилактики бруцеллеза и туберкулеза животных. Сб. науч. тр.: ВНИИБТЖ. СО ВАСХНИЛ. – Омск, 1988. – С. 84 – 89.
45. Водолазский, Д.К. Распространение и причина повторного возникновения туберкулеза крупного рогатого скота в Ставропольском крае / Д.К. Водолазский, А.С. Трибанин // Диагностика и профилактика болезней с.-х. животных и птиц.- Новочеркасск, 1976.- С. 15 - 17.

46. Воробьев, А.Н. Испытание фтивазида при туберкулезе кур / А.Н. Воробьев // Сб. науч. работ: СКЗВИ. – Новочеркасск, 1973. – Вып. 16. – С. 164 – 166.
47. Вохминцева, Л.В. Влияние адреналина на состояние лизосомального аппарата печени в условиях индукции изониазидом / Л.В. Вохминцева// Вестник новых медицинских технологий. - 2009. – Т. 16. - №4. – С. 72 – 73.
48. Георгиев, С. Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним в народной Республике Болгарии / С. Георгиев, Б. Божилев// Бруцеллез и туберкулез животных. - 1967. – С. 281 – 283.
49. Гольбер, Л.М. К характеристике действия тубазида / Л.М. Гольбер // Сб. статей. Акад. наук Латвийской ССР. – Рига, 1958. – С. 73 – 105.
50. Гончаров, А.В. О двух случаях выраженного токсического действия изониазида / А.В. Гончаров // Врачебное дело. – 1977. – №6. – С. 64 – 65.
51. Гребенник, Л.И. Сравнительное изучение распределения гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) и гидразина в организме животных / Л.И. Гребенник // Фармакология и токсикология. – 1967. - №1. – С. 94 – 97.
52. Гриценко, Н.С. Кардиотоксический эффект изониазида /Н.С. Гриценко, В.Т. Долгих, В.Г. Сенцов и др.// Медицинский вестник Башкортостана. - 2009. – С. 131 – 134.
53. Гуркин, А.В. Влияние изониазида на организм крупного рогатого скота / А.В. Гуркин, Л.Т. Азарян, Т.Г. Воскресенская // Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. Сб. науч. трудов. – Новосибирск, 1986. – С. 110 – 113.
54. Гуркин, А.В. Профилактика туберкулеза крупного рогатого скота с помощью изониазида и влияние его на организм животных / А.В. Гуркин // Материалы Всесоюз. науч. конф., 20 – 23 мая. Омск, 1980. – С. 124 – 127.
55. Гуркин, А.В. Профилактика туберкулеза крупного рогатого скота с помощью изониазида и влияние его на организм / А.В. Гуркин // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике, профилактике туберкулеза и бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями

- сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. науч. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 128 – 130.
56. Давыдова, Т.Н. Оценка безвредности изониазида на полимерной основе / Т.Н. Давыдова, В.И. Шайкин, А.С. Донченко // Эпизоотология, диагностика и профилактика туберкулеза и бруцеллеза животных. – Новосибирск, 1990. – С. 49 – 50.
57. Давыдова, Т.Н. Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия изониазида на полимерной основе / Т.Н. Давыдова, В.И. Шайкин // Актуальные проблемы туберкулеза и бруцеллеза с.-х. Животных. – Новосибирск, 1989. – С. 62 – 65.
58. Джупина, С.И. Ветеринарно-технологические принципы полной замены неблагополучных по туберкулезу стад крупного рогатого скота здоровыми животными (Метод. рекомендации)// С.И. Джупина, А.С. Донченко, Ю.И. Смолянинов и др.// Новосибирск, 1987. – 10 с.
59. Джупина, С.И. Методы оздоровления крупного рогатого скота от туберкулеза /С.И. Джупина// Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. Новосибирск, 1986. - С. 3 – 11.
60. Джупина, С.И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотического процесса: Монография / С.И. Джупина// Новосибирск, 1991.- 138 с.
61. Джупина, С.И. Особенности эпизоотической ситуации по туберкулезу и бруцеллезу в Сибири и на Дальнем Востоке и пути оздоровления от этих инфекций / С.И. Джупина// Эпизоотология и меры борьбы с инфекционными болезнями животных. – ВАСХНИЛ, Сибирское отделение. – Новосибирск, 1985. – С. 12 – 19.
62. Джусунбеков, А.Д. Методика, организация трудовой терапии и расчет ее экономической эффективности в противотуберкулезных учреждениях: Метод. Рекомендации / А.Д. Джусунбеков, С.Р. Кулаев, А.С. Кунанбеков// Алма-Ата, 1985. – 21 с.

63. Дидовец, С.Р. Химиопрофилактика крупного рогатого скота / С.Р. Дидовец, В.И. Ротов // Ветеринария. – 1978. – №10. – С. 55 – 57.
64. Дидовец, С.Р. Оздоровление от туберкулеза ферм крупного рогатого скота с применением пролонгированной химиопрофилактики / С.Р. Дидовец, Э.С. Плотников, В.И. Ротов и др.// Материалы Всесоюз. науч. конф. – Омск, 1980. – С. 124 – 127.
65. Доклад ВОЗ о глобальной борьбе с туберкулезом, 2016 г. [Электронный ресурс] Режим доступа: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/ru/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/ru/). (дата обращения: 01.08.2017).
66. Донченко, А.С. Эпизоотология туберкулеза крупного рогатого скота / А.С. Донченко // Актуальные проблемы эпизоотологии: Тез. докл. - КВИ, 1983. – С. 87 – 88.
67. Донченко, А.С. Влияние сочетанного применения вакцины БЦЖ и полирибоната на показатели иммунобиологического состояния организма животных / А.С. Донченко, Г.П. Протодияконова // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2007. - № 10. - С. 64-69.
68. Донченко, А.С. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота / А.С. Донченко, Н.П. Овдиенко, Н.А. Донченко // Новосибирск, 2004- 309 с.
69. Донченко, Н.А. Применение туберкулостатика ниазона при оздоровлении хозяйств от туберкулеза / Н.А. Донченко, А.А. Колосов, А.С. Донченко // Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии. – Краснодар, 2001. – С. 183 – 184.
70. Донченко, Н.А. Роль туберкулостатических препаратов в системе противотуберкулезных мероприятий / Н.А. Донченко, А.С. Донченко, А.А. Колосов // Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики. - Алматы, 2005. –Т.1. –С. 140-144.
71. Донченко, Н.А. Туберкулостатический препарат ниазон в системе противотуберкулезных мероприятий, обеспечивающих управление эпизоотическим процессом / Н.А. Донченко, А.С. Донченко, А.А. Колосов // Ветеринария Сибири. - 2002. – №7. - С. 8 – 13.

72. Донченко, Н.А. Усовершенствование средств и методов диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота / Н.А. Донченко // Автореф. дис. .... докт. вет. наук. – Новосибирск, 2008. – 36 с.
73. Дрaбкина, Р.О. Микробиология туберкулеза / Р.О. Дрaбкина// – М., 1963. – 254 с.
74. Емельянов, В.А. Кормление кур и применение фтивазида при туберкулезе / В.А. Емельянов, К.А. Швецов // Тр. Татарского НИИСХ. - 1976. – Вып. 7. – С. 181 – 184.
75. Ерохин, В.В. Клинико-морфологические критерии лекарственного гепатита у больных туберкулезом легких / В.В. Ерохин, И.А. Панасек, Н.В. Адамович // Проблемы туберкулеза. – 1991. - №1. – С. 35 – 39.
76. Есипенко, Б.Е. Механизм желчегонного действия желчных кислот / Б.Е. Есипенко, Л.И. Жалило, А.П. Костромина // Физиологический журнал АН УССР. – 1983. – Т. 19. - №5. – С. 590 – 594.
77. Жабоедов, А.Н. Химиофилактика туберкулеза / А.Н. Жабоедов, В.А. Кузяев, Р.М. Мендрик // Профилактика заболеваний животных на промышленных комплексах. - 1978. – С. 45 – 53.
78. Жаворонков, Л.П. Показатели периферической крови и гемостаза здоровых морских свинок / Л.П. Жаворонков, В.М. Зяблицкий // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных: Мат. Всесоюзн. конф. – М.,1980. – С. 148 – 149.
79. Жаров, А.В. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных / А.В. Жаров, В.П. Шишков// – М.: Колос, 1995. – С. 155 – 165.
80. Жуков, А.П. Распространение туберкулеза крупного рогатого скота на территории Оренбургской области / А.П. Жуков, М.А. Поляков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2006. - Т.2. - № 10 – С. 151 – 153.
81. Жукова, М.П. Распространенность лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза среди больных туберкулезом

- бактериовыделителей / М.П. Жукова // Проблемы туберкулеза. – 1998. - №1. – С. 14 –16.
82. Жумаш, А.С. Последовательное применение химио- и вакцинопрофилактики телят от туберкулеза / А.С. Жумаш // Вестн. с.-х. науки Казахстана, 1995. - №7. – С. 82 – 85.
83. Жумаш, А.С. Профилактика туберкулеза крупного рогатого скота последовательным применением препаратов КазНИВИ / А.С. Жумаш, С.С. Карабекова, А.К. Шаимбетова и др. // Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения животноводства Сибири: Сб. науч. работ. – Новосибирск, 2006. - С. 203 – 208.
84. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария// Выща шк., Изд. 2. - Киев, 1974. – 304 с.
85. Зинина, Н.Н. Комплексный туберкулостатический препарат для профилактики туберкулеза молодняка крупного рогатого скота / Автореф. дис. .... канд. вет. наук. – Новосибирск, 1991. – 17 с.
86. Зыков, М.П. Микробиология туберкулеза / М.П. Зыков. – Л.: Медицина, 1976. – 158 с.
87. Изаболинская, Р.М. Некоторые экспериментальные данные о влиянии фтивазида и тубазида на макроорганизм / Р.М. Изаболинская, Л.С. Косогорова // Бюллетень экспер. биолог. – 1959. - №10. – С. 56 – 59.
88. Израилова, Г.Г. Обоснование состава и стандартизация лекарственного препарата, содержащего изониазид и рифампицин / Автореф. дис. .... канд. фарм. наук. – Пятигорск, 2011. – 23 с.
89. Ильюхин, В.И. Распределение тубазида в организме белых крыс / В.И. Ильюхин // Фармакология и токсикология. – 1968. – Т. 31. - № 4. – С. 460 – 463.
90. Инструкция по применению туберкулина очищенного (ППД) для млекопитающих, стандартного раствора» (утв. Заместителя руководителя Россельхознадзора 30.09.2011).

91. Инструкция по унифицированным методам микробиологических исследований при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза. Утверждена постановлением Министра здравоохранения Российской Федерации №109 от 21 марта 2003 года. Российский съезд фтизиатров, Москва, 3 – 5 июня 2003 г. / О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации. – М., 2003. – С. 194 – 309.
92. Исаков, М.Т. Применение тубазида для профилактики туберкулеза крупного рогатого скота: Автореф. дис.... канд. ветеринар. наук. – Самарканд, 1985. – 18 с.
93. Казанбиев, Н.К. К вопросу об острых отравлениях изониазидом / Н.К.Казанбиев, Т.Е. Алхазова, А.С. Гаджикулиев // Проблемы туберкулеза. – 1989. - №10. – С.74 – 75.
94. Калишин, Н.М. Использование антибактериальных препаратов с целью профилактики туберкулеза у телят / Н.М. Калишин // Материалы 15-ой науч. конф. – ЛВИ, 1966. – С. 10 – 13.
95. Калонжаев, А.А. Комплексное лечение больных деструктивным туберкулезом легких с использованием внутримышечного введения изониазида / А.А. Калонжаев, Н.Ф. Гамзаева // Проблемы туберкулеза. – 1991. - №5. – С. 21 – 22.
96. Капитонов, Н.И. Психонейрофармакологические и биохимические исследования некоторых ингибиторов моноаминоксидазы из ряда производных гидразина и фенил циклопропиламида: Дис... канд. мед. наук. – М., 1969. – 184 с.
97. Капков, Л.П. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России и пути ее стабилизации / Л.П. Капков // Вет. патология. – М., 2004. - №1 – 2 (9). – С. 3 – 23.
98. Капустин, Л.А. Экономический ущерб от туберкулеза маралов / Л.А. Капустин, И.Н. Никитин // Ветеринария. - 1969. – №11. – С. 125.
99. Капустин, Л.А. Экономический ущерб от туберкулеза маралов в совхозе «Верхне-Катунский» Восточно-Казахстанской области / Л.А. Капустин // Сб.

- науч. тр.: Семипалатинский зоовет. ин-т. – Семипалатинск, 1970. – Т. 6. – Вып. 2. – С. 17 – 19.
100. Каркищенко, Н.Н. Фармакокинетика изониазида и рифампицина в эксперименте и клинике / Н.Н. Каркищенко, В.В. Хронько, Н.Б. Анисимова // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – Т. 33. - №10. – С. 786 – 789.
101. Карпюк, Р.М. Отравление тубазидом / Р.М. Карпюк // Клиническая медицина. – 1967. – Т. 14. - №12. – С. 136 – 137.
102. Ким, М.Е. Противотуберкулезные лекарственные формы: ассортимент, основные преимущества, перспективы технологического совершенствования / М.Е. Ким, К.Б. Мурзагулова, Э.Ф. Степанова // Фармация и фармакология.- 2016. - №3. – С. 38 – 52.
103. Кисленко, В.Н. Выживаемость микобактерий туберкулеза бычьего типа в почве пастбищ / В.Н. Кисленко // Ветеринария. - 1972. -№6. – С. 48 - 50.
104. Кисленко, В.Н. Основы географической эпизоотологии: Учебник для студ. с.-х. вузов по спец. «Ветеринария» /В.Н. Кисленко// Кн. изд-во. - Новосибирск, 2000. – 159с.
105. Кисленко, В.Н. Экология *M. bovis* и *M. avium* в почве / В.Н. Кисленко // В кн.: Актуальные вопросы ветеринарии. Материалы научно-практической конференции факультета ветеринарной медицины НГАУ. Новосибирск, 2001. – С. 41 - 46.
106. Клебанов, М.А. Антибактериальная терапия больных туберкулезом / М.А. Клебанов, А.В. Жаров, В.П. Шишков: – Киев, 1967. – 292 с.
107. Ковалев, Б.М. Поражение почек при легочном и костно-суставном туберкулезе / Б.М. Ковалев. – М., 1963. – 248 с.
108. Коваленко, Я.Р. Из прошлого и настоящего по мерам борьбы с заразными болезнями сельскохозяйственных животных / Я.Р. Коваленко // Тр. ВИЭВ. – М., 1977. – Т.45. – С. 44 – 47.
109. Коган, Б.И. Ультраструктура патогенных микобактерий полученных на разных питательных средах содержащих изониазид / Б.И. Коган, Т.С. Сеницкая, В.И. Околелов // Разработка средств и методов борьбы с

- туберкулезом животных. Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1990. – С. 79 – 87.
110. Колб, В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников: – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
111. Колосов, А.А. Изолированное выращивание здорового молодняка в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах / А А Колосов, Н.А. Донченко //АПК Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке - Новосибирск, 2001 - С 215-218.
112. Копылова, Т.Н. Периокисление липидов при остром токсическом поражении печени / Т.Н. Копылова, З.В. Вицупе // Биохимия патологических процессов. - 1978. – С. 19 – 21.
113. Коромыслов, Г.Ф. Научно-организационные основы борьбы с бруцеллезом и туберкулезом сельскохозяйственных животных / Г.Ф. Коромыслов// О мерах усиления борьбы с туберкулезом и бруцеллезом сельскохозяйственных животных. – Алма – Ата, 1983. – С. 55 – 63.
114. Коромыслов, Г.Ф. Разработка программ профилактики и ликвидации наиболее опасных болезней животных / Г.Ф. Коромыслов// Тр. ВИЭВ. – М., 1982. – Т.55. – С. 3 – 10.
115. Коронелли, Т.В. Липиды микобактерий и родственных микроорганизмов / Т.В. Коронелли. – М.: Медицина,1984. – 160 с.
116. Косилов, И.А. Меры борьбы с бруцеллезом и туберкулезом крупного рогатого скота /И.А. Косилов, А.А. Новицкий, А.А. Хайкин и др.// Ветеринария - 1987. - №12. – С. 6 – 10.
117. Кощеев, Н.Н. Последовательное применение изониазида и вакцины БЦЖ при туберкулезе телят: Автореф. дис.... канд. вет. наук: 16.00.03/ Всесоюз. акад. сельскохозяй. наук ин-т эксперимент. Ветеринарии и Дальнего Востока. – Новосибирск, 1989. – 18 с.
118. Кощеев, Н.Н. Эффективность профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота с применением изониазида и вакцины БЦЖ в

- эксперименте / Н.Н. Кощев // Актуальные проблемы бруцеллеза и туберкулеза животных. - 2000. – С. 89 – 95.
119. Кравец, А.Т. Течение туберкулеза крупного рогатого скота в природно-географических зонах некоторых областей Сибири / А.Т. Кравец, В.А. Зубаткин // Инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1983. – С. 46 – 51.
120. Кравец, А.Т. Эффективность применения тубазида при профилактике туберкулеза крупного рогатого скота / А.Т. Кравец, Б.Я. Хайкин, В.А. Зубаткин // Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. Сб. науч. трудов. – Новосибирск, 1986. – С. 105 – 110.
121. Кравец, А.Т. Применение тубазида в хозяйстве, неблагополучном по туберкулезу крупного рогатого скота / А.Т. Кравец, К.Ф. Василенко, В.П. Щинников и др. // Инфекционные болезни животных. Сб. науч. работ: СибНИВИ. – Омск, 1979. – Вып. 34. – С. 50 – 52.
122. Кравец, А.Т. Эффективность специфической профилактики и химиопрофилактики туберкулеза крупного рогатого скота в хозяйствах Урала и Западной Сибири / А.Т. Кравец, В.Н. Зебрев, В.А. Зубаткин и др. // Материалы Всес. науч. конф. – Омск, 1980. – С. 131 – 133.
123. Круминь, Э.Н. К механизму действия противотуберкулезного средства тубазида / Э.Н. Круминь, Е.И. Зайцева // Изв. АН Латв. ССР.- 1954. - №9.- 86 с.
124. Крюков, С.В. Пути и методы повышения сохранности поголовья импортируемого скота / С.В. Крюков, Н.В. Мельник, А.А. Плохова и др. // Веткорм. - 2008. - №2. С. 12-13.
125. Крюков, С.Я. Пути ликвидации туберкулеза и бруцеллеза животных в Омской области / С.Я. Крюков // Материалы Всесоюз. науч. конф. – Омск, 1980. – С. 20 – 26.
126. Кудрявцев, А.А. Гематология животных и рыб / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева, Т.И. Привольнов: – М.: Колос, 1969. – 114 с.

127. Кудрявцев, А.А. Исследование крови в ветеринарной диагностике. Часть 1. / А.А. Кудрявцев. – М.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1952. – С. 291 – 325.
128. Кузин, А.И. Оздоровление животноводческих хозяйств от туберкулеза / А.И. Кузин. – М.: Россельхозиздат, 1982. – 103 с.
129. Кузлякин, С.А. Особенности контроля эпизоотического процесса туберкулеза крупного рогатого скота в зоне приуроченности болезни / С.А. Кузлякин // Ин-т эксперимент. ветеринарии Сибири и Дальнего востока СО РАСХН. Новосибирск, 2003. – 26 с.
130. Кузнецов, В.А. Опыт химиопрофилактики туберкулеза кур с применением фтивазида и стрептомицина / В.А. Кузнецов // Учен. зап. Витебск. вет. ин-т. - 1966. – Т. 19. – С. 28 – 32.
131. Кузьяева, В.А. Результаты химиопрофилактики туберкулеза в хозяйствах Молдавской ССР /В.А. Кузьяева, А.Н. Жабоедов, М.И. Бромберг // Повышение продуктивности животных в условиях интенсификации производства. –1982. – С. 90 – 95.
132. Кулаго, Г.В. К клинико-морфологической картине острого отравления тубазидом /Г.В. Кулаго, В.С. Залманенок, М.В. Лисакович // Клиническая медицина. – 1965. – Т. 43. - №12. – С. 116 – 118.
133. Курманбаев, К.К. Взаимосвязь туберкулеза человека и животных / К.К. Курманбаев // Автореф. дис. .... докт. мед. наук. – Москва, 1982. – 36 с.
134. Кушалиев, К.Ж. Иммунологические показатели у телят при применении вакцины БЦЖ и тубазидом: Автореф. дис.... канд. вет. наук / Казанский ордена Ленина вет. ин-т. – Казань, 1993. – 22 с.
135. Лабораторная диагностика туберкулеза. Рекомендации /Госагропром СССР, Всесоюз. НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных. – Омск, 1988. – 64 с.
136. Лабораторные методы исследований в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
137. Ли, А.Б. Химиопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота в Узбекистане / А.Б. Ли // Состояние и перспективы научных исследований по

- диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 140 – 141.
138. Ли, А.Б. Химиопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота с помощью тубазида / А.Б. Ли // Сб. тр. Узб. НИВИ, 1978. – Т.27.- С. 63 – 71.
139. Ли, А.Б. Временное наставление по химиопрофилактике туберкулеза крупного рогатого скота с помощью тубазида (изониазида) / А.Б. Ли, А.К. Сытдыков, Ф.И. Ибадуллаев и др.// Ташкент, 1985. – 4 с.
140. Либерман, С.С. Общее действие и токсичность противотуберкулезных препаратов / С.С. Либерман // Химия и медицина. – 1960. – С. 42 – 45.
141. Литвиенко, В.В. Профилактика респираторных болезней у телят с помощью тубазида / В.В. Литвиенко // Информационный листок Калининградской ЦНТИ. – 1982. - №197 – 82. – 3 с.
142. Лопунов, С.В. Эпизоотический и экономический мониторинг туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота на территории Центрального федерального округа РФ / С.В. Лопунов // Автореф. дис. .... канд. вет. наук. – Барнаул, 2009. – 23 с.
143. Лоуренс, Д. Клиническая фармакология / Д. Лоуренс, П. Бенитт. Под ред. В.И. Метелицы. – М.: Медицина, 1993. – 640 с.
144. Лысов, А.В. О побочных нейротоксических реакциях при химиотерапии туберкулеза и их лечение / А.В. Лысов, А.В. Мордык, В.А. Заворотницкий и др.// Проблемы туберкулеза и болезней легких, 2006. - №6. – С. 45 – 48.
145. Маждраков, Г. Лекарственная болезнь / Г. Маждраков, П. Попхристов // Медицина и физкультура. –1973. – 581 с.
146. Маланин, Л.П. Ветеринарные препараты: Справочник / Л.П. Маланин. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 250 – 258.
147. Мамолат, А.С. Побочные реакции при антибактериальной терапии больных туберкулезом / А.С. Мамолат, Е.Ф. Чернушенко: – Киев: Здоровье, 1975. – 134 с.

148. Марантиди, А.Г. Эффективность применения тубазида и антибиотиков при лечении телят, больных бронхопневмонией / А.Г. Марантиди // Тр. Тадж. СХИ. – Душанбе, 1979. – Т. 36. – С. 71 – 76.
149. Матлина, Э.Ш. Современные представления о синтезе и превращении катехоламинов в организме / Э.Ш. Матлина, В.В. Меньшиков // Успехи современной биологии. – 1964. – Т. 58. - №6. – С. 321 – 345.
150. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Медицина, 1987. – Т. 2. – 576 с.
151. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 2. – С. 331 – 333.
152. Медведь, Л.И. Пестициды и проблема здравоохранения / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну//Журнал Всесоюзного химического общества. - 1968. – Т.8. - №3. – С. 263 – 271.
153. Медников, Б.Л. Лекарственная устойчивость у *Mycobacterium tuberculosis* / Б.Л. Медников // Пульмонология. - 2005. – №2. – С. 5–9.
154. Мельник, В.М. Социальные и медицинские проблемы туберкулеза в Украине / В.М. Мельник, В.В. Волошина // Проблемы туберкулеза. - 2004. - №3. – С. 7 – 9.
155. Меньшикова, Л.А. Фармакокинетическое исследование оригинального лекарственного средства тиазонида/ Автореф. дис. .... канд. фарм. наук. – Москва, 2016. – 23 с.
156. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л., Медицина, 1969. – 423 с.
157. Методические указания (МУ 2196-80) «К постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» (утв. Минздрав СССР 11.08.1980).
158. Методические указания по доклиническому изучению общетоксического действия лекарственных препаратов. – М., 1985. – 83 с.

159. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических свойств и влияние их на репродуктивную функцию. Одобрена фармакологическим комитетом МЗ СССР 10.01.86. и утверждена нач. управления по внедрению новых лекарственных средств и мед. техники МЗ СССР 14.03.86. – 18 с.
160. Методические указания (МУ 1.1.578-96) «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы (утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 21.10.1996 г.)
161. Мироненко, Е.Е. Сравнительное изучение *in vitro* минимальной ингибирующей способности производных ГИНК против микобактерий / Е.Е. Мироненко // Эпизоотология, диагностика и профилактика туберкулеза и бруцеллеза животных. Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ Сиб. отд. ИЭВС и ДВ. – Новосибирск, 1990. – С. 50 – 56.
162. Михайлова, К.И. О взаимодействии эпидемиологии и эпизоотологии туберкулеза в Таджикской ССР / К.И. Михайлова, Л.М. Неживенко // Современные вопросы эпидемиологии и выявления туберкулеза / Сб. науч. тр. Алма-Атин. ЗВИ, 1977. – С. 25.
163. Мишин, В.Ю. Контролируемая химиотерапия туберкулеза органов дыхания в современных условиях. Проблема лекарственной устойчивости / В.Ю. Мишин, И.Э. Степанян // Русский медицинский журнал - 2000. - №12. – С. 496 - 498.
164. Мишин, В.Ю. Медикаментозные осложнения комбинированной химиотерапии туберкулеза легких / В.Ю. Мишин // М., 2007. – 245 с.
165. Мишин, В.Ю. Побочное действие противотуберкулезных препаратов при стандартных и индивидуализированных режимах химиотерапии / В.Ю. Мишин, В.И. Чуканов, Ю.Г. Григорьев// М.: Изд-во «Компьютербург», 2004. – 208 с.
166. Мишин, В.Ю. Современные режимы химиотерапии туберкулеза легких, вызванного лекарственно – чувствительными и лекарственно –

- резистентными микобактериями / В.Ю. Мишин // РМЖ. - 2003. - №21. – С. 1163.
167. Мишин, В.Ю. Фтизиопульмонология. Учебник / В.Ю. Мишин, Ю.Г. Григорьев, А.В. Митронин и др. // М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 504 с.
168. Мишин, В.Ю. Туберкулез легких с лекарственной устойчивостью возбудителя / В.Ю. Мишин// М., 2009. - 201 с.
169. Мишина, А.В. Эффективность различных режимов химиотерапии у впервые выявленных больных туберкулезом легких, сочетанным с ВИЧ – инфекцией / А.В. Мишина, И.П. Чернова, В.И. Митрушкина, В.Ю. Мишин // Практическая медицина. - 2012. - №1 (56). – С. 70 – 73.
170. Мордык, А.В. Частота и патогенез неблагоприятных побочных реакций на противотуберкулезные препараты / А.В. Мордык// Вестник современной клинической медицины. - 2010. – Т. 3. – Вып. 1. – С. 16 – 21.
171. Морозова, Т.И. Эффективность комбинированных химиопрепаратов при лечении больных туберкулезом с высоким риском лекарственной устойчивости / Т.И. Морозова, Л.Е. Паролина, О.Н. Докторова, О.Н. Баринбоим // Вестник современной клинической медицины. - 2013.- Т.6. – Вып. 2. – С. 46 – 51.
172. Мустакимов, Р.Г. Химиопрофилактика неспецифических бронхопневмоний телят / Р.Г. Мустакимов, А.Г. Марантиди // Докл. ВАСХНИЛ, 1979. - №11. – С. 41.
173. Мягкова, Т.В. Два случая тяжелого отравления тубазидом / Т.В. Мягкова // Клиническая медицина. – 1968. – Т. 46. - №12. – С. 131 – 132.
174. Найманов, А.Х. Совершенствование диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в индивидуальных и общественных хозяйствах / А.Х. Найманов // Ветеринария. - 2006.- №4.- С. 1822.
175. Наставление по диагностике туберкулеза животных (утв. Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ 18.11.2002).

176. Наубетьярова, А.Н. Бактериостатическая активность крови при одноразовом применении суточной дозы ряда противотуберкулезных препаратов / А.Н. Наубетьярова // Антибиотики. – 1966. - №8. – С. – 747 – 750.
177. Наубетьярова, А.Н. Туберкулез органов дыхания / А.Н. Наубетьярова // Алма-Ата: «Казахстан», 1982. – 150 с.
178. Нечаева, О.Б. Туберкулез в Российской Федерации: заболеваемость и смертность / О.Б. Нечаева // Медицинский алфавит. - 2013. - Т. 4, № 24. - С. 7-12.
179. Никитин, В.Я. Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехнология размножения / В.Я. Никитин, А.П. Студенцов// М.: Колос, 2000. – 495 с.
180. Никитин, И.Н. Ветеринарная служба и экономика / И.Н. Никитин, М.Г. Нигматуллин // Казань, 1989.- 127 с.
181. Никитин, И.Н. Экономика ветеринарного дела: Учебное пособие / И.Н. Никитин // Казань, 1976. – 80 с.
182. Николаев, В.П. Поражение печени, обусловленное изониазидом /В.П. Николаев, В.А. Корякин, В.И. Браудзе // Труды Московского НИИ туберкулеза, 1986. – Вып. 106. – С. 41 – 43.
183. Новак, Д.Д. Пути профилактики и оздоровления хозяйств от туберкулеза крупного рогатого скота в Северном Казахстане / Д.Д. Новак // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и мерам борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 52 – 54.
184. Новак, Д.Д. Особенности краевой эпизоотологии и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота/ Д.Д. Новак, С.А. Таубаев// Вест. с.-х. науки Казахстана. - Алма-Ата, 1985.- № 12. - С. 69 - 73.
185. Новак, Д.Д. Химиопрофилактика туберкулеза молодняка на специализированных фермах по выращиванию ремонтных телок / Д.Д. Новак, С.А. Таубаев // Тр.: ВАСХНИЛ. КазНИВИ. – Алма-Ата, 1983. – С. 22 – 26.

186. Нуратинов, Р.А. Ареал и видовой спектр микобактерий, вопросы экологии возбудителя туберкулеза в РД / Р.А. Нуратинов, А.А. Султанов, Ф.И. Исламова// Юг России: экология, развитие. - 2011. - №1.- С. 124 – 130.
187. Нуратинов, Р.А.. Микроорганизмы рода микобактериум в биогеоценозах Республики Дагестан / Р.А. Нуратинов, М.М. Халималов // Вестник ДНЦ РАН, 2004. - №16. С. 52–58.
188. Нуратинов, Р.А.. Экологические условия существования популяций микобактерий / Р.А. Нуратинов // Журнал: Юг России: экология, развитие. - 2014. - №2. С. 18 - 30.
189. Обоева, Н.А. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Якутии / Н.А. Обоева Н. А., Н.И. Прокопьева, Г.П. Протодьяконова // Аграрная наука. - 2011. - № 10. - С. 28-29.
190. Овдиенко, Н.П. Профилактика побочного действия изониазида / Н.П. Овдиенко, С.П. Булавин. // Использование новых лекарственных средств в лечении и профилактике заболеваний и отравлений на промышленных комплексах и хозяйствах – важный фактор повышения продуктивности животноводства: Тез. докл. – Челябинск, 1984. – 30 с.
191. Овдиенко, Н.П. Мировое распространение туберкулеза крупного рогатого скота и основные принципы профилактических и противоэпизоотических мероприятий / Н.П. Овдиенко, В.А. Ведерников, А.Х. Найманов, П.Н. Пыталев // Способы и средства диагностики и борьбы с туберкулезом, бруцеллезом и паратуберкулезом с.-х. животных // Бюлл. Всер. н. – и. института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко – М., 1990. – Вып. 73-74. – С. 3 – 23.
192. Овдиенко, Н.П. Проблема микобактериоценозов / Н.П. Овдиенко, В.А. Ведерников, А.Х. Найманов, А.Н. Дерин // М-лы 5 междунар. Науч.-практ. конф. / РАСХН. Сиб. отд-ние, 2002. - С. 444 – 445.
193. Овдиенко, Н.П. Совершенствование системы противотуберкулезных мероприятий в сельских очагах туберкулеза / Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов,

- Н.Г. Толстенко, В.Н. Хруленко и др. // Ветеринарный врач. - 2009. - №4. – С. 37 – 39.
194. Овдиенко, Н.П. Туберкулез как международная и национальная медико-ветеринарная проблема в современных условиях / Н.П. Овдиенко, Н.Г. Толстенко, Н.А. Яременко, П.П. Рахманин и др. // Ветеринарный врач. - 2009. - №2. – С. 14 – 17.
195. Овдиенко, Н.П. Эпизоотическая обстановка по туберкулезу крупного рогатого скота в зарубежных странах в начале XXI века/ Н.П. Овдиенко, А.Х. Найманов, И.В. Солодова // Вет. патология. – М., 2004. - №1-2(9). – С. 51 – 54.
196. Овчаренко, Л.П. Разработка методики количественного определения изониазида и рифампицина в крови / Л.П. Овчаренко, Е.В. Компанцева, Е.И. Хартюнова и др.// Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр.- Пятигорская ГФА. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 217 – 218.
197. Околелов, В.И. Оценка активности туберкулостатиков с использованием электронной микроскопии / В.И. Околелов, Е.С. Мартынова, Б.И. Коган и др. // Эпизоотология, диагностика и профилактика туберкулеза и бруцеллеза животных. Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ Сиб. отд. ИЭВС и ДВ. – Новосибирск, 1990. – С. 56 – 64.
198. Омарбеков, Е.О. О применении тубазида при туберкулезе маралов / Е.О. Омарбеков // Сб. науч. тр. Алма-Атин. ЗВИ, 1972. – Т. 20. – С. - 189.
199. Омарбеков, Е.О. Опыты по профилактике туберкулеза маралов с применением тубазида / Е.О. Омарбеков // Сб. науч. тр. Алма-Атин. ЗВИ, 1974. – Т. 27. – С. 165 – 167.
200. Ондар, Э.А. Клинико-социальные аспекты туберкулеза легких у коренного населения Республики Тыва / Э.А. Ондар, А.А. Рудко, А.Г. Матрақшин// Проблемы туберкулеза. - 2006. - №1. – С. 45 – 48.
201. Орловский, Б.И. Два случая острого отравления тубазидом / Б.И. Орловский, Г.Е. Шипин // Проблемы туберкулеза. – 1967. - №6. – С. 82.

202. Ортенберг, Э.А. К оценке характера гепатотоксического действия изониазида, рифампицина, этамбутола и их комбинации на фоне длительного введения алкоголя / Э.А. Ортенберг, А.И. Жихарева // Проблемы туберкулеза. – 1980. - №2. – С. 59 – 62.
203. Ощепков, В.Г. Усовершенствование специфической профилактики и диагностики туберкулеза крупного рогатого скота / В.Г. Ощепков, Н.Н. Кощеев, Р.А. Хамзин и др.// Уч. зап. КГАВМ. – 2013. – Т.216. –С. 102 – 104.
204. Перельман, М.И. Фтизиатрия: Учебник / М.И. Перельман, В.А. Корякин: – М.: Медицина, 1996. – С. 302 – 317.
205. Перельман, М.И. Туберкулез. Учебник / М.А. Перельман, В.А. Корякин, Н.М. Протопопова // М.: Медицина, 1990. – 304 с.
206. Перельман, М.И. Фтизиатрия. Национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана // М. ГЭОТАР-Медна, 2007. - 512 с.
207. Перельман, М.И. Фтизиатрия: Учебник – 3-е изд., перераб. и доп./ М.И. Перельман, В.А. Корякин, И.В. Богадельникова // М.: ОАО «Издательство Медицина», 2004. - 520 с.
208. Першин, Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии / Г.Н. Першин. – М.: Медицина, 1971. – С. 171 – 195.
209. Першин, Г.Н. Определение средней смертельной дозы / Г.Н. Першин // Фармакология и токсикология. – 1950. - №3. – С. 137 – 149.
210. Пилипчук, Н.С. Туберкулез / Н.С. Пилипчук. – Киев, 1968. – 251 с.
211. Пионтковский, В.И. Некоторые вопросы механизма действия тубазида при туберкулезе крупного рогатого скота / В.И. Пионтковский, Д.П. Бахтин, Л.Д. Пионтковская // Инфекционные и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных в Казахстане. Сб. науч. тр. Алма-Атин. ЗВИ, 1980. – С. 52 – 57.
212. Пионтковский, В.И. Внутриветеринарные специализированные фермы по выращиванию ремонтных телок и нетелей для замены коров на фермах, неблагополучных по туберкулезу / В.И. Пионтковский // Материалы Всесоюз. науч. конф. ВАСХНИЛ – Омск, 1980. – С. 27 – 31.

213. Пионтковский, В.И. Опыт борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота / В.И. Пионтковский, М.А. Сафин // Профилактика туберкулеза крупного рогатого скота. Сб. науч. тр. – Казань, 1984. – С. 31 – 35.
214. Платонов, Г.Е. Проблема химиотерапии туберкулеза / Г.Е. Платонов – М., 1962. – 180 с.
215. Плохинский, И.А. Биометрия / И.А. Плохинский. – М.: МГУ, 1970. – 360 с.
216. Показий, А.Г. Применение противотуберкулезных препаратов при заболевании крупного рогатого скота / А.Г. Показий // Организация противотуберкулезных мероприятий на эпизоотически неблагополучных территориях: Тез. докл. – Новосибирск, 1987. – С. 81 – 82.
217. Постановление Правительства Российской Федерации № 715 «Об утверждении перечня социально-значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих», 01.12.2004 г.
218. Приймак, А.А. Альдазон – новое производное изониазида, синтезированное на основе мономерной углеводной матрицы / А.А. Приймак // Проблемы туберкулеза, 1987. - №1. – С. 53 – 57.
219. Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г., № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики».
220. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г., № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики».
221. Приказ Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 31 января 2013 №118 «Об утверждении стратегии развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года». – М., 2013 г.
222. Прокопьева, Н.И. Оценка эффективности контроля благополучия по туберкулезу крупного рогатого скота / Н.И. Прокопьева, Г.П. Протоdjяконова // Вестник ветеринарии. - 2013. - № 2. - С. 7-9.
223. Прокопьева, Н.И. Туберкулез крупного рогатого скота в Якутии / Н.И. Прокопьева, М.П. Неустроев, Н.П. Тарабукина // Новосибирск, 2006. – 208 с.
224. Промышлянская, М.А. Влияние суббактериостатических концентраций тубазида на окислительные процессы и скорость размножения микобактерий

- туберкулеза / М.А. Промышлянская, Р.И. Шендерова // Труды Моск. науч.-исслед. института туберкулеза, 1975. – Т. 77. – С. 74 – 79.
225. Протодьяконова, Г.П. Эпизоотология туберкулеза животных в Якутии / Г.П. Протодьяконова, Н.Г. Павлов // Аграрный вестник Урала. - 2008 - № 1 -С. 52-54.
226. Процюк, Р.Г. Фармакокинетика изониазида у больных туберкулезом легких / Р.Г. Процюк, В.И. Петренко // Советская медицина. – 1985. - №3. – С. 94 – 98.
227. Рабухин, А.Е. Лечение больного туберкулезом / А.Е. Рабухин. – М., 1960. – 256 с.
228. Рабухин, А.Е. Химиотерапия больных туберкулезом / А.Е. Рабухин. – М., 1970. – 400 с.
229. Рождественский, И.К. Повышение молочной продуктивности коров на основе совершенствования племенного дела / И.К. Рождественский // Ветеринарный врач. - 2007. – С. 4 – 5.
230. Розин, Д.Г. Сравнительная оценка токсичности хлорпроизводных водородов жирного ряда по гексеналовому тесту на белых мышах / Д.Г. Розин // Фармакология и токсикология. –1964.- №4. - С. 73-78.
231. Ротов, В.И. Антибактериальні препарати для хіміопрофілактики експериментального туберкулеза телят / В.И. Ротов, В.М. Богаевский, М.Д. Рубан // Тваринство України. - 1964. - №11. – С. 36 – 38.
232. Ротов, В.И. Оздоровление крупного рогатого скота от туберкулеза с применением химиофилактики / В.И. Ротов, К.П. Чепуров, А.К. Чепуров // Эффективность мероприятий по борьбе с туберкулезом животных. – Киев, 1982. С. 99.
233. Ротов, В.И. Туберкулез сельскохозяйственных животных / В.И. Ротов, П.И. Кокуричев, П.Е. Савченко, Ю.А. Трач: – Киев: Урожай, 1978. – 273 с.
234. Ротов, В.И. Химиофилактика при оздоровлении хозяйств неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота / В.И. Ротов, П.Д. Турлай // Достижения науки и передовой опыт в сельском хозяйстве. – 1974. – Сер. 2. - №1. – С. 21 – 26.

235. Ротов, В.И. Химиопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота в неблагополучных и условно благополучных хозяйствах / В.И. Ротов, Р.И. Бассараб, Ю.А. Трач // Ветеринария. – 1974. – Вып. 39. – С. 9 – 10.
236. Ротов, В.И. Химиопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота / В.И. Ротов, А.И. Супруненко, В.П. Опанасенко и др. // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 142 – 144.
237. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 568.
238. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ /Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2 – изд., перераб. и доп. – М.: Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
239. Саджая, Л.А. Биохимическое обоснование путей снижения гепатотоксичности изониазида на основе сочетания с полисахаридами: Автореф. дис. канд. Фарм. Наук / Пятигорская гос. Фарм. Академия. – Пятигорск, 1999. – 21 с.
240. Саратиков, А.С. Желчеобразование и желчегонные средства / А.С. Саратиков, Н.П. Скакун: – Томск, 1977. – 98 с.
241. Сатторов, С.Ф. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота в общественном и частном секторе / Автореф. дис. .... канд. вет. наук. – Душанбе, 2012. – 23 с.
242. Сафарян, М.Д. Основы фтизиатрии: Учеб. Пособие / М.Д. Сафарян, Л.Т. Николаян, А.П. Геворкян // Изд. Ереванского мед. университета, 2010. – 128 с.
243. Сафин, М.А. Результаты экспериментального изучения и производственного испытания вакцины БЦЖ в комплексе противотуберкулезных мероприятий / М.А. Сафин // Сб. науч. тр. Казан. вет. ин-та. – Казань, 1984. – С. 6 – 16.

244. Сафин, М.А. Туберкулез сельскохозяйственных животных и меры борьбы с ним: Учебн. пособ. / М.А. Сафин. – Казань, 1982. – 74 с.
245. Сафин, М.А. Критерии снятия ограничений по туберкулезу при продолжительном выявлении реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота / М.А. Сафин, Ф.Г. Акберов, Р.С. Сибгатуллин// Уч.зап. КГАВМ. – 2002. – С. 110 – 114.
246. Сафин, М.А. Современные методы диагностики и меры борьбы с туберкулезом животных / М.А. Сафин, Г.З. Идрисов// Татарское кн. изд-во. – Казань, 1992. – 168 с.
247. Семенов, А.Д. Химиотерапия больных туберкулезом легких методом последовательного применения антибактериальных препаратов / А.Д. Семенов, М.А. Бабицкий, С.Б. Городний и др. // Современные проблемы туберкулеза. – 1962. – С. 131 – 132.
248. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов, К. Лапиш: – М., 1989. – С. 140 – 161.
249. Симонян, Л.К. Побочные реакции от туберкулостатических препаратов у взрослых больных туберкулезом легких по диспансерным данным / Л.К. Симонян. – М., 1968. – 56 с.
250. Скакун, Н.П. Сущность гепатотоксического действия изониазида / Н.П. Скакун, В.В. Шманько // Врачебное дело. – 1984. - №1. – С.49 – 52.
251. Скакун, С.П. К вопросу о гепатотоксичности изониазида / Н.П. Скакун, В.В. Шманько // Проблемы туберкулеза. – 1985. - №4. – С. 51 – 55.
252. Скибинский, Н.Д. Острое отравление тубазидом / Н.Д. Скибинский // Врачебное дело. – 1973. - №2. – С. 69 – 70.
253. Скорняков, С.Н. Эпидемическая ситуация по туберкулезу и результаты деятельности противотуберкулезной службы на Урале в 2013 году / С.Н. Скорняков, В.А. Подгаева, Н.В. Канавина, П.Л. Шулев // Фтизиатрия и пульмонология. – 2014. - № 1 (8). – С. 7-18.

254. Слепова, Р.И. Вопросы химиотерапии и диагностики туберкулеза / Р.И. Слепова, В.А. Бондарев // Тез. докл. науч. конф. фтизиаторов. – Казань, 1974. - №2. – С. 56 – 57.
255. Смирнов, Г.А. О токсичности фтивазида и тубазида / Г.А. Смирнов // Терапевтический архив. – 1963. – Т. 35. – Вып. 10. – С. 68 – 71.
256. Смирнов, Г.А. Препараты ГИНК в терапии больных туберкулезом / Г.А. Смирнов. – М.: Медицина, 1969. – 190 с.
257. Смолянинов, Ю.И. Специфическая профилактика туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота / Ю.И. Смолянинов, Н.Н. Кощев // Инфекционная патология животных / Сб. науч. тр. ВНИИБТЖ. – Омск, 2001. – С. 168 – 170.
258. Смолянинов, Ю.И. Эпизоотологическое обоснование оздоровления ферм крупного рогатого скота от туберкулеза методом замены поголовья /Ю.И. Смолянинов, Н.А. Шкиль// Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. – Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. Сибирское отделение. – Новосибирск, 1986. – С. 39 – 45.
259. Смолянинов, Ю.И. Экономика и организация противотуберкулезных мероприятий в животноводстве /Ю.И. Смолянинов, А.С. Донченко, И.В. Игнатенкова // Новосибирск, 2006. - 148 с.
260. Смолянинов, Ю.И. Экономическая эффективность оздоровительных мероприятий при туберкулезе крупного рогатого скота в Центральном федеральном округе России / Ю.И. Смолянинов, С.В. Лопунов // Диагностика, профилактика и лечение болезней животных: Сб. науч. Тр./ Россельхозакадемия. Сиб. отд-ние. ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2008. – С. 48 – 52.
261. Смолянинов, Ю.И. Экономическое значение туберкулеза крупного рогатого скота в Российской Федерации / Ю.И. Смолянинов, А.С. Донченко, В.Ф. Бордюг и др.// Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклеидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний. – Казань, 2005. – Ч.2. – С. 320 – 325.

262. Смолянинов, Ю.И. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Центральном федеральном округе России / Ю.И. Смолянинов, С.В. Лопунов // Диагностика, профилактика и лечение болезней животных / Россельхозакадемия. Сиб. отд-ние. ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2008. – С. 30 – 37.
263. Содиков, Э.С. Сравнительное действие тубазида и фтивазида на здоровых животных / Э.С. Содиков, Л.А. Гапонько // Фармакология и токсикология. – 1968. – Т. 31. - №3. – С. 348 – 350.
264. Сорокина, Т.Т. Изониазидовый (тубазидовый) психоз / Т.Т. Сорокина, А.В. Васильев // Здоровоохранение Белоруссии. – 1976. - №1. – С. 78 – 79.
265. Степанян, И.Э. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России / И.Э. Степанян, В.В. Пунга, М.А. Якимова, В.В. Ерохин // Вестник Российского государственного медицинского университета. - 2013. - № 5. – С. 101 – 105.
266. Ступников, А.А. Токсичность гербицидов и арборицидов и профилактика отравлений у животных / А.А. Ступников. – Л.: Колос, 1975. – С. 212 – 219.
267. Суханов, Д.С. Антиоксидантные свойства ремаксола, реамберина и адеметионина при лекарственных поражениях печени у больных на фоне противотуберкулезной терапии /Д.С. Суханов // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2013. - Т. 76. - № 4. - С. 45-48.
268. Тарасов, А.С. Взаимосвязь туберкулеза животных и человека / А.С. Тарасов// Меры борьбы с хроническими инфекциями в животноводческих комплексах. – Казань, 1986. – С. 54 – 55.
269. Таршис, М.Г. География болезней животных зарубежных стран /М.Г. Таршис// М.: Колос, 1971. – С. 61 – 81.
270. Теммере, В.А. Концентрация гидразида изоникотиновой кислоты в крови, внутренних органах и тканях экспериментальных животных и туберкулезных больных: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Рига, 1961. – 28 с.
271. Титаренко, Л.В. Медико-организационные мероприятия профилактики туберкулеза легких у работников железнодорожного транспорта /Л.В. Титаренко// Автореф. дис. .... канд. мед. наук. – Москва, 2011. – 24 с.

272. Томан, К. Туберкулез: выявление и химиотерапия. Вопросы и ответы / К. Томан. – М., 1980. – 158 с.
273. Торбин, И.М. Отравление тубазидом / И.М. Торбин, Е.В. Чернухина // Врачебное дело. – 1968. - №2. – С. 131 – 132.
274. Торбин, И.М. Отравление тубазидом / И.М. Торбин, Е.В. Чернухина // Врачебное дело. – 1968. – №2. – С. 131 – 132.
275. Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию ПДК промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы. Методические указания 1.1.578 – 96. Минздрав России. – М., 1997. – 16 с.
276. Тузова, Р.В. Туберкулез крупного рогатого скота, методы его диагностики и профилактики / Р.В. Тузова. – Минск: Урожай, 1978. – 95 с.
277. Удут, В.В. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на биоэнергетику и перекисное окисление липидов печени и содержание цитокинов в крови при экспериментальной патологии, вызванной изониазидом / В.В. Удут, А.И. Венгерский, В.Н. Буракова и др.// Эксперим. и клин. гастроэнтер. - 2012. - №6. – С. 47 – 52.
278. Урбан, В.П. Природа рецидивов туберкулеза крупного рогатого скота / В.П. Урбан // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 14 – 15.
279. Урбан, В.П. Современные проблемы эпизоотической науки в связи со специализацией, концентрацией и переводом животноводства на промышленную основу / В.П. Урбан // Актуальные проблемы эпизоотологии. – Казань, 1983. – С. 3- 4.
280. Ушакова, В.А. Обоснование состава и стандартизация лекарственного препарата, содержащего изониазид и этамбутола гидрохлорид / Автореф. дис. .... канд. фарм. наук. – Пятигорск, 2007. – 26 с.

281. Федосеев, В.С. Химиопрофилактика экспериментального туберкулеза морских свинок, вызванного микобактериями туберкулеза, выделенного от маралов / В.С. Федосеев, И.Н. Рубцова, Е.О. Омарбеков // Труды Алма-Атин. ЗВИ, 1976. – Т. 34. – С. 101 – 105.
282. Фест, Т. Влияние некоторых противотуберкулезных средств на ткань щитовидной железы / Т. Фест, А. Клемен и др. // Проблемы эндокринологии и гормонотерапии. – 1962. – Т. 8. - №3. – С. 40 – 46.
283. Фирсова, Л.П. Побочное действие туберкулостатических препаратов / Л.П. Фирсова. – Минск: Беларусь, 1971. – 128 с.
284. Фисенко, В. Противотуберкулезные средства: принципы действия, побочные эффекты и перспективы создания новых лекарственных препаратов / В. Фисенко // Врач. - 2006. №12. – С.30 – 35.
285. Хаертынова, И.М. Совершенствование ранней диагностики туберкулеза и особенности его течения у больных ВИЧ – инфекцией / И.М. Хаертынова // Автореф. дис. .... докт. мед. наук. – Москва, 2008. – 43 с.
286. Хазипов, Н.З. Туберкулез крупного рогатого скота / Н.З. Хазипов, М.А. Сафин, Г.З. Идрисов// КГАВМ. –Казань, 1997. – 176 с.
287. Хазипов, Н.З. Туберкулез крупного рогатого скота / Н.З. Хазипов, М.А. Сафин, Г.З. Идрисов// М.: Агропромиздат, 1985. – 138 с.
288. Хайкин, Б.Я. Комбинированный метод применения тубазида и вакцины БЦЖ в профилактике туберкулеза животных / Б.Я. Хайкин // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике, профилактике туберкулеза и бруцеллеза и меры борьбы с этими болезнями сельскохозяйственных животных: Матер. Всесоюзн. науч. конф. СибНИВИ. – Омск, 1980. – С. 148 – 152.
289. Хайкин, Б.Я. Лабораторная диагностика туберкулеза. Рекомендации / Б.Я. Хайкин, Н.М. Колычев: – Госагропром СССР. Всесоюзный НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных. Омск, 1988. – 65 с.

290. Хайкин, Б.Я. Принципы химиопрофилактики туберкулеза / Б.Я. Хайкин, А.Т. Кравец, В.А. Зубаткин // Земля Сибирская Дальневосточная. - 1983. - №3. – С. 44 – 45.
291. Хайкин, Б.Я. Профилактические свойства тубазида при экспериментальном туберкулезе морских свинок / Б.Я. Хайкин // Сборник науч. тр. СибНИВИ. – Омск, 1972. – Вып. 20 – С. 64 – 66.
292. Хайкин, Б.Я. Эффективность нового противотуберкулезного препарата при экспериментальном туберкулезе телят / Б.Я. Хайкин, А.Н. Литовченко, А.И. Сливкин и др. // Разработка средств и методов борьбы с туберкулезом животных. Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1990. – С. 64 – 70.
293. Хайкин, Б.Я. Перспективные методы оздоровления хозяйств от туберкулеза / Б.Я. Хайкин// Методы диагностики и профилактики бруцеллеза и туберкулеза животных: Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ, ВНИИБТЖ. – Омск, 1988. – С. 58.
294. Хайкин, Б.Я. Перспективные методы профилактики заболевания туберкулезом норок в звероводческих хозяйствах / Б.Я. Хайкин // Вет. мероприятия в животноводстве Сибири. – Новосибирск, 1973. – С. 81 – 82.
295. Хайкин, Б.Я. Система противотуберкулезных мероприятий (профилактика, диагностика и меры борьбы) в хозяйствах с разной эпизоотической ситуацией/ Б.Я. Хайкин, Л.М. Ходун // Система мер борьбы с туберкулезом с.-х. животных.- Новосибирск, 1991 .- С. 4-9.
296. Хайкин, Б.Я. Туберкулез пушных зверей / Б.Я. Хайкин // Западно-сибирское книжное издательство. Омское отделение, 1976. – 160 с.
297. Хайкин, Б.Я. Химиопрофилактика туберкулеза норок при экспериментальном и спонтанном заражении / Б.Я. Хайкин // Эпизоотология и профилактика инфекционных и паразитарных болезней животных: Сб. науч. работ СибНИВИ. – Омск, 1970. – Вып. 17. – С. 112 – 115.
298. Хальбаева, И.В. Терапия больных туберкулезом легких многокомпонентными лекарственными формами с фиксированными дозами

- изониазида, рифампицина и пиперазинамида / И.В. Хальбаева, В.А. Корякин, Г.Б. Соколова и др. // Туберкулез и экология. – 1995. - №1. – С. 41 – 44.
299. Хамзин, Р.А. Совершенствование диагностики, профилактики и мер ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота в зоне длительного неблагополучия: автореф. дис. .... докт. вет. наук: 16.00.03/ Хамзин Рафат Асванович. – Казань, 2006. – 40 с.
300. Хмельницкий, Г.А. Ветеринарная токсикология / Г.А. Хмельницкий, В.Н. Локтионов, Д.Д. Полоз: – М.: Агропромиздат, 1987. – С. 17 – 20.
301. Хожиматов, Х.О. Туберкулез, как глобальная медико-социальная проблема / Х.О. Хожиматов // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. - 2014. - № 5. – С.211 – 213.
302. Хоменко, А.Г. Химиотерапия туберкулеза легких / А.Г. Хоменко. – М.: Медицина, 1980. – 280 с.
303. Хонин, Г.А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине / Г.А. Хонин, С.А. Барашкова, В.В. Семченко: – Омск, 2004. – 196 с.
304. Церлюк, П.П. Токсико-аллергические поражения нервной периферической системы при туберкулезе легких / П.П. Церлюк // Врачебное дело. – 1974. - №5. – С. 16 – 19.
305. Челнокова, Н.В. Некоторые новые направления в проблеме предупреждения и лечения побочных реакций от изониазида у больных туберкулезом легких / Н.В. Челнокова, Р.У. Островская, Е.Ф. Тарасова и др. // Тр. Моск. НИИ туберкулеза. – 1982. – Т. 90. – С. 84 – 89.
306. Чепуров, К.П. Химиопрофилактика туберкулеза у телят при экспериментальном заражении / К.П. Чепуров, К.П. Михайлова, Е.С. Сапрыкина // Труды НИВИ Душанбе, 1977. – Т. 7. – С. 40 – 42.
307. Чепуров, К.П. Химиопрофилактика туберкулеза крупного рогатого скота / К.П. Чепуров // Полтава, 1978. – 32 с.
308. Чуканов, В.И. Основные принципы лечения больных туберкулезом легких / В.И. Чуканов // Русский медицинский журнал. - 1998. - №17. – С. 1138.

309. Чуканов, В.И. Проблема излечения больных туберкулезом органов дыхания / В.И. Чуканов // Русский медицинский журнал. - 2001. - №21. – С. 954 - 956.
310. Шебанов, Ф.В. Туберкулез /Ф.В. Шебанов// М.: Медицина, 1976. – 464 с.
311. Шевченко, Ю.Л. Борьба с туберкулезом в России на пороге XXI века / Ю.Л. Шевченко // Проблемы туберкулеза. – 2000. – № 3. – С. 2–6.
312. Шендерова, Р.И. Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Волленберга / Р.И Шендерова // Лабораторное дело. – 1975. - №2. – С. 114 – 115.
313. Шефер, Л.Б. Экономическая эффективность противотуберкулезных мероприятий /Л.Б. Шефер // М.: Медицина, 1977. – 138 с.
314. Шефер, Л.Б. Экономический ущерб от заражения возбудителем туберкулеза бычьего вида и экономическая эффективность его профилактики /Л.Б. Шефер, Р.А. Агзамова // Организация противотуберкулезных мероприятий на эпизоотически неблагополучных территориях. – Новосибирск, 1987. – С. 76 – 77.
315. Шефер, Л.Б. Экономический ущерб, наносимый смертностью от туберкулеза и экономический эффект от его снижения: Буклет: Казах. НИИ туберкулеза /Л.Б. Шефер, Ш.А. Конкаева // Алма-Ата, 1986. – 10 с.
316. Шилова, М.В. Туберкулез в России в 2004 году / М.В. Шилова // М., Форум, 2005. – 108 с.
317. Шилова, М.В. Эффективность лечения больных туберкулезом на современном этапе / М.В. Шилова, Т.С. Хрулева// Проблемы туберкулеза. - 2005. - №3. – С. 3 – 11.
318. Шиндлер, Е.М. Эффективность мероприятий по профилактике туберкулеза у животноводов неблагополучных ферм /Е.М. Шиндлер// Организация противотуберкулезных мероприятий на эпизоотически неблагополучных территориях. – Новосибирск, 1987. – С. 69 – 70.
319. Шишков, В.П. Туберкулез животных, методы диагностики и профилактики / В.П. Шишков, С.П. Качанова, А.В. Ткачев-Кузьмин// М., 1986. – 43 с.

320. Шишков, В.П. Туберкулез сельскохозяйственных животных / В.П. Шишков, В.П. Урбан и др. // М.: Агропромиздат, 1991. – 255 с.
321. Шмелев, Н.А. О пиридоксиновой недостаточности у больных туберкулезом при антибактериальной терапии / Н.А. Шмелев, М.А. Крашенникова, Г.С. Ключкова и др. // Клиническая медицина. – 1974. - №12. – С. 21 – 27.
322. Шмелев, Н.А. Побочное действие противотуберкулезных препаратов / Н.А. Шмелев, Э.С. Степанян: – М.: Медицина, 1977. – 263 с.
323. Шмелев, Н.А. Побочные явления от антибактериальных препаратов при туберкулезе и методы их устранения / Н.А. Шмелев // Советская медицина. – 1960. - №5. – С. 43 – 47.
324. Шмелев, Н.А. Цитологический анализ крови и его значение при туберкулезе / Н.А. Шмелев. – М.: Медгиз, 1959. – 150 с.
325. Шуршуков, Ю.Ю. Мониторинг состояния здоровья сельского населения Липецкой области / Ю.Ю. Шуршуков, В.Х. Мурузов // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. - 2006. - №1. - С. 4445.
326. Щелканов, К.Г. Сравнительная характеристика гистологических изменений в органах телят, вакцинированных БЦЖ и получавших тубазид / К.Г. Щелканов, А.И. Аверихин // Туберкулез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним. Сб. науч. трудов. – Новосибирск, 1986. – С. 114 – 119.
327. Щелкунов, Е.Л. Интегральное действие психотропных лекарств на баланс холино-, адрено- и серотонинэргических процессов как основа их терапевтического действия и поведенческих эффектов / Е.Л. Щелкунов // 2-ой Всеросс. съезд невропатологов и психиатров: Материалы к съезду. – М., 1967. – С. 553 – 555.
328. Щеткин, А.А. Влияние изониазида на организм крупного рогатого скота / А.А. Щеткин // Фармакорегуляция физиологических процессов высокопродуктивных животных. Сб. науч. тр. МВА, 1983. – С. 118 – 120.
329. Щеткин, А.А. Концентрация тубазида в сыворотке крови крупного рогатого скота при разных методах парентерального введения / А.А. Щеткин, Л.Н. Бабина, С.П. Булавин и др // Инфекционные болезни сельскохозяйственных

- животных. Сб. науч. тр. Сиб. отд. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1983. – С. 40 – 42.
330. Щеткин, А.А. Отравление телят тубазидом / А.А. Щеткин, В.И. Плаксин, Ф.Н. Валеев и др. // Ветеринария. – 1984. - №11. – С. 65 – 66.
331. Юнг, Д.Б. Стратегии разработки новых препаратов / Д.Б. Юнг // Туберкулез патогенез, защита, контроль. – М.: Медицина, 2002. – С. 606 – 612.
332. Юсковец, М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец // Минск: Сельхозгиз, 1963. – 449 с.
333. Янкуненс, Н.Ю. Исследование концентрации препаратов группы ГИНК в крови и моче больных туберкулезом при однократной и фракционной их дозировке / Н.Ю. Янкуненс // III съезд фтизиатров Лит. ССР. – Вильнюс, 1966. – С. 103 – 105.
334. Ярбаев, Н. Индикация микобактерий туберкулеза в объектах внешней среды / Н. Ярбаев // Методы и средства борьбы с инфекционными болезнями животных. - Душанбе, 1984. - С. 14 - 18.
335. Ярбаев, Н. Туберкулез крупного рогатого скота в Республике Таджикистан. Автореф. дис. д. вет. н. Новосибирск, 1993. - 38 с.
336. Яценков, А.И. Гепатопротективное действие полярных липидов пантов марала и торфа при экспериментальном поражении печени изониазидом и парацетамолом / А.И. Яценков// Бюллетень сибирской медицины, 2013. – Т. 12. - №1. – С. 80 - 85.
337. Ященко, Б.П. Этиопатогенетическая терапия больных туберкулезом легких в пожилом и старческом возрасте / Б.П. Ященко, В.Г. Мясников: – Киев, 1982. – 228 с.
338. Alonge D.O., Ayanwale F.O. Economic impotence of bovine tuberculosis in Nigeria // J. Anim. Prod. Res., 1984. - №2. – P. 165 – 170.
339. Angel R. The direct antithyroid action of para-aminosalicylic acid and isoniazid / R. Angel, S. Mayer, M. Morton // American Review of Tuberculosis. – 1955. – V.71. – P. 889 – 991.

340. Argyrou A. Proteome-wide profiling of isoniazid targets in *Mycobacterium tuberculosis* / A. Argyrou, L. Jin et al. // *Biochemistry*, 2006. - V. 45. – P. 13947–13953.
341. Austerhoff A. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* / A. Austerhoff, U. Kindler, P. Knop: – Berlin, 1974. – Bd.99. – S. 1182 – 1188.
342. Awad Y.L. Isonicotinul hidrazine and oestrous cycle in the albino rat / Y.L. Awad // *Egypt. Med. Assoc.* – 1965. – V.48. - №8 – 9. – P. 578 – 582.
343. Badialli L. Ulteriore ricerche sulla Chimioprofilassi isoniazidica della tubercolosi bovina. Potenziamiento della difesa antituberculare validianche a diatauzodi tempo della cessazione del Trattamento ciclico // *Rev. Tuberc. Appl. Resp.* – 1962. – V.10. - №1. – P. 3 – 31.
344. Badu Swai O. Controlled Clinical trial of a regimen of two Durations for the Treatment of Isoniasid resistant pulmonary tuberculosis / O. Badu Swai, J.A. Aluoch, W.A. Githui et al. // *Tubercule.* – 1988. - №69. – P. 5 – 14.
345. Bahre G. *Verhandlungen der deutschen Otorhinologischen Gesellschaft in Medizinische* / G. Bahre, R. Kley, H. Holzner: – 1975. – Bd.81. – V.10. - №1. – P. 3 – 31.
346. Barry C.E. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies/ C.E. Barry, H. I. Boshoff, V. Dartois, T. Dick et al. // *Nature Reviews Microbiology.* - 2009. - Vol.7 - N12. - P. 845-855.
347. Bartmann K. Tierexperimentelle Untersuchungen zur einer intermittierend Chemotherapie und Prophylaxe der Tuberculose / K. Bartmann // *Beiträge zur Klinik Tuberculose.* – 1958. – V.11. - №82. – P. 87 – 101.
348. Benson W.M. Pharmacologic and Toxicologic Observations on Hydrazine Derivatives of Isonicotinic Acid / W.M. Benson, P.L. Stefkó, M.D. Roe // *Amer. Rev. Tuberc.* – 1952. – V.65. - №4. – P. 376 - 391.
349. Biehl J.P. Effect of Isoniazid on Vitamin B<sub>6</sub> Metabolism: Its Possible Significance in Producing Isoniazid Neuritis / J.P. Biehl, R.M. Vilter // *Proc. Soc. Exp. Biol. med.* – 1954. – V. 85. – №3. – P. 389 – 392.

350. Biehl J.P. Studies on the use of a high dose of isoniazid. – Toxicity Studie / J.P. Biehl, H.J. Nimitz // Amer. Rev. Tuberc. – 1954. – V.70. - №3. – P. 430 - 441.
351. Biour M. Therapie / M. Biour, I.D. Hamel, I. Wiessenburger: – 1984. – V.39. - №5. – P. 501 – 502.
352. Black M. Isoniazid-Associated Hepatitis in 114 Patiente / M. Black, J.R. Mitchell, H.J. Zimmerman, K.G. Ishak // Gastroenterologia. – 1975. – V.69. - №2. – P. 289 - 302.
353. Bloss E. Побочные проявления, связанные с лечением туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, Латвия, 2000–2004 гг. /E. Bloss, L. Kukša, T. N. Holtz, et al.// Туберкулез и легочные заболевания. - 2011. - №1. – Т. 2. – С. 126 – 135.
354. Brochart M. La lutte contre les maladies animales en France an cours des 15 dernieres annees vue au travers de la prophylaxie de la tuberculosis bovino / M. Brochart, I. Fayet, I. Barnouin// Fminal. de Recherches Vet., 1979. - №4. – P. 575 – 592.
355. Brouet G. Les complications d'ordre metabolique et endocrinise produites par la chimiotherapie antibacillare / G. Brouet, J. Marche // Rev. Tuberc. Paris. – 1964. - V.28. – P. 5 – 64.
356. Caminero J.A. Extensively drug-resistant tuberculosis: is its definition correct (Correspondence) / J.A. Caminero // Eur Respir J, 2008. - V. 32. – P. 1413–1415.
357. Caminero J.A. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью: эпидемиология, факторы риска и выявление случаев / J.A. Caminero // Туберкулез и легочные заболевания. - 2011. - №1. – Т. 2. – С. 33 – 45.
358. Chibault P.H. Presse Medic / P.H. Chibault. – 1973. – V.2. – P. 45 – 46.
359. Cochi V. Farmacorcsistenza attuatale ei micobacterio tuberculare / V. Cochi, R. Pajellom, F. Rossi // Riv. Patal. clin. Tuberc. – 1987. – V.58. - №4. – P. 399 – 405.
360. Dawson (1926) цит. по Маланину Л.П. и др. Ветеринарные препараты: Справочник под ред. Третьякова А.Д. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 250 – 258.

361. Denes L. A szarvasmarha-gumocor heluzete Maguar-ozszagon / L. Deneser//  
Maguar Allatorvosok Lapya, 1983. – V.38. - №4. – P. 195 – 201.
362. Dufour A.P. Genetic of Isoniazid Metabolism in Cancasian, Negro and Japanese  
Populations / A.P. Dufour, R.A. Knight, H.W. Harris // Science. – Washington. –  
1964. – V.145. – P. 391.
363. Evans D.A. Genetic Control of Isoniazid Metabolism in Man / D.A. Evans, K.A.  
Manley et al. // British Medical. – London, 1960. – V.2. – P. 485 – 491.
364. Evans D.A. Medicines et Hygiene / D.A. Evans. – 1962. – V.20. – P. 905 – 908.
365. Garattini S. Pharmacologikal studies on I.N.H. / S. Garattini, C. Grassi, P.  
Montegazza et al // Atti Lombarda Sci medbiol. – 1952. - №1. – P.1.
366. Ghilardi G. Le malattie degli animali: un Lanno socioeconomic che puo prevenire /  
G. Ghilardi // L Inform. Agrario, 1982. – V.38. - №41. – P. 22865 – 22867.
367. Ghosh C.S. Adverse events during therapy for multidrug resistant tuberculosis in a  
tertiary care setting / C.S. Ghosh, J. Thomas, D. Prabhu, et al. // Pulmon, 2007. –  
V. 9. – P. 23 – 28.
368. Goble M. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to  
isoniazid and rifampin / M. Goble, M.D. Iseman, L.A. Madsen, et al. // N Engl J  
Med, 1993. – V. 328. – P. 527 – 532.
369. Greenblatt I.J. Clinical Toxicity studies of a monoamine oxidase inhibitors / I.J.  
Greenblatt, A. Kahn // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1959. - №80. – P. 947 – 959.
370. Grosset J. Mechanism of action of antituberculosis drugs in standard and short-  
course chemotherapy regimens / J. Grosset // Pneumoftiziologia. – 1985. – V.34. -  
№2. – P. 108 – 115.
371. Guillerman J. Poumon et le Cocur / J. Guillerman. – 1964. – V.20. - №2. – P. 173 -  
197.
372. Güngör G. Side effects associated with the treatment of multidrug-resistant  
tuberculosis / G. Güngör, I. Ozmen, Y. Bölükbasi, et al. // Int J Tuberc Lung Dis,  
2005. - V 9. – P. 1373–1377.
373. Hannegren A. Scand. J. Resp. Dis / A. Hannegren, O. Borga, F. Sjogvist: – 1970. –  
V.51. – P. 61 – 69.

374. Harimann-Helming A. Vorbeugende Tuberculose-bekämpfung (INH – Chemoprävention bei Tuberkuloseinfektion) // Jnand. Dessert. Erland. Doctor Wiirdle Bork. – Westfalen, 1977. – 705.
375. Hazbon M.H. Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis / M.H. Hazbon, M. Brimacombe, M. Bobadilla et al. // Antimicrob Agents Chemother. - 2006. - V. 50. – P. 2640–2649.
376. Healing T. TB across the globe Tuberculosis in Russia / T. Healing, G. Peremetin, T. Lyagoshina et al. // Scot Med. J. -2000. -V. 45. - P. 14 - 15.
377. Heifets L. Clinical mycobacteriology laboratory / L. Heifets, E. Desmond// Tuberculosis and the tubercle bacillus. Washington DC, USA: ASM Press, 2005. – P. 49 – 70.
378. Heifets L. Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis a neglected problem at the term of the century 11 Int. J. / L. Heifets, G. Cangelosi/ Tuberc. Lung Dis. - 1999. -V. 3. - P. 564 - 581.
379. Heym B. Missense mutations in the catalase-peroxidase gene, katG, are associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis / B. Heym, P.M. Alzari, N. Honore et al. // Mol Microbiol. - 1995. –V. 15. P. 235–245.
380. Iwainsky H. Die acute Isoniazid-Vergiftung. Angriffspunkte in Makroorganismus. Symptome und Massnahmen zur Behandlung / H. Iwainsky, W.D. Wiezorek // Klin. Tuberk. – 1965. – V.131. - №5. – P. 315 - 330.
381. Jeanne C. Intoxication alque par lisoniazide / C. Jeanne// La Presse Medicale. – Paris, 1965. – V.73. - №51. – P. 2933 - 2936.
382. Jollons D.I. Pharmacol. exp. Therap / D.I. Jollons, I.R. Mitchell, W.Z. Potter. et al. – 1973. – V.187. – P. 195 – 202.
383. Killam K.F. Convulsant hydrazides: in vitro and in vivo inhibition of vitamin B<sub>6</sub> enzymes by convulsant Hydrazides / K.F. Killam, J.A. Bain // J. Pharmacol. exp. Therap. – 1957. – V. 119. – P. 255 – 262.
384. Klee P. Die Behandlung der Tuberkulose mit Neoteben (Isonikotinsäurehydrazid) / P. Klee // Deutsche med. Wschr. – 1952. - №18. – P. 578.

385. Kleeberg H.H. South African Vet. Med. Ass / H.H. Kleeberg: – 1959. – V.30. – P. 69.
386. Lahaye I. Le point la tuberculosis // Le Jornal des USA, 1982. – V.22. - №16. – P. 6.
387. Lee S. Anti – tuberculosis drug – induced hepatitis / S. Lee, L. Chung, H. Huang et al.// Int J Tuberc Lung Dis. - 2010. - V. 14. №5. – P. 622 – 626.
388. Lim R. A method for the evalution of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R. Lim, K. Rink, H. Glass et al // Arch. intern. Parmacoolyn. – 1961. – V.130. – P. 336 – 335.
389. Lipnicki I. Zwalczenie gruzlicy w roznych krajach w Polsce / I. Lipnicki // Med. Vet., 1961. - №4.- P. 212 – 220.
390. Long E.R. A controlled investigation of streptomycin treatment in pulmonary tuberculosis / E.R. Long, S.H. Ferebee // Public Health Rep. - 1950. – V. 65. – P. 1421–1451.
391. Mackaness G. The action of isoniazid on intracellular tubercle bacill / G. Mackaness, P. Smith // Amer. Rev. Tuberc. – 1952. – V.66. - №2. – P. 125.
392. Meissner J. Situatia epidemiologica a rezistentei primare la tuberculostaticele mojere si de rolen / J. Meissner // Ftiziologica. - 1967. - №3. – P. 217 – 221.
393. Middlebrook G. Isoniazid resistance and catalase activity of tubercle bacilli / G. Middlebrook // Am Rev Tuberc. - 1954. V. 69. – P. 471–472.
394. Mikusov K. Biogenesis of the mycobacterial cell wall and the site of action of ethambutol. / K. Mikusov, R. Slayden, G. Besra et al. //Antimicrob Agents Chemother. - 1995. –V. 39. – P. 2484–2489.
395. Mitchell J.R. Clin. Pharmacol. Ther / J.R. Mitchell, U.P. Thorgeirsson, M. Black et al. – 1975. – V.18. – P. 70 – 75.
396. Mitchell J.R. Metabolic activation of drugs to toxic substances / J.R. Mitchell, D.J. Jollow. – Gastroenterology. - 1975. – V.68. – P. 392 – 410.
397. Mitchison D.A. Mechanisms of drug action in short-course chemotherapy / D.A. Mitchison // Bull. int. Un. Tuberc. – 1985. – V.60. - №1/2. – P. 34 – 37.

398. Mitchison D.A. The action of anti-tuberculosis drugs in short course chemotherapy / D.A. Mitchison // *Tubercle*. - 1985. - V. 66. – P. 219–225.
399. Mordasini E.R. Allegemeine Nebenwirkungen / E.R. Mordasini, J. Eulenberger // *Jut. Z. Klin. Pharmacol. Therap. und. Toxicol.* – 1972. – Bd.5. - №4. – S. 499 – 518.
400. Moretti B. Sull attivita preventiva antituberculare nel vit ello dell inrazone del acido isonicotinico / B. Moretti, B. Pedini // *Nouva veterinaria*. – 1953. – №29. – P. 322 – 324.
401. Muhlberger G. Ofloxacin-cycloserin-prothionamide-INH combination against treatment refractory lung tuberculosis // *Pneumologie*. 1995. - V. 49. - P. 72 - 76.
402. Nelson S.D. Metabolic activation and drug toxicity / S.D. Nelson. – *Med. Chem.*, 1982. – V.25. – P. 753 – 765.
403. Olivas A. Bulletin de Lu Union internationale contra la tuberculose / A. Olivas. – 1964. – B.35. – P. 142 – 146.
404. Ormerod L.P. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*; a survey over 25 years in Blackburn / L.P. Ormerod, J.M. Harrison, P.A. Wright // *Therax*. – 1986. - V.41. - №12. – P. 946 – 950.
405. Oxlade O. Глобальные тенденции заболеваемости туберкулезом: отражение перемен в противотуберкулезной работе или в состоянии здоровья населения / O. Oxlade, K. Schwartzman, M.A. Belir, A. Benedetti et al. // *Международный журнал «Туберкулез и легочные заболевания»*, 2011. - №1. – Т. 2. – С. 107 – 119.
406. Patiala J. Experimental studies of Thyroid Gland Reaction during Treatment with Pam-Aminosali-cylic Acid, Digidrostreptomycin, Isoniazid anal viosin / J. Patiala, A. Isoloto // *Ann. Med. exp. Fenn.* – 1955. – V.33. - №12. – P. 25 - 32.
407. Pessaure D. *Agressologie* / D. Pessaure. – 1982. – V.23. – P. 13 – 15.
408. Pessaure D. Les metabolites reactifs des xenobiotiques leur role dans l'hepatotoxicite des medicaments / D. Pessaure, J. Benhamou // *C. R. Soc. biol.*, 1979. – V.173. – P. 458 – 468.

409. Pfeifer K. Effect of reserpine on the metabolic centres / K. Pfeifer, E.Sz. Vizi, E. Satoru // *Arct. intern. pharmacodyn et therap.* – 1964. – B.149. - №1 – 2. – P. 126 – 135.
410. Pfyffer G. Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan /G. Pfyffer, A. Strassle, T. Gorkum et al. // *Emerg. Infect. Dis.* - 2001. -V. 7.-P. 855 - 861.
411. Poulson E. The Effect of Amine Oxidase Inhibitors on Pregnancy / E. Poulson, J.M. Robson // *Endocrinol.* – 1963. – V.27. - №2. – P. 147 - 155.
412. Rawat R. The isoniazid-NAD adduct is a slow, tight-binding inhibitor of InhA, the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl reductase: adduct affinity and drug resistance / R. Rawat, A. Whitty, P. Tonge // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2003. -V. 100. P. 13881– 13886.
413. Rosati T. L'isoniazide nella profilassi della tubercolosi bovina / T. Rosati // *Riv. tuberc. e malattie appar. respir.* – 1957. – V.5. - №4. – P. 337 – 346.
414. Rosati T. L'isoniazide nella profilassi della tubercolosi bovina / T. Rosati // *Veterin. italiana.* – 1959. – V.10. - №6. – P. 446 – 468.
415. Rubin B. Further observation on the pharmacology of isoniazid in the dog / B.Rubin, J. Burke // *Pharmacol. Exptl. Therap.* – 1953. – V.107. – P. 219.
416. Rubin B. Pharmacology of Isonicotinic Acid Hydrazide / B.Rubin, G. Hassert, B. Thomas, J. Burke // *Amer. Rev. Tuberc.* – 1952.– V.65. - №4. – P. 392 - 401.
417. Sauvaget J. Poumon. et le Coeur / J. Sauvaget, I. Sainte-Laudy, A. Canavate: – 1979. – V.35. – P. 287 – 292.
418. Scorpio A. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the anti-tuberculous drug pyrazinamide in *tubercle bacillus*/ A. Scorpio ,Y. Zhang // *Nat Med.* - 1996. – V. 2. – P. 662–667.
419. Shin S.S. Adverse reactions among patients being treated for MDR-TB in Tomsk, Russia / S.S. Shin, A.D. Pasechnikov, I.Y. Gelmanova, et al. // *Int J Tuberc Lung Dis.* - 2007. – V. 11. – P. 1314– 1320.
420. Steenken W. Antituberculosis properties of hydrazines of isonicotinic acid / W. Steenken, E. Wolinsky // *Amer. Rev. Tuberc.* – 1952.– V.62. - №4. – P. 365.

421. Stone G. Clin. exp. Pharmacol. Physiol / G. Stone, M. Rose, A. Ryan et al. – 1979. – V.6. – P. 143 – 176.
422. Straka J. Chemoprofulaxe INH u telat v procesu eradikace tbc shotu ve velkovy robnich podminkach / J. Straka // Vet. Med. (Praha). – 1968. – R.13. - C. 10. – P. 545-550.
423. Straub F. Bicimia Medicina Konyvkiado / F. Straub. – Budapest. – 1975. – P. 772.
424. Takayama K. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in Mycobacterium smegmatis / K. Takayama, J. Kilburn // Antimicrob Agents Chemother. - 1989. - V. 33. – P. 1493–1499.
425. Telenti A. Detection of rifampicin-resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis / A. Telenti, P. Imboden, F. Marchesi et al. // Lancet. - 1993. –V. 341. – P. 647–650.
426. Telenti A. The emb operon, a unique gene cluster of Mycobacterium tuberculosis involved in resistance to ethambutol / A. Telenti, W.J. Philipp, S. Sreevatsan et al. // Nature Med., 1997. – V. 3. – P. 567–570.
427. Timbrell J.K. Clin. Pharmacol. Ther. / J.K. Timbrell, J.M. Wright, T.A. Baillie: - 1977. – V.22. – P. 602 – 608.
428. Timmins G.S. Nitric oxide generated from isoniazid activation by KatG: source of nitric oxide and activity against Mycobacterium tuberculosis / G.S. Timmins, S. Master, F. Rusnak et al // Antimicrob Agents Chemother. - 2004.- V. 48. P. 3006–3009.
429. Tokayama K. Selective action of isoniazid on the synthesis of cell wall micolatesin mycobacteria / K. Tokayama // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1974. – №235. – P. 426 – 438.
430. Tokayama P. Effect of isoniazid on the in vivo mycolic acid synthesis, cell growth, and viability of Mycobacterium tuberculosis / P. Tokayama, L. Wand, Y.D. David // Antimicrob. Agents Chemoter. - 1972. – V.2. - №1. – P. 29 – 35.
431. Torossian A. A prospective study of multiple drug-resistant tuberculosis in Plovdiv region, Bulgaria 1989-2004 / A. Torossian, I. Gaidarova, V. Hodger // Europ. Respir. J. - 2006. - V. 28.- Suppl. 45. - P. 45.

432. Toungousova O.S. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in the Archangels, Russia / O.S. Toungousova, D.A. Caugant, P. Sandven et al. // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* - 2002. -V. 6. - P. 405-414.
433. Tsukamura M. A comparative study of the susceptibilities to antituberculosis agents between *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex strains / M.A. Tsukamura // *Kekkaku.* – 1987. – V.62. - №6. – P. 345 – 349.
434. Valette L. Propostions pour une prophylaxie de la tuberculose adaptee a differentes situations epidemiologues / L. Valette // *Symposium tuberculose.* – Lyon, 1984. – 6 p.
435. Valzelli V. *Neurochemical.* New. York / V. Valzelli, S.J. Giarattini: – 1968. . – V.15. – P. 259 - 266.
436. Villegas D.M. *Bull. Office internat. epizooties* / D.M. Villegas.- 1965. - №10. – P. 1475 – 1488.
437. Vivien J. *Rev. Tuberc.* / J. Vivien, R. Thibier, A. Lepeuple, H. Bricaire, P. Pesant: - 1960. – V.24. - №2 – 3. – P. 377 – 368.
438. Wade M.M. Effects of weak acids, UV and proton motive force inhibitors on pyrazinamide activity against *Mycobacterium tuberculosis* in vitro/ M.M. Wade, Y. Zhang // *J. Antimicrob Chemother.* - 2006. – V. 58. – P. 936–941.
439. Wade M.M. Anaerobic incubation conditions enhance pyrazinamide activity against *Mycobacterium tuberculosis* / M.M. Wade, Y. Zhang // *J. Med Microbiol.* - 2004. - V. 53. - P. 769–773.
440. WHO Tuberculosis Fact sheet №104 [Electronic resource] // World Health Organization [Official website]. 2012. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/> (accessed: 12.07.2011).
441. Wigle W.D. Bovine tuberculosis ia Haumans in Ontario/ W.D. Wigle, M.F. Ashleu // *Amer. Rev. Resp. Dis.* - 1972. – V. 106. - №4. – P. 528 – 534.
442. Williams D.L. Contribution of *rpoB* mutations to development of rifamycin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / D.L. Williams, L. Spring, L. Collins et al. // *Antimicrob Agents Chemother.* - 1998. – V. 42. –P. 1853–1857.

443. Willson (1965) цит. по Маланину Л.П. и др. Ветеринарные препараты: Справочник под ред. Третьякова А.Д. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 250 – 258.
444. Winder F.G. Inhibition of isoniazid of synthesis of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis* / F.G. Winder, P.B. Collins // *J. Gen. Microbiol.* – 1970. – V.63. - №1. – P. 41 – 48.
445. Winder F. Mode of action of the antimycobacterial agents and associated aspects of the molecular biology of mycobacteria / F. Winder // In: Ratledge C, Stanford J, eds. // *The biology of mycobacteria*. New York, USA. - 1982. – P. 354–438.
446. Wolucka B. Recognition of the lipid intermediate for arabinogalactan/arabinomannan biosynthesis and its relation to the mode of action of ethambutol on mycobacteria / B. Wolucka, M. McNeil et al. // *J. Biol. Chem.* - 1994. – V. 269. – P. 23328–23335.
447. World Health Organization. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report no. 4. WHO/ HTM/TB/2008.394. Geneva, Switzerland: WHO, 2008. - P. 1– 120.
448. Yoshikawa T.T. Antituberculous drugs / T.T. Yoshikawa, N.K. Fujita // *Med. Clinics of North America.* – 1982. – V.66. - №1. – P. 209 – 219.
449. Zhang Y. Genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In: Hatfull G, Jacobs W R, eds. *Molecular genetics of mycobacteria* / Y. Zhang, A. Telenti // Washington DC, USA. - 2000. – P. 235 – 254.
450. Zhang Y. The curious characteristics of pyrazinamide: a review / Y. Zhang, D. Mitchison // *Int J. Tuberc Lung Dis.* - 2003. – V. 7. – P. 6–21.
451. Zhang Y. Механизмы развития лекарственной устойчивости у *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Zhang, W. Yewt // *Туберкулез и легочные заболевания.* - 2011. - №1. – Т. 2. – С. 7 – 20.
452. Zhong M. Growth of rifampindependent *Mycobacterium tuberculosis* in conditions without rifampin / M. Zhong, Y. Wang, C. Sun et al. // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* - 2002. – V. 25. – P. 588–590.

453. Zignol M. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis / M. Zignol, M.S. Hosseini, A. Wright, et al. // *J Infect Dis.* - 2006. - V. 194. – P. 479– 485.
454. Zolcinski A. Wewna trzmaciczne obomarcie plodu spowodowane otoswaniem v ciezarnej hydrazydu kwasu isonikotynowege / A. Zolcinski. – *Ginecol. Polska.* – 1962. – V.33. - №6. – P. 861 – 865.
455. Zolotarev Yu.A. Solid State Isotope Exchange with Spillover Hydrogen in Organic Compounds/Yu.A. Zolotarev, A.K. Dadayan, Yu.A. Borisov//. *Chemical Reviews.*- 2010. – P. 5425-5446.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2281939

**СОЛЬ БИС(ОКСИМЕТИЛ)ФОСФИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
С ГИДРАЗИДОМ ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
(ТУБОФЕН), ОБЛАДАЮЩАЯ  
ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ, И  
СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ**

Патентообладатель(ли): *Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН (ИОФХ КазНЦ РАН) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2005108467

Приоритет изобретения 25 марта 2005 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 августа 2006 г.

Срок действия патента истекает 25 марта 2025 г.

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам*



*Б.И. Симонов*

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 281 939** <sup>(13)</sup> **C1**

(51) МПК  
C07D 213/86 (2006.01)  
C07F 9/30 (2006.01)  
A61K 31/44 (2006.01)  
A61K 31/662 (2006.01)  
A61P 31/06 (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005108467/04, 25.03.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
25.03.2005

(45) Опубликовано: 20.08.2006 Бюл. № 23

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2044728 C1, 27.09.1995, RU 2080114  
C1, 27.05.1997, US 2838914, 17.06.1958, GB  
1058098, 25.01.1967, GB 774684, 15.05.1957,  
RU 2158735 C1, 10.11.2000.

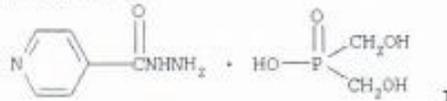
Адрес для переписки:  
420088, г.Казань, ул. Арбузова, 8, ИОФХ им.  
А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, патентный отдел,  
А.А. Гурылевой

(72) Автор(ы):  
Фаттахов Саитгарей Галаувич (RU),  
Мингалеев Данил Наильевич (RU),  
Сафин Марат Абдрахманович (RU),  
Резник Владимир Савич (RU),  
Зелялов Ильдар Надырович (RU),  
Тремасов Михаил Яковлевич (RU),  
Конвалов Александр Иванович (RU),  
Визель Александр Андреевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):  
Институт органической и физической химии им.  
А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН  
(ИОФХ КазНЦ РАН) (RU)

## (54) СОЛЬ БИС(ОКСИМЕТИЛ)ФОСФИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ГИДРАЗИДОМ ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ТУБОФЕН), ОБЛАДАЮЩАЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ, И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:  
Описывается соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты с гидразидом изоникотиновой кислоты формулы I:



Описывается также способ получения соединения формулы I. Технический результат заключается в снижении токсичности противотуберкулезного средства при сохранении высокой терапевтической эффективности и отсутствии местной и общей реактогенности средства при лечебной дозе, 2 н. и 1 з.л. ф-лы, 3 ил., 9 табл.

RU 2 281 939 C1

RU 2 281 939 C1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2424235

**ИЗОЦИАНУРАТЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ  
ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Патентообладатель(ли): *Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук (RU), Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Казанская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № **2009148531**

Приоритет изобретения **25 декабря 2009 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **20 июля 2011 г.**

Срок действия патента истекает **25 декабря 2029 г.**

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам*



*Б.П. Симонов*

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 424 235** <sup>(13)</sup> **C1**

(51) МПК  
C07D 251/34 (2006.01)  
C07D 251/30 (2006.01)  
A61P 31/06 (2006.01)

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2009148531/04, 25.12.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
25.12.2009

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2009

(45) Опубликовано: 20.07.2011 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2159769 C2, 27.11.2000. SU 487888 A,  
25.06.1976. SU 563418 A, 08.12.1977. SU 566839  
A, 10.09.1977. US 4512797 A, 23.04.1985. EP  
0422461 A2, 17.04.1991.

Адрес для переписки:

420088, Республика Татарстан, г.Казань, ул.  
Ак. Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова  
КазНЦ РАН, патентный отдел, М.К.  
Лучшевой

(72) Автор(ы):

Фаттахов Саитгарей Галлявич (RU),  
Валиев Равиль Шамилович (RU),  
Шулаева Марина Михайловна (RU),  
Сайфина Лилия Фуадовна (RU),  
Честнова Регина Валерьевна (RU),  
Мингалеев Данил Наильевич (RU),  
Тремасов Михаил Яковлевич (RU),  
Сафин Марат Абдрахманович (RU),  
Резник Владимир Савич (RU),  
Синяшин Олег Герольдович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

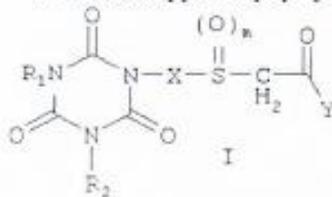
Учреждение Российской академии наук  
Институт органической и физической химии  
им. А.Е. Арбузова Казанского научного  
центра Российской академии наук (RU),  
Государственное образовательное  
учреждение дополнительного  
профессионального образования "Казанская  
государственная медицинская академия  
Федерального агентства по  
здравоохранению и социальному развитию"  
(RU)

RU 2 4 2 4 2 3 5 C 1

(54) **ИЗОЦИАНУРАТЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

(57) Формула изобретения

1. Изоцианураты формулы (I)



в которой 1)  $R_1=R_2=CH_3$ ,  $X=(CH_2)_n$  ( $n=1-6, 10$ ) или  $CH_2CH(OH)CH_2$  или  $(CH_2)_2O(CH_2)_2$ ;

2)  $R_1=R_2=CH_2=CHCH_2$ ,  $X=CH_2CH(OH)CH_2$ ;3)  $R_1=CH_3$  или  $C_6H_5CH_2$ ,  $R_2=X-S(O)_m-CH_2C(O)Y$ ,  $X=(CH_2)_n$  ( $n=1-6$ ); во всех приведенных формулах  $m=1$  или  $2$ ;  $Y=NH_2$  или  $NHNH_2$ .

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2431633

ТРИАЗИНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ  
ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Патентообладатель(ли): *Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН (RU), Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Казанская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2010125483

Приоритет изобретения 21 июня 2010 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 октября 2011 г.

Срок действия патента истекает 21 июня 2030 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам



Б.И. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 431 633** (13) **C1**

(51) МПК  
C07D 251/18 (2006.01)  
A61K 31/53 (2006.01)  
A61K 31/06 (2006.01)

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2010125483/04, 21.06.2010

(24) Дата начала отчета срока действия патента:  
21.06.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.06.2010

(45) Опубликовано: 20.10.2011 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: Maunard Michael et al. *Journal of*  
*Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3858-  
3865, 1999. SU 1057497 A, 30.11.1983. RU  
2252937 C2, 27.05.2005.

Адрес для переписки:

420088, Республика Татарстан, г. Казань, ул.  
ак. Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова,  
КазНЦ РАН, Патентный отдел, М.К.  
Лучшевой

(72) Автор(ы):

Фаттахов Сантгарей Галяевич (RU).  
Валиев Равиль Шамилович (RU).  
Шулаева Марина Михайловна (RU).  
Сайфина Лилия Фуадовна (RU).  
Честнова Регина Валерьевна (RU).  
Мингалеев Данил Наильевич (RU).  
Тремасов Михаил Яковлевич (RU).  
Равилов Рустам Хаметович (RU).  
Резник Владимир Савич (RU)

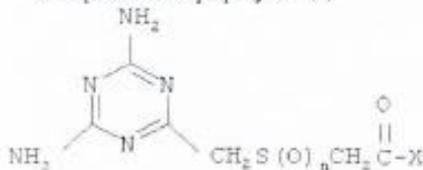
(73) Патентообладатель(и):

Учреждение Российской академии наук  
Институт органической и физической химии  
им. А.Е. Арбузова Казанского научного  
центра РАН (RU).  
Государственное образовательное  
учреждение дополнительного  
профессионального образования "Казанская  
государственная медицинская академия  
Федерального агентства по  
здравоохранению и социальному развитию"  
(RU)

(54) **ТРИАЗИНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

(57) Формула изобретения

1. Триазины формулы (I)

в которой а) X - NH<sub>2</sub>, n=1;б) X - NHNH<sub>2</sub>, n=1;в) X - NH<sub>2</sub>, n=2.

2. Триазины формулы (I) по п.1, обладающие противотуберкулезной активностью.

RU 2 4 3 1 6 3 3 C 1

RU 2 4 3 1 6 3 3 C 1

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2591256

**$\alpha, \omega$ -БИС(АМИДО- И ГИДРАЗИДОМЕТИЛСУЛЬФИНИЛ- И СУЛЬФОНИЛ)АЛКАНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, И  $\alpha, \omega$ -БИС(МЕТОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛСУЛЬФИНИЛ- ИЛИ СУЛЬФОНИЛ)АЛКАНЫ ДЛЯ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2015101008

Приоритет изобретения **12 января 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **29 июня 2016 г.**

Срок действия патента истекает **12 января 2035 г.**

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Ивлиев*



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 591 256** <sup>(13)</sup> **C1**

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

C07C 317/04 (2006.01)C07C 317/44 (2006.01)A61K 31/10 (2006.01)A61P 31/06 (2006.01)**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

Статус: действует (последнее изменение статуса: 27.01.2017)  
Полная плата за 3-й год с 13.01.2017 по 12.01.2018

(21)(22) Заявка: **2015101008/04**, **12.01.2015**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**12.01.2015**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **12.01.2015**(45) Опубликовано: **20.07.2016** Бюл. № **20**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: База данных REGISTRY [онлайн] RN 501649-97-4, RN 501649-96-3, RN 501649-95-2, RN 166956-14-5, RN 166956-12-3, Найдено в STN 19.08.2015. Ogata, Naoya (Dep. Chem., Sophia Univ., Tokyo, 102, Japan). "Synthesis of polyamides and polyesters having various functional groups." *Journal of Macromolecular Science, Chemistry*, A13(4), 477-501 (English) 1979.

Baliah, V.; Prema, G. (Dep. Chem., Annamalai Univ., Annamalaiagar, India). "Large-ring heterocyclic compounds. I. Synthesis of 1,4-dithia-7-azacyclononane derivatives." *Indian Journal of Chemistry*, 9(11), 1310-11 (English) 1971. Ahern, Terence Patrick; Fong, Harvey Owen; Langler, Richard Francis; Mason, Peter Michael (Chem. Dep., Dalhousie Univ., Halifax, NS, B3H 4J3, Can.). "The preparation and oxidation of disulfides as a route to sulfone-sulfides." *Canadian Journal of Chemistry*, 58(9), 878-83 (English) 1980.

Адрес для переписки:

420088, Респ. Татарстан, г. Казань, ул. Ак.  
Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова  
КазНЦ РАН, Патентный отдел

(72) Автор(ы):

Фаттахов Сантгарей Галляевич (RU),  
Шулаева Мария Михайловна (RU),  
Кравченко Марионелла Анатольевна  
(RU),  
Мингалеев Давид Навильевич (RU),  
Скорняков Сергей Николаевич (RU),  
Синяшин Олег Герольдович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Институт органической  
и физической химии им. А.Е. Арбузова  
Казанского научного центра Российской  
академии наук (RU)

(54)  $\alpha, \omega$ -БИС(АМИДО- И ГИДРАЗИДОМЕТИЛСУЛЬФИНИЛ- И СУЛЬФОНИЛ)АЛКАНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, И  $\alpha, \omega$ -БИС(МЕТОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛСУЛЬФИНИЛ- ИЛИ СУЛЬФОНИЛ)АЛКАНЫ ДЛЯ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

## УТВЕРЖДАЮ

Начальник Главного Управления  
ветеринарии Кабинета Министров  
Республики Татарстан

  
Б.В. Камалов  
« 18 » июня 2010 г.

## ВРЕМЕННОЕ НАСТАВЛЕНИЕ

по применению нового противотуберкулезного  
средства «Линарол» в ветеринарии (в порядке  
производственной апробации).

## 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

- 1.1. Линарол – новое синтетическое соединение, относящееся к химии азотсодержащих гетероциклидов, предложенный в Учреждении Российской академии наук «Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Каз. НЦ РАН».
- 1.2. Препарат представляет собой порошок желтоватого цвета, без запаха, хорошо растворяется в воде.
- 1.3. Линарол выпускают расфасованным по 100 г в полиэтиленовых флаконах. Допускается и другая фасовка, согласованная в установленном порядке. На упаковке указаны: название и количество препарата, номер серии, срок годности, обозначение ТУ. Кроме этих сведений указывают название предприятия – изготовителя и название препарата, дозу, способ применения и надпись «для животных».
- 1.4. Препарат хранят в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 0 до 40°C.

Срок годности при соблюдении условий хранения – не ограничен.

## 2. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

- 2.1. Линарол обладает выраженной антимикобактериальной активностью, в том числе и по отношению к мультирезистентным штаммам микобактерий туберкулеза.
- 2.2. Линарол является малотоксичным соединением, согласно ГОСТ 12.1.007.76 относится к 4 классу – малоопасные вещества.
- 2.3. Препарат не обладает кумулятивным свойством, а при нанесении не раздражает кожу.

## 3. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

- 3.1. Линарол применяют для профилактики туберкулеза у новорожденных телят в молочном периоде в неблагополучных по этому заболеванию хозяйствах.
- 3.2. Препарат применяют перорально, групповым методом, с молоком в дозе 10 мг/кг массы животного, ежедневно, в течение молочного периода.
- 3.3. Противопоказаний к применению линарола не имеется. Побочные явления не выявлены.

Временное наставление разработано ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» и Главным Управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан.

Производство и поставку препарата в период испытаний осуществляют: Учреждение Российской академии наук «Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Каз. НЦ РАН», 420083, Казань, ул. ак. А.Е. Арбузова, 8. Тел.: 273-18-62.

Заявки на препарат принимает: Главное Управление ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан. Казань, ул. Федосеевская, 38. Тел. 221-77-54, факс: 221-77-49.

УТВЕРЖДАЮ

Начальник Главного Управления  
ветеринарии Кабинета Министров  
Республики Татарстан



*А.Г. Хисамутдинов*  
А.Г. Хисамутдинов

« 8 » *декабря* 2015 г.

#### ВРЕМЕННЫЕ ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРАВИЛА

по применению нового противотуберкулезного средства «Линарол Ф-1» в ветеринарии (в порядке производственной апробации).

#### 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

- 1.1. Линарол Ф-1 – новое синтетическое соединение относящееся к химии сульфинил-дикарбоновых кислот, предложенный в Учреждении Российской академии наук «Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Каз. ИЦ РАН».
- 1.2. Препарат представляет собой порошок белого цвета, без запаха, хорошо растворяется в воде.
- 1.3. Линарол Ф-1 выпускают расфасованным по 50 и 100 г в полиэтиленовых флаконах. Допускается и другая фасовка, согласованная в установленном порядке. На упаковке указаны: название и количество препарата, номер серии, срок годности, обозначение ТУ. Кроме этих сведений указывают название предприятия – изготовителя и название препарата, дозу, способ применения и надпись «для животных».
- 1.4. Препарат хранят в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 0 до 40°C.

Срок годности при соблюдении условий хранения – не ограничен.

## 2. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

- 2.1. Линарол Ф-1 обладает выраженной антимикобактериальной активностью, в том числе и по отношению к мультирезистентным штаммам микобактерий туберкулеза.
- 2.2. Линарол Ф-1 является малотоксичным соединением, согласно ГОСТ 12.1.007.76 относится к 4 классу – малоопасные вещества.
- 2.3. Препарат не обладает кумулятивным, эмбриотоксическим, тератогенным и гепатотоксическим свойствами, а при нанесении не раздражает кожу.

## 3. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

- 3.1. Линарол Ф-1 применяют для профилактики туберкулеза у новорожденных телят в молочном периоде в неблагополучных по этому заболеванию хозяйствах.
- 3.2. Препарат применяют перорально, групповым методом, с молоком в дозе 5 - 10 мг/кг массы животного, ежедневно, в течение молочного периода.
- 3.3. Противопоказаний к применению линарола Ф-1 не имеется. Побочные явления не выявлены.

Временные ветеринарные правила разработаны сотрудниками ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ доцентом кафедры эпизоотологии, паразитологии и радиобиологии Мингалеевым Д.Н., профессором кафедры эпизоотологии, паразитологии и радиобиологии Равиловым Р.Х., старшими научными сотрудниками ИОФХ им. А.Е.Арбузов Фаттаховым С.Г. и Шулаевой М.М. Правила утверждены на научно-техническом совете ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, протокол № 4 от 3 декабря 2015 г.

Производство и поставку препарата в период испытаний осуществляют: Учреждение Российской академии наук «Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Каз. ИЦ РАН», 420083, Казань, ул. ак. А.Е. Арбузова-8. Тел.: 273-18-62.

Заявки на препарат принимает: Главное Управление ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан, Казань, ул. Федосеевская, 38. Тел. 221-77-54, факс: 221-77-49.

151

УТВЕРЖДАЮ

Начальник Камско-Устьинского

Госветобъединения

В.С. Россиев

24 сентября 2004 года.



Мы, ниже подписавшиеся, заместитель главного ветврача Камско-Устьинского района Гайнутдинов Р.Ф., ветеринарный врач Агрофирмы «Теньковская», филиала «Большие Салтыки» Яруллин И.В., заведующий фермой Загруддинов Р.А., аспирант кафедры эпизоотологии ФГОУ ВПО КГАВМ Мингалеев Д.Н. составили настоящий акт в том, что в Агрофирме «Теньковская», филиала «Большие Салтыки» провели производственное испытание тубофена, как нового химиофилактического средства для профилактики туберкулеза новорожденных телят.

Опыты проведены в мае, июне и июле 2004 года. По принципу аналогов были сформированы 4 группы телят, полученных от реагировавших на туберкулин коров, по 13 голов в каждой. Животным первой опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально тубофен, в дозе 5 мг/кг, второй – тубофен, в дозе 10 мг/кг и третьей – изониазид, в дозе 10 мг/кг массы тела. Телята контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В течение 2-х месяцев за животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования и ежемесячно всех телят исследовали двукратным аллергическим методом на туберкулез.

Результаты аллергических исследований показали, что ни одно животное подопытных и контрольной групп на введение туберкулина не реагировало.

По истечению курса химиофилактики (60 дней) на санитарной бойне Агрофирмы «Теньковская», филиала «Большие Салтыки» произвели

контрольный убой пяти телят из каждой группы, при этом во внутренних органах и тканях животных подопытных групп, изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. У трёх из пяти телят контрольной группы отмечали незначительную гиперимию подчелюстных и бронхиальных лимфатических узлов. Патологических изменений свойственных туберкулезу не обнаружили.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биопробы на морских свинках, у трех телят из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Заместитель главного ветврача  
Камско-Устьинского района



Гайнутдинов Р.Ф.

Ветврач Агрофирмы «Теньковская»  
Филиала «Большие Салтыки»



Яруллин И.В.

Зав. фермой



Загрутдинов Р.А.

Аспирант кафедры эпизоотологии  
ФГОУ ВПО КГАВМ



Мингалеев Д.Н.


 УТВЕРЖДАЮ  
 Начальник Татарстанского  
 Райгосветобезопасения  
 Т.С. Садыков  
 18 сентября 2008 года.

### АКТ

Мы, ниже подписавшиеся, начальник эпизоотического отдела ГУВ КМ РТ, доктор ветеринарных наук Хамзин Р.А., ветеринарный врач ООО СХП «Золотой колос» Сулейманов Р.С. и ассистент кафедры эпизоотологии ФГОУ ВПО КГАВМ Мингалеев Д.Н. составили настоящий акт о том, что в июне и июле 2008 года, в ООО СХП «Золотой колос», МТФ «Сокуры», провели производственное испытание нового химиопрофилактического средства – «Линарол», для профилактики туберкулеза у новорожденных телят.

На период испытаний, хозяйство являлось неблагополучным по туберкулезу КРС. Опыты проведены на 18 телятах, полученных от реагирующих на туберкулин коров. По принципу аналогов были сформированы 3 группы телят, по 6 голов в каждой.

Животным первой опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально линарол, в дозе 10 мг/кг, второй – линарол, в дозе 5 мг/кг. Телята третьей, контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В течение 2-х месяцев за животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования и ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез.

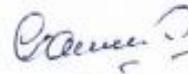
Результаты аллергических исследований показали, что через месяц ни одно животное подопытных и контрольной групп на введение туберкулина не реагировало. При проведении аллергического исследования через 2 месяца, после начала экспериментов, реакция на туберкулин отмечалась только у 2 телят контрольной группы и характеризовалась увеличением кожной складки

на 4 – 5 мм. Животные 1 и 2 опытных групп на введение туберкулина не реагировали.

По истечению курса химиопрофилактики (60 дней) произвели контрольный убой двух телят из каждой группы, причем в контрольной группе на убой отобрали телят реагировавших на туберкулин. При этом во внутренних органах и тканях животных первой подопытной группы получавших линарол в дозе 10 мг/кг массы тела, изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. У одного из двух убитых телят первой подопытной группы, получавших линарол в дозе 5 мг/кг массы тела, отмечали лишь незначительное увеличение бронхиальных лимфатических узлов. В свою очередь у всех телят контрольной группы была незначительная гиперемия и увеличение подчелюстных и бронхиальных лимфатических узлов. Патологических изменений характерных для туберкулеза не обнаружили.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биопробы на морских свинках, только у двух телят из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Начальник эпизоотического отдела  
ГУВ КМ РТ,  
доктор ветеринарных наук



Хамзин Р.А.

Ветеринарный врач ООО СХП  
«Золотой колос»



Сулейманов Р.С.

Ассистент кафедры эпизоотологии  
ФГОУ ВПО КГАВМ,  
кандидат ветеринарных наук



Мингалеев Д.Н.

УТВЕРЖДАЮ

Начальник Менделеевского  
Райгосветобъединения

Т.М. Галеев

10 декабря 2010 года.

АКТ

Мы, ниже подписавшиеся, начальник эпизоотического отдела ГУВ КМ РТ, доктор ветеринарных наук Хамзин Р.А., ветеринарный врач ООО «Агроспецстрой» Салимов Г.М. и доцент кафедры эпизоотологии ФГОУ ВПО КГАВМ Миингалеев Д.Н. составили настоящий акт о том, что в августе, сентябре и октябре 2010 года, в ООО «Агроспецстрой», в неблагополучном по туберкулезу КРС МТФ Монашево, провели производственное испытание новых химиофилактических средств – «Линарол» и «Линарол Ф-1», для профилактики туберкулеза у новорожденных телят.

Опыты проведены на 20 телятах, которые по принципу аналогов были сформированы в 4 группы, по 5 голов в каждой. Животным первой опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально линарол Ф-1, в дозе 10 мг/кг, второй – линарол Ф-1, в дозе 5 мг/кг, третьей линарол, в дозе 10 мг/кг массы тела. Телята четвертой, контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В течение 2-х месяцев за животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования и ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез.

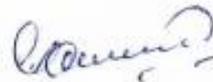
Результаты аллергических исследований показали, что через месяц ни одно животное подопытных и контрольной групп на введение туберкулина не реагировало. При проведении аллергического исследования через 2 месяца, после начала экспериментов, реакция на туберкулин отмечалась только у 1 теленка контрольной группы, которая характеризовалась увеличением кожной складки на 4 мм. Животные 1 2 и 3 опытных групп на введение туберкулина не реагировали.

По истечению курса химиопрофилактики (60 дней) произвели контрольный убой трех телят из каждой группы. При этом во внутренних органах и тканях животных подопытных групп, изменений характерных для туберкулеза не обнаружено.

В свою очередь у 2 телят из контрольной группы отмечали гиперемии и увеличение бронхиальных лимфатических узлов. Других патологических изменений характерных для туберкулеза не обнаружили.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биопробы на морских свинках, только у одного теленка из контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Начальник эпизоотического отдела  
ГУВ КМ РТ,  
доктор ветеринарных наук



Хамзин Р.А.

Ветеринарный врач ООО  
«Агроспецстрой»



Салимов Г.М.

Доцент кафедры эпизоотологии  
ФГОУ ВПО КГАВМ,  
кандидат ветеринарных наук



Мингалеев Д.Н.

УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора ГАУЗ

«Республиканский клинический  
противотуберкулезный  
диспансер» Г.А. Минатуллина

3 сентября 2012 года.



## АКТ

Мы, ниже подписавшиеся, доцент кафедры эпизоотологии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины» Мингалеев Д.Н., заведующая клинико-диагностической лабораторией №1 ГАУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер» Лосева М.С., фельдшеры лаборанты ГАУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер» Храмова А.Р. и Шафикова Р.И. составили настоящий акт о том, что в июне и июле 2012 года, в условиях вивария ФГБОУ ВПО КГАВМ и КДЛ №1 ГАУЗ РКПД, провели исследование влияния нового противотуберкулезного средства – «Линарол-Ф1» на гематологические и биохимические показатели белых крыс при длительном его применении.

Влияние Линарола-Ф1 на гематологические и биохимические показатели при внутрижелудочном введении в дозе 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (200 мг/кг массы тела животного), изучали на 20 белых беспородных крысах обоего пола массой 190 – 210 грамм. Животные были разделены на группы, по 10 голов в каждой. Первая группа была опытной, в течение 30 суток животным внутрижелудочно вводили Линарол-Ф1, а вторая – контрольной, которая получала растворитель – дистиллированную воду. Процедуры выполняли ежедневно, однократно, в течение 30 суток. Забор крови проводили до начала эксперимента, на 10, 20 и 30 сутки наблюдения.

Кровь для гематологических и биохимических исследований у крыс брали из сосудов хвоста. Гематологические исследования проводили

Доцент кафедры эпизоотологии  
ФГБОУ ВПО КГАВМ,  
кандидат ветеринарных наук



Мингалеев Д.Н.

Заведующий КЛД №1  
ГАУЗ РКПД



Лосева М.С.

Фельдшер-лаборант  
ГАУЗ РКПД



Храмова А.Р.

Фельдшер-лаборант  
ГАУЗ РКПД



Шафикова Р.И.

## УТВЕРЖДАЮ

Начальник ГБУ «Черемшанское  
районное государственное  
ветеринарное объединение»



*В.Д. Ухливанов*  
В.Д. Ухливанов  
18 августа 2016 года.

## АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, главный эпизоотолог Черемшанского РГВО – Давлетшин Р.А., директор ассоциации ветеринарных врачей РТ («Ветеринарная ассоциация»), доктор ветеринарных наук - Хамзин Р.А. и доцент кафедры эпизоотологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ - Мингалеев Д.Н. составили настоящий акт о том, что в ООО «Черемшан Агроуслуги», МТФ отделение «Туймет» Черемшанского муниципального района РТ, провели производственное испытание нового химиофилактического средства – «Линарол Ф-1», для профилактики туберкулеза у телят молочного периода.

На период испытаний, хозяйство является неблагополучным по туберкулезу крупного рогатого скота. Опыты проведены с 18 апреля по 17 июня 2016 года. По принципу аналогов, были сформированы 2 группы телят в возрасте от 5 до 12 дней, по 8 голов в каждой.

Животным опытной группы групповым методом в смеси с молоком в течение 60 дней задавали перорально Линарол Ф-1, в дозе 10 мг/кг массы тела, телята контрольной группы получали в аналогичных дозах физиологический раствор.

В течение 2-х месяцев за животными вели клинические наблюдения, проводили гематологические исследования, измерения массы тела и ежемесячно всех телят исследовали аллергическим методом на туберкулез.

Результаты аллергических исследований на 30 сутки исследования показали, что ни одно животное подопытной и контрольной групп на введение

туберкулина не реагировало. На 60 сутки в опытной группе, реагирующих на ППД туберкулин для млекопитающих телят не обнаружено, в контрольной группе реагировали 3 теленка, причем два с увеличением кожной складки на 3мм и один - на 4 мм.

По истечению курса химиопрофилактики (60 дней) произвели контрольный убой трех телят из каждой группы, при этом во внутренних органах и тканях животных подопытной группы, изменений характерных для туберкулеза не обнаружено. В контрольной группе лишь у двух животных отмечалось незначительное увеличение заглочных лимфатических узлов.

В результате проведенных лабораторных исследований патологического материала взятого от убитых животных, путем бактериологических исследований и проведении биологической пробы на морских свинках, у одного из трех телят контрольной группы была выделена культура микобактерий туберкулеза бычьего вида.

Главный эпизоотолог  
Черемшанского РГВО



Давлетшин Р.А.

Директор ассоциации  
ветеринарных врачей РТ,  
доктор ветеринарных наук



Хамзин Р.А.

Доцент кафедры эпизоотологии,  
паразитологии и радиобиологии  
ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ,  
кандидат ветеринарных наук



Мингалеев Д.Н.

Сафин М.А., Идрисов Г.З.,  
Мингалеев Д.Н.

**Современные  
методы  
диагностики и  
меры борьбы  
с туберкулезом  
крупного рогатого  
скота**



УДК 619 : 616.982.21 : 636.2  
ББК 48.73 X15

**Рецензенты:** О.Т. Муллакаев – доктор ветеринарных наук, профессор, начальник «Казанского городского ветеринарного объединения»;

Р.А. Хамзин – доктор ветеринарных наук, начальник эпизоотического отдела Главного Управления Ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан.

Одобрено на заседании методического совета и утверждено Ученым советом факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» от 18 июня 2010 года, протокол № 6.

**Авторы:** М.А. Сафин, Г.З. Идрисов, Д.Н. Мингалеев

Современные методы диагностики и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота. – Казань, 2010. – 117 с.

В монографии освещены вопросы о возбудителе туберкулеза, атипичных микобактериях и их основных свойствах. Подробно изложены пути заражения животных, патогенез развития заболевания, роль различных факторов в возникновении, распространении туберкулеза и причины длительного неблагополучия скотоводческих хозяйств по этой инфекции. Описаны современные методы диагностики и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота. Практическую ценность представляют методы дифференциации неспецифических реакций на туберкулин от специфических у крупного рогатого скота. Монография имеет большое практическое значение в деле целенаправленной разработки планов профилактики и ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота. Предназначена для практических ветеринарных врачей, лабораторных специалистов и студентов ветеринарных ВУЗов.

**Сафина Ч.М., Мингалеев Д.Н.,  
Хамзин Р.А.**

**Туберкулез у  
собак и кошек и  
меры борьбы с ним**



**Казань 2012**

УДК 619 : 616.982.21 : 636.2

ББК 48.73 X15

**Рецензенты:**

О.Т. Муллакаев – доктор ветеринарных наук, профессор, начальник «Казанского городского ветеринарного объединения»;

Р.Ш. Валиев - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ГБОУ ДПО КГМА Минздравсоцразвития России, директор ГАУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер».

Одобрено на заседании методического совета и утверждено Ученым советом факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» от 25 апреля 2012 года, протокол № 4.

**Авторы:** Ч.М. Сифина, Д.Н. Мингалеев, Р.А. Хамзина.

Туберкулез у собак и кошек и меры борьбы с ним. – Казань, 2012. – 105 страниц.

В монографии освещены вопросы изучения эпизоотических особенностей туберкулеза домашних животных (собак и кошек), их видовой чувствительности к возбудителям туберкулеза, особенностей клинического и патологоанатомического проявления болезни, а также совершенствование средств и методов диагностики и разработка специфической профилактики туберкулеза собак и кошек с помощью вакцины БЦЖ. Монография имеет большое практическое значение в деле целенаправленной разработки планов профилактики и ликвидации туберкулеза животных. Предназначена для практических ветеринарных врачей, преподавателей, лабораторных специалистов и студентов ветеринарных ВУЗов.

Министерство сельского хозяйства  
Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования

«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ  
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»  
(ФГБОУ ВО «СПбГАВМ»)

ул. Черниговская, д. 5, Санкт-Петербург, 196084

Тел./факс (812) 388-36-31

E-mail: mail@spbgavm.ru

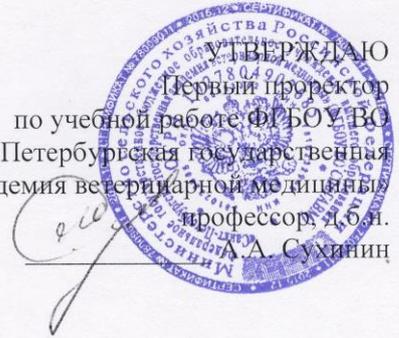
ОКПО 00493362, ОГРН 1027804902685

ИНН/КПП 7810232965/871001001

08.12.2017 № 01-1738

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ  
Первый проректор  
по учебной работе ФГБОУ ВО  
«Санкт-Петербургская государственная  
академия ветеринарной медицины»  
профессор, д.б.н.  
А.А. Сухиниц



#### КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований по докторской диссертации заведующего кафедрой эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Мингалеева Данила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота» используются в учебном процессе (при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий) на кафедре эпизоотологии имени В.П.Урбана, кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии, кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургская ГАВМ.

Материалы автореферата Мингалеева Д.Н., представленного в информационном письме, рассмотрены на заседании научно-методической комиссии по проблемам инфекционных болезней ФГБОУ ВО СПбГАВМ (протокол № 2/7 от «08» декабря 2017 года).

Председатель комиссии: д.в.н., доцент

Козыренко О.В.

Секретарь комиссии: к.б.н., ст.лаборант

Ещенко И.Д.

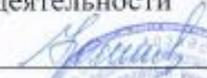
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО  
ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ П.А.СТОЛЫПИНА»  
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

644008, г. Омск-8, ул. Институтская площадь, 1,  
тел. (3812) 65-11-46, факс 65-17-35  
E-mail: [adm@omgau.ru](mailto:adm@omgau.ru),  
<http://www.omgau.ru>

На № \_\_\_\_\_ от

№ \_\_\_\_\_

У Т В Е Р Ж Д А Ю  
Проректор по образовательной  
деятельности

 С.Ю. Комарова

« \_\_\_\_\_ » 2017 г.



### КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Материалы научных исследований Мингалеева Данила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных и практических занятий по дисциплине «Эпизоотология и инфекционные болезни» и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на кафедре ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ.

Рассмотрено на заседании кафедры ветеринарной микробиологии,  
инфекционных и инвазионных болезней  
«А» XII \_\_\_\_\_ 2017 г., протокол № 4.

Зав. кафедрой ветеринарной  
микробиологии, инфекционных и  
инвазионных болезней,  
д-р ветеринар. наук, профессор



В.И. Плешакова

Декан факультета ветеринарной  
медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ  
д-р ветеринар. наук, доцент



С.В. Чернигова

УТВЕРЖДАЮ  
 Проректор по учебной работе  
 ФГБОУ ВО Саратовский  
 государственный аграрный университет  
 им. Н.И. Вавилова  
 профессор С.В. Ларионов  
 «19» XII 2017 г.

### СПРАВКА О ВНЕДРЕНИИ

Материалы научных исследований заведующего кафедрой эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Мингалеева Данила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплине «Эпизоотология и инфекционные болезни» со студентами специальности 36.05.01 «Ветеринария» на кафедре «Болезни животных и ВСЭ» ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова.

Материалы рассмотрены на заседании кафедры «Болезни животных и ВСЭ» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» протокол № 2 от 18 октября 2017 г.

Декан факультета  
 ветеринарной медицины,  
 пищевых и биотехнологий  
 ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ  
 профессор, д. с.-х. н.



А.В. Молчанов

«УТВЕРЖДАЮ»  
 Начальник управления по научно-исследовательской деятельности ФГБОУ ВО Уральский государственный аграрный университет, д.ю.н., профессор

  
 \_\_\_\_\_ Б.А.Воронин  
 « 16 »  2017 г.

### Карта обратной связи

Настоящим актом подтверждаем, что результаты диссертационного исследования Мингалёва Даниила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота» внедрены и используются в учебном процессе (при чтении лекции и проведении лабораторно-практических занятий) и научно-исследовательской работе кафедры инфекционной и незаразной патологии факультета ветеринарной медицины и экспертизы ФГБОУ ВО Уральский государственный аграрный университет.

Информационное письмо рассмотрено на заседании кафедры инфекционной и незаразной патологии (протокол № 55 от 24 ноября 2017 г.)

Доктор ветеринарных наук, профессор  
 ФГБОУ ВО Уральский ГАУ  
 профессор кафедры инфекционной и незаразной патологии

«15 декабря 2017 года»  Ольга Григорьевна Петрова

Доктор ветеринарных наук, профессор  
 ФГБОУ ВО Уральский ГАУ  
 Декан факультета ветеринарной  
 медицины и экспертизы

«15 декабря 2017 года»  Михаил Иванович Барашкин

620075, Россия, Свердловская область,  
 Екатеринбург, ул.Карла Либкнехта,42  
 Тел. (343) 371-33-63, факс: (343) 221-40-26,  
 e-mail: rector@urgau.ru

Подпись О.Г. Петровой М.И.Барашкина заверяю:  
 секретарь Ученого совета, кандидат ветеринарных наук,  
 ФГБОУ ВО Уральский ГАУ  Наталья Николаевна Семёнова



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
**Южно-Уральский государственный аграрный университет**  
 Ул. Гагарина, 13, г. Троицк, Челябинская обл., Россия, 457100. Тел./факс: +7 35163-2-00-10 / 2-04-72, e-mail: tvl\_t@mail.ru

ИНН 7418006770, КПП 742401001, БИК 047501001, ОГРН 1027401101530, ОКТМО 75752000, ОКПО 00493563, р/сч. 40501810600002000002  
 Банк: Отделение Челябинск г. Челябинск, д/сч. 20696X13670 в Управлении Федерального Казначейства по Челябинской области

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор – Директор Института  
 ветеринарной медицины  
 ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ,  
 профессор Юдин М.Ф.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 201\_\_



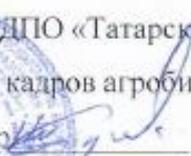
### КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Материалы, изложенные в информационном письме заведующего кафедрой эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Мингалеева Данила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулёза у молодняка крупного рогатого скота» используются в учебном процессе (при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплине «Основы ветеринарии») на кафедре заразных ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет».

Информационное письмо рассмотрено на заседании кафедры незаразных болезней (протокол № 7 от «14» декабря 2017 года).

Заведующий кафедрой, профессор Гертман А.М.

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ДПО «Татарский институт  
переподготовки кадров агробизнеса»д.э.н., профессор  Н.М.Якушкин

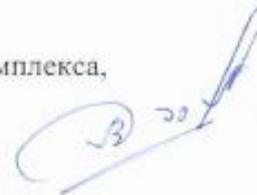
«18» декабря 2017 г.

**Карта обратной связи**

Материалы докторской диссертации кандидата ветеринарных наук, заведующего кафедрой эпизоотологии и паразитологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Мингалеева Данила Наильевича на тему: «Усовершенствование и изыскание новых средств и методов профилактики туберкулеза у молодняка крупного рогатого скота» используются преподавателями ФГБОУ ДПО «Татарский институт переподготовки кадров агробизнеса» при чтении лекций по переподготовке и повышению квалификации работникам сельского хозяйства.

Заслуживает внимания монография, разработанная Мингалеевым Д.Н. с соавторами на тему: «Современные методы диагностики и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота», которая значительно облегчает использование результатов исследования соискателя при чтении лекций для ветеринарных специалистов.

Проректор по научной работе,  
заведующий кафедрой  
ресурсосберегающих технологий  
производства с.-х. продукции и лесного комплекса,  
д. с.-х. н., профессор



В.Н.Фомин