

На правах рукописи

ГРИГОРЬЕВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА
ОФТАЛЬМЕКТИН ПРИ ТЕЛЯЗИОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

03.02.11- паразитология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в отделе фармакологии Государственного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии

Научные руководители: доктор биологических наук

Востроилова Галина Анатольевна

доктор ветеринарных наук, профессор

Беспалова Надежда Сергеевна

Официальные оппоненты: **Абрамов Владислав Евгеньевич**

доктор ветеринарных наук, профессор

ФГБНУ «ВНИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина», ведущий научный сотрудник лаборатории иммунокоррекции при паразитах

Глазунова Лариса Александровна

кандидат ветеринарных наук, доцент

ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья», доцент кафедры анатомии и физиологии

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «14» июня 2018 года в 15-00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт - Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт - Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт - Петербург, ул. Черниговская, д. 5 и на сайте <https://spbgavm.ru>.

Автореферат разослан «_____» 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Белова Лариса Михайловна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Инвазионные болезни, и в частности телязиоз крупного рогатого скота, широко распространены в разных регионах Российской Федерации, ближнем и дальнем зарубежье [Г.А. Веселкин, 1983; А.В. Нехаенко, 1997; Н.Г. Гусейнов, 2010; П.И. Христиановский и др., 2010; А.В. Радионов, 2012; M.J. Kennede et al., 1990-1994; P.E. Miller et al., 1992]. Телязиоз причиняет значительный экономический ущерб животноводству вследствие снижения молочной (на 1,9-6 кг в сутки) и мясной продуктивности (10-28 кг за время болезни), преждевременной выбраковки ослепших животных, затрат на их лечение и профилактику [А.Н. Каденации и др., 1971; И.А. Архипов, 1992; С.В. Енгашев, 1992; Р.Т. Сафиуллин, 2002; Л.А. Глазунова, 2003].

Патогенное влияние паразита на организм хозяина проявляется в механическом, инокуляторном и токсическом действии. Осложняется заболевание внедрением условно-патогенной микрофлоры в пораженный телязиями глаз, что приводит к конъюнктивитам, кератитам, обильным слезотечениям, помутнению и изъязвлению роговицы, иногда к утрате зрения. Телязии сенсибилизируют организм хозяина, вызывая местную и общую аллергическую реакцию [П.И. Христиановский и др., 2014].

Для лечения больных животных применяют в основном инъекционные формы лекарственных средств [В.Е. Абрамов, 2000; И.А. Архипов, 2005; Р.Т. Сафиуллин, 2005; В.В. Белименко и др., 2016 и др.], введение которых вызывает болевую, воспалительную и стрессовую реакции [Г.С. Сивков и др., 1998]. Применение местно мазей и капель [Л.З. Золотухина и др., 2003; И.Ф. Кленова и др., 2004; Р.С. Кармалиев, 2011] не всегда позволяет достигнуть высокого терапевтического эффекта, что связано с качественным и количественным составом компонентов данных лекарственных средств.

Для борьбы с телязиозным кератоконъюнктивитом недостаточно специфических противопаразитарных средств, необходимо также применение антибактериальной терапии. Поэтому для достижения оптимального результата в лечении крупного рогатого скота, больного телязиозом, необходимо использовать комплексный подход.

Создание комплексного высокоэффективного препарата, сочетающего в себе противопаразитарный и антибактериальный компоненты, не накапливающегося в тканях животных и обеспечивающего в дальнейшем пищевую безопасность сырья и продуктов животного происхождения, является актуальной проблемой.

Степень разработанности темы. Несмотря на большое количество проведенных исследований, посвященных распространению и ущербу, причиняемому телязиозом крупного рогатого скота в разных регионах России, ближнего и дальнего зарубежья [А.М. Атаев и др., Н.С. Беспалова и др., 2015; О.Ю. Богданова, 2006; Л.А. Глазунова и др., 2013; Н.Г. Гусейнов, 2013; А.В. Радионов и др., 2010; П.И. Христиановский и др., 2016; D.F. Djungu et al., 2014; A. Giangaspero et al., 2004; Н.М. Munang'and, 2011], в доступной литературе за последние 30 лет информации по распространению этого заболевания в условиях Центрального Черноземья России, особенностям его эпизоотологии, профилактике и лечению недостаточно.

В связи с тем что патогенное действие паразита на организм хозяина

проявляется в механическом, инокуляторном и токсическом действии, а само заболевание осложняется наличием условно - патогенной микрофлоры, современные подходы к лечению животных, больных телязиозом, требуют создания комплексных препаратов, в состав которых одновременно входят противопаразитарное и антимикробное средства, что позволит значительно снизить их токсичность, частоту побочных эффектов и повысить эффективность лечения.

Цель и задачи исследований. Целью данного исследования является изучение эпизоотического профиля телязиоза крупного рогатого скота в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей и разработка нового комплексного препарата офтальмектин для лечения больных животных, определение его фармакотоксикологических свойств и терапевтической эффективности.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- определить экстенсивность и интенсивность инвазии, установить пространственно-временные, популяционные и возрастные границы телязиоза в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей;
- обосновать состав и разработать лекарственную форму нового комплексного препарата офтальмектин;
- определить токсикометрические параметры и изучить фармакодинамику офтальмектина;
- определить оптимальную лечебную дозу офтальмектина;
- изучить терапевтическую и экономическую эффективность препарата.

Научная новизна. Обновлены и дополнены сведения по заболеваемости крупного рогатого скота телязиозом и изучена эпизоотическая ситуация в современных экономических условиях в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей. Впервые разработан новый комплексный препарат офтальмектин на основе ивермектина и азитромицина, проведена его фармакотоксикологическая оценка. На экспериментальном и клиническом материале впервые показана высокая терапевтическая эффективность офтальмектина при телязиозе крупного рогатого скота.

Новизна работы подтверждена патентом № 2613145 от 25 февраля 2016 г. «Способ лечения телязиоза крупного рогатого скота».

Теоретическая и практическая значимость работы. *Теоретическая значимость* - в результате проведенных исследований получены достоверные данные по эпизоотологии телязиоза крупного рогатого скота в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей, установлен вид возбудителя, дана его количественная характеристика, что расширяет и дополняет уже имеющиеся сведения об этой инвазии. Экспериментально обоснован состав и разработана лекарственная форма нового комплексного препарата офтальмектин.

Практическая значимость – разработан высокоэффективный и безопасный для ветеринарной практики комплексный препарат офтальмектин, который зарегистрирован в Республике Беларусь (№ 5441-10-16 ЗСПА), и утверждена инструкция по его применению.

Методология и методы исследования. Методология исследований основана на закономерностях проявления эпизоотического процесса при телязиозе крупного рогатого скота, а также на биологии развития возбудителя

болезни. В ходе выполнения работы были использованы такие теоретические и эмпирические методы работы, как анализ и синтез, а также паразитологические, фармакологические, клинические, морфологические, биохимические, гистологические, хроматографические методы.

Объектом исследования явились белые мыши и крысы, морские свинки, кролики разведения вивария ГНУ Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии. Результаты экспериментальных исследований были апробированы на телятах и коровах, принадлежащих хозяйствам Воронежской и Липецкой областей.

Предмет исследования – эпизоотический профиль телязиоза крупного рогатого скота в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей, антипаразитарная и антимикробная активность офтальмектина, его токсикометрические параметры и остаточные количества в крови и молоке, оценка терапевтической и экономической эффективности при телязиозе крупного рогатого скота.

Апробация и реализация результатов научных исследований. Основные положения и результаты исследований доложены и одобрены на международных и всероссийских научных конференциях: «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (Москва, 2015, 2016, 2017); «Проблемы и пути развития ветеринарии и высокотехнологического животноводства» (Воронеж, 2015); «Актуальные проблемы современной науки» (Санкт-Петербург – Астана – Киев – Вена, 2016); «Селекционно-генетические и эколого-технические проблемы повышения долголетнего продуктивного использования молочных и мясных коров» (Брянск, 2016); «3rd International VETistanbul Group Congres» (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 2016); "Актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства" (Воронеж, 2016, 2017).

Результаты исследований внедрены в хозяйствах: ЗАО «Агросвет» Каширского района Воронежской области, ОАО «Колос Агро» Елецкого района Липецкой области, КФХ Масленикова Т.А. Елецкого района Липецкой области. Основные теоретические и практические результаты работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ для подготовки ветеринарных специалистов.

Положения, выносимые на защиту:

- на территории Воронежской и Липецкой областей в популяциях крупного рогатого скота телязиоз имеет широкое распространение с выраженной сезонной и возрастной динамикой;
- фармакотоксикологические и фармакодинамические свойства офтальмектина;
- терапевтическая эффективность офтальмектина при телязиозе крупного рогатого скота;
- экономическая эффективность применения офтальмектина.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием репрезентативной выборки объектов, которая соответствует целям и задачам данного исследования, применением современных эпизоотических, клинических, паразитологических, фармакологических, хроматографических методов исследования и сертифицированного оборудования, соответствующих компьютерных программ обработки и анализа данных, достаточным

объемом фактического материала, обработанного с помощью методов статистики, применяемых в биологических исследованиях; публикацией результатов работы в рецензируемых журналах.

Личный вклад автора состоит в том, что основные результаты получены самостоятельно. Автор осуществлял постановку и выполнение экспериментов, активно участвовал в интерпретации результатов, написании статей, патента, подготовке докладов и выступлений на конференциях, производственной апробации результатов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 3 в ведущих научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ («Ветеринария, зоотехния и биотехнология», «Вестник Воронежского государственного аграрного университета») и 1 патент.

Структура и объем диссертации. Работа представлена на 143 страницах компьютерного текста. Состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследования, заключения, практических предложений, рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Текст иллюстрирован 40 таблицами и 9 рисунками. Библиографический список состоит из 248 источников, в том числе 102 иностранных авторов.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Обзор литературы

В главе изложены данные по распространению телязиоза крупного рогатого скота в Российской Федерации и за рубежом, об особенностях эпизоотического процесса. Описаны основные направления в лечении и профилактике телязиоза КРС. Данна фармакотоксикологическая характеристика компонентов препарата офтальмектин.

2.2 Материалы и методы исследований

Работа выполнена в 2014-2017 годах в отделе фармакологии ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» Россельхозакадемии в соответствии с планом научно-исследовательских работ по заданию 160 «Молекулярно - биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных». Паразитологические исследования проведены на кафедре паразитологии и эпизоотологии ФГБОУ ВО «Воронежский ГАУ имени императора Петра I», на базе хозяйств ЗАО «Агросвет» Каширского района Воронежской области, ОАО «Колос Агро» и КФХ Масленикова Т.А. Елецкого района Липецкой области.

Проведение научно - производственных и экспериментальных опытов осуществлялось в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий содержания и кормления животных во время постановки

экспериментов и учета результатов. Перед проведением опытов животных выдерживали на карантине в течение 14 дней (таблица 1).

Таблица 1 - Объем и характер исследований

№	Объекты и объем проведенных исследований	Всего проведено исследований
1	<i>Объекты исследования:</i> культура микроорганизмов белые мыши белые крысы морские свинки кролики крупный рогатый скот	8 170 220 24 24 1479
<i>Объем и вид исследований</i>		
2	Микроскопическое исследование смывов со слизистой глаз	738
3	Морфологические и биохимические исследования	148
4	Патоморфологические исследования внутренних органов и тканей	176
5	Определение эмбриотоксического и тератогенного действия	60
6	Хроматография: сыворотка крови и молоко	40

Эксперименты проведены на лабораторных животных разведения вивария Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии. Животные содержались в условиях вивария при 20-22°C и влажности 50-70%. Содержание, кормление и манипуляции над ними проводили в соответствии с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в эксперименте [Страсбург, 1986], и правилами лабораторной практики в Российской Федерации [приказ МЗ РФ №267 от 2003 г].

Лабораторные и опытные образцы офтальмектина изготовлены в отделе фармакологии ГНУ ВНИВИПФИТ Россельхозакадемии.

Для установления телязиозной инвазии у крупного рогатого скота и изучения степени зараженности животных [А.В. Симакова, 2016] обследовано 886 голов крупного рогатого скота красно-пестрой породы в хозяйствах Липецкой области и 593 головы в хозяйстве Воронежской области в возрасте от 4 месяцев до 5 лет. Животные содержались как на выгульных площадках, так и на пастбищах. При постановке диагноза на телязиоз учитывали клинические признаки заболевания и данные лабораторных исследований смывов из конъюнктивальной полости глаз согласно общепринятой методике [Г.А. Котельников, 1984] с определением видовой принадлежности возбудителя с помощью атласа «Дифференциальная диагностика гельминтозов по морфологической структуре яиц и личинок возбудителей» [А.А. Черепанов и др., 1999].

Изучение антимикробной активности и определение оптимального содержания азитромицина в офтальмектине проводили *in vitro* методом серийных разведений в жидкой питательной среде в соответствии с «Методическими указаниями по отбору, испытаниям и оценке антибактериальных химиопрепараторов среди соединений различных химических классов» [Н.А. Лагуткин и др., 2008].

Параметры нематодоцидной активности офтальмектина в отношении телязий изучены в опыте *in vivo* на 24 телятах 6-8 – месячного возраста, естественно инвазированных нематодами, принадлежащих ЗАО «Агросвет» Каширского района Воронежской области. Критерием оценки эффективности обработки служили показатели ЭЭ и ИЭ [А.В. Симакова, 2016].

Изучение токсических свойств офтальмектина проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [Р.У. Харбиев, 2005].

Параметры токсичности препарата в остром опыте определены при однократном пероральном и накожном введении с использованием двухэтапного метода на половозрелых конвенциональных нелинейных разнополых белых мышах с массой тела 18-20 г (140 голов) при внутрижелудочном введении и белых крысах линии Wistar с массой тела 230-250 г (84 головы) при накожном нанесении препарата. Опыты выполняли в двух повторностях для каждого вида животных. Наблюдение за животными проводили непрерывно на протяжении первых суток после введения офтальмектина. В последующем состояние животных отмечали дважды в день на протяжении 2 недель. Регистрировали общий статус и поведение животных, состояние нервно-мышечных и вегетативных функций, шерстного покрова, поедание корма, потребление воды. Особое внимание уделяли развитию признаков токсикоза, оценивали их тяжесть, продолжительность, время выздоровления или гибели животных. Павших животных с признаками отравления препаратом подвергали патологоанатомическому вскрытию.

Изучение безвредности (переносимости) офтальмектина проводили на 24 клинически здоровых телятах. Животные были разделены на 4 группы по 6 телят в каждой. Офтальмектин вводили однократно в полость конъюнктивального мешка: 1-й опытной группе в дозе 0,5 г (терапевтическая доза); 2-й – по 0,5 г в каждый глаз (двукратная терапевтическая доза); 3-й группе по 1,0 г в каждый глаз (четырехкратная терапевтическая доза). Контрольным животным препарат не вводили (4-я группа). Токсическое действие препарата при его применении оценивали по клиническому состоянию животных, морфологическим и биохимическим показателям крови. Кровь для исследования брали у телят из яремной вены утром до кормления через 10 суток после введения офтальмектина.

Изучение подострой токсичности проводили на крысах обоего пола линии Wistar с массой 170 - 190 г (60 голов), при накожном применении препарата 1 раз в день ежедневно в течение 14 дней, в следующих дозах: 5,0 г/кг, что соответствует 0,059 г/см² (доза в 5 раз выше суточной дозы в оба глаза теленка); 30,0 г/кг, что соответствует 0,36 г/см² (доза в 30 раз выше суточной дозы в оба глаза теленка). Крысам контрольной группы наносили гелевую основу в дозе 0,36 г/см² (соответствует максимальной дозе препарата в данном опыте). Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве ведущего показателя. Общетоксическое действие препарата оценивали по динамике массы тела животных (2 раза в неделю), гематологическим показателям и состоянию системы гомеостаза – по окончании курса введения. Вегетативный статус оценивали по состоянию слизистых, шерстного покрова, ширины глазных ще-

лей, наличию саливации, диареи, опрятности животных. Макроскопическое и гистологическое исследование внутренних органов проводилось посмертно в конце исследования. Сразу после завершения курса введения препарата у животных оценивали функциональное состояние центральной нервной системы по визуальным наблюдениям за двигательной активностью и поведенческим реакциям в teste «открытое поле» [Я. Буреш и др., 1991].

Изучение субхронической токсичности препарата офтальмектин проведено на 20 клинически здоровых телятах шестимесячного возраста с массой тела 120-135 кг, которые были распределены по принципу аналогов на 4 группы (n=5). Телятам первой группы препарат не назначали (контроль), во второй – животным вводили однократно в полость конъюнктивального мешка одного глаза офтальмектин в дозе 0,5 г (терапевтическая доза), в третьей – по 0,5 г в оба глаза (двукратная терапевтическая доза), а в четвертой – по 1,0 г в оба глаза (четырехкратная терапевтическая доза). Введение препарата осуществляли в течение 10 дней с интервалом между введениями 24 часа. Токсическое действие оценивали аналогично опыту по изучению переносимости препарата на телятах.

Опыты по изучению раздражающего действия на кожу были проведены на кроликах с массой тела 1,8-2,0 кг при однократном (12 голов) и многократном (10 голов) применении. Исследуемый препарат наносили в чистом виде. Контрольным животным наносили гелевую основу. Площадь нанесения составляла 80-82 см² (5% от общей поверхности тела животных). За два дня до эксперимента тщательно выстригали шерсть на спине, избегая механических повреждений кожных покровов. Применяли препарат однократно в дозах от 0,02 до 0,12 г/см². Экспозиция составляла 4 часа. Реакцию кожи на воздействие препарата оценивали через 1 и 16 часов после однократного нанесения. При многократном применении офтальмектин наносили по 0,5 г один раз в день в течение 15 дней. В эти сроки проводили наблюдение за животными и далее в течение 5 дней после окончания применения препарата. Раздражающее действие офтальмектина учитывали по следующим показателям: изменение поведения животных, аппетита, температуры и массы тела; появление воспаления кожи – путем измерения толщины кожной складки кутиметром; интенсивность отрастания шерсти – путем острига под корень пучков шерсти и измерения их длины в миллиметрах. Реакцию кожи учитывали по шкале оценки кожных проб, отмечая время, характер и степень изменения кожного покрова в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [В.П. Фисенко, 2000].

Для изучения влияния офтальмектина на конъюнктиву глаз кролика были проведены опыты на животных породы белый великан (n=2). Клиническое состояние животных (температуру тела, частоту пульса, количество дыхательных движений), а также изменение кровенаполнения конъюнктивы, наличие выделений, состояние роговицы и век оценивали через 30 минут, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часов после инстилляции препарата [В.П. Фисенко, 2000].

Исследуя аллергенные свойства препарата, использовали регистрацию реакций в многократных эпикутанных аппликациях, гиперчувствительности замедленного типа, конъюнктивальной пробы [Руководство по эксперимен-

тальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под ред. Р.У. Хабриева, 2005; Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2012; Методические рекомендации. Методы лабораторной специфической диагностики профессиональных аллергических заболеваний химической этиологии, 1994].

Опыты проведены на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 200-220 г. Животным опытных групп (n=8) на выстриженные участки кожи боковой поверхности наносили по 0,5 г офтальмектина на площадь 5 см², то есть плотность нанесения препарата составляла 0,1 г /см². Препарат наносили один раз в день с интервалом 24 часа на протяжении трех недель.

Первое тестирование путем нанесения офтальмектина в дозе, в 5 раз превышающей сенсибилизирующую, проводили после 10 аппликаций, затем – через 14 и 20 суток от начала аппликации. Реакцию кожи учитывали по шкале оценки проб [В.П. Фисенко, 2000].

Для постановки реакции ГЗТ сформировали 3 группы (по 10 голов) мышей ICR (СД-1) массой тела 26 - 28 г, которых иммунизировали однократно путем внутрибрюшинного введения 0,5 мл 2 % суспензии эритроцитов барана на стерильном физиологическом растворе. Сразу после этого мышей первой группы обрабатывали накожно препаратом офтальмектин в дозе 34 000 мг/кг (920 мг/мышь). Мышей второй группы обработали в дозе 3400 мг/кг (92 мг/мышь). Мыши третьей группы служили контролем, препарат не получали. На 5-е сутки после сенсибилизации в подушечку правой задней лапы вводили разрешающую дозу антигена – 0,05 мл 4 % суспензии эритроцитов барана. В контрольную левую лапу – физиологический раствор в том же объеме. Степень местной воспалительной реакции оценивали через 24 часа после разрешающей инъекции по разнице массы опытной и контрольной лап.

При постановке конъюнктивальной пробы морским свинкам наносили накожно офтальмектин в дозах: 1-я группа (n=8) – 34000 мг/кг (920 мг/животное) и 2-я группа (n=8) – 3400 мг/кг (92 мг/животное) в течение 5 дней. Контрольным животным (n=8) вводили стерильную основу препарата. Через 12 дней в конъюнктивальный мешок опытных животных закапывали под верхнее веко по 1 капле препарата, контрольным – по 1 капле стерильной основы препарата. Реакцию учитывали через 15 минут (быстрая реакция) и через 24 часа (гиперчувствительность замедленного типа).

Опыты по изучению эмбриотоксического и тератогенного действия офтальмектина проведены по методике А.П. Шицковой с соавт. [1977] на самках белых крыс массой 200,0 ± 10,0 г (n = 20 в каждой группе). Фазу полового цикла устанавливали путем исследования вагинального содержимого. Первым днем беременности считали день обнаружения спермиев после подсадки самцов к самкам. Животные были разделены на три группы: контрольную и две опытные. Крысам первой опытной группы – начиная с 5-го дня беременности (период имплантации) и второй опытной группы – начиная с 15-го дня беременности (период органогенеза) применяли офтальмектин накожно в дозе 3400 мг/кг (680 мг/животное) в течение 5 суток. Данная доза препарата составляет 1/10 от максимально введенной дозы в остром опыте. Раннюю и позднюю резорбцию, общую эмбриональную смертность, выживаемость подсчитывали по формулам, предложенным А.М. Малашенко и И.К. Егоровым [1977]. В целях выявления

патологии внутренних органов эмбрионов материал фиксировали в жидкости Боуэна и 70⁰ спирте. Аномалии скелета выявляли по методу Даусона [1984]. Критериями оценки эмбриотоксического и тератогенного действия препарата служили показатели гибели зародышей на пред- и постимплантационных стадиях развития (эмбриональный эффект), наличие аномалий развития внутренних органов и скелета (тератогенный эффект), уровень плодовитости, масса зародышей [И.М. Трахтенберг, 1991].

Фармакокинетические параметры офтальмектина в крови изучали после однократного введения телятам (n=6) в полость конъюнктивальных мешков двух глаз однократно по 0,5 г препарата. Четырем контрольным животным препарат не вводили. Отбор проб крови у телят производили из яремной вены через 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48 часов. Остаточные количества в молоке изучали после применения препарата коровам (n=6) в дозе по 0,5 г в конъюнктивальный мешок обоих глаз в течение 5 дней с интервалом 24 часа. Животным контрольной группы препарат не вводили (n=4). Пробы молока отбирали через 1, 2 и 5 дней после применения исследуемого препарата. Определение азитромицина в сыворотке крови и молоке проводили методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием в положительном режиме ионизации электроспрея, а ивермектина – с предколоночной модификацией N-метилимидазолом и ангидридом трифтормукусной кислоты и последующим детектированием по флуоресценции. Хроматографическое определение ДВ проводилось на базе ООО «Международный научноисследовательский центр охраны здоровья человека, животных и окружающей среды» (ООО МНИЦ «ОЗОС»). Мы выражаем глубокую благодарность за помощь в работе Кочеткову П.П., Музыке А.С. и Балышеву А.В.

Опыт по отработке оптимальной терапевтической дозы и схемы применения офтальмектина при телязиозе крупного рогатого скота проведен в ЗАО «Агросвет» Каширского района Воронежской области на молодняке красно-пестрой породы 6-месячного – 1-летнего возраста (48 голов), зараженного телязиозом в естественных условиях. В конъюнктивальный мешок поражённого глаза животным 1-4-й опытных групп вносили офтальмектин в дозе 0,25, 0,5, 0,75 и 1,0 г один раз в день в течение 5 дней, животным контрольной группы применяли препарат «Мизофен» в дозе до 0,5 г 2 раза в день в течение того же срока. Животных отрицательного контроля обработкам не подвергали. В ходе опыта животных обследовали клинически и путем микроскопии смызов из конъюнктивальной полости до введения препаратов, через 3 и 5 дней после обработок.

Опыты по изучению эффективности применения офтальмектина при лечении телязиоза крупного рогатого скота проведены на животных красно-пестрой породы, спонтанно зараженных телязиозом на базе следующих хозяйств: ЗАО «Агросвет» Каширского района Воронежской области на телятах 6 месячного возраста (40 голов); ОАО «Колос Агр» Елецкого района Липецкой области на телятах 4 месячного возраста (21 голова); КФХ Масленникова Т.А. Елецкого района Липецкой области на коровах старше 2 лет (24 головы). Животным опытной группы вводили в полость конъюнктивального мешка пораженного глаза офтальмектин однократно в дозе 0,5 г в течение 5 дней, контрольной группы – глазную мазь «Мизофен», закладывая стеклян-

ной палочкой в конъюнктивальный мешок пораженного глаза 2 раза в день в дозе до 0,5 г в течение 5 дней. Эффективность препаратов определяли методом «Контрольный тест».

Морфологический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60», биохимические исследования крови – на анализаторе «Hitachi-902» в соответствии с «Методическими рекомендациями по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных» [М.И. Рецкий и др., 2007]. Исследование мочи крыс осуществляли с помощью лабораторных индикаторных тест-полосок для качественного и полуколичественного определения Уриполиан 10В (ООО «Биосенсор АН»).

Экономическую эффективность применения офтальмектина определяли в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» [1997].

Полученные данные статистически обработаны при помощи программных пакетов MS Exel (2007), Statistica v6.1, «Статистика+2009», «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition Triple Quadrupole Version B.06.00». Оценку достоверности отличий проводили методом парных сравнений, используя *t*-критерий Стьюдента [Г.Ф. Лакин, 1990]

2.3. Результаты собственных исследований

2.3.1 Анализ эпизоотической ситуации по телязиозу крупного рогатого скота в Воронежской и Липецкой областях

Исследования показали, что на территории Воронежской и Липецкой областей телязиоз крупного рогатого скота встречается повсеместно. Первые клинические случаи заболевания зарегистрированы 13-15 июня и характеризуются обильным слезотечением с дальнейшим развитием воспалительного процесса в тканях глаза, ухудшением зрения, светобоязнью, блефароспазмом.

Экстенсивность инвазии телязиозом крупного рогатого скота в Воронежской и Липецкой областях составила в июне 29,8% и 22,6%, в июле 31,6% и 29,8%, в августе 26,3% и 20,1% соответственно. Осенью наблюдается резкий спад заболеваемости, в сентябре значения не превышали 4,9% и 2,9%, а в октябре упали до минимальных – 0,5% и 0,1%.

Значительные колебания ЭИ и ИИ выявлены у животных разных возрастных групп. В хозяйствах Воронежской области в июне, показатели ЭИ и ИИ составили: у телят в возрасте 4-6 мес. – 11,4% и $3,9 \pm 0,4$ экз. личинок телязий на животное; 6 мес. – год – 30,2% и $8,5 \pm 0,47$ экз.; 1-2 года – 44% и $12,2 \pm 0,03$ экз.; 2 года – 5 лет – 19,3% и $8,5 \pm 0,47$ экз. В июле показатели были максимальными для всех групп животных. У телят 4-6 мес. ЭИ составила 18,7%, ИИ – $6,6 \pm 0,8$ экз.; 6 мес. – год – 37% и $10,2 \pm 0,03$ экз.; 1 – 2 года ЭИ была максимальная – 49,4%, ИИ – $11,6 \pm 0,08$ экз. У коров 2 – 5 лет ЭИ установлена на уровне 24,4%, ИИ – $11,3 \pm 0,05$ экз. В августе отмечен спад заболеваемости у животных в группах от 4 мес. до 2 лет до 9,1, 21,8 и 37,6 %, при ИИ $4,8 \pm 0,03$, $12,4 \pm 0,05$ и $9,8 \pm 0,2$ экз. личинок на животное соответственно. У коров 2-5 лет в это время наблюдали повышение ЭИ до 31,6 %, но ИИ снизилась до $10,6 \pm 0,03$ экз. В сентябре самая низкая зараженность установлена у телят от 4 до 6 мес. с ЭИ – 1,9% и ИИ – $2,5 \pm 0,5$ экз. У животных от 6 мес. до

года и от года до 2 лет ЭИ 4,5% и 6,5%, при ИИ $3,4 \pm 0,1$ и $3,1 \pm 0,2$ экз. соответственно. Для животных 2-5 лет ЭИ и ИИ установлена на уровне 5,7 % и $2,2 \pm 0,6$ экз. В октябре мы выявили три случая заболевания у животных от года до 2 лет, ЭИ составила 1,5% при ИИ $1,3 \pm 0,3$ экз. В ноябре личинки телязий в смывах из глаз не выявлены.

В хозяйствах Липецкой области в июне ЭИ у телят от 4 до 6 месячного возраста составляла 10,3%, ИИ – $2,8 \pm 0,01$ экз. личинок на животное. У животных от 6 мес. до года показатели находились на уровне 27,2% и $3,9 \pm 0,01$ экз. У животных старших возрастных групп от года до 2 лет и 2-5 лет ЭИ составила 33,7% и 15,9% при ИИ – $4,8 \pm 0,03$ и $4,7 \pm 0,01$ экз. личинок на животное соответственно. Пик инвазии зарегистрирован в июле. В группе 4-6 мес. животных ЭИ и ИИ составляли 17,1% и $5,7 \pm 0,3$ экз.; 6 мес. – 1 год – 36,9% и $6,3 \pm 0,03$ экз., от года до 2 лет – 40,8% и $8,7 \pm 0,02$ экз. Самые низкие значения ЭИ и ИИ зарегистрированы в группе 2-5 лет – 22,3% и $5,2 \pm 0,02$ экз. соответственно. Спад заболеваемости приходился на август. У телят 4-6 мес. и от 6 мес. до года показатели ЭИ составляли 14,3 и 30,9%, при ИИ $4,1 \pm 0,02$ и $4,6 \pm 0,1$ экз. личинок на животное соответственно. В группе от года до 2 лет ЭИ – 29,3%, ИИ – $4,1 \pm 0,01$ экз. Самая низкая ЭИ (9,6%) была установлена у коров 2-5 лет, с ИИ $4,6 \pm 0,03$ экз. В сентябре показатели были минимальными для всех групп животных. В группе 4-6 мес. ЭИ и ИИ составили 3,2% и $3,3 \pm 0,3$ экз. От 6 мес. до года ЭИ – 2,4%, ИИ – $2,8 \pm 0,4$ экз. В группах от года до 2 лет и 2-5 лет ЭИ – 3,5 и 2,8%, при ИИ $3,0 \pm 0,01$ и $2,9 \pm 0,01$ экз. соответственно. В октябре мы выявили один случай заболевания, подтвержденный лабораторно, в группе от года до 2 лет, ЭИ находилась на уровне 0,4%, ИИ – $2,0 \pm 0,01$ экземпляров. В ноябре личинки телязий в смывах из глаз не обнаружены. Вид возбудителя инвазии идентифицировали как *Thelazia rhodesi*.

2.3.2 Фармако - токсикологическая оценка препарата офтальмектин

2.3.2.1 Антимикробная активность офтальмектина

При бактериологическом изучении конъюнктивального содержимого телят выделены: *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Strep. pneumoniae*, *Pseud. aeruginosa*. Установлено, что офтальмектин обладает высокой антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий составляет – 1,56-6,25 мкг/мл. Наиболее высокую чувствительность к препарату проявили *Strep. pneumoniae* и *Staph. epidermidis* – 1,56-3,12 мкг/мл. В отношении музейных и полевых культур *Staph. aureus* и *Staph. cowan* – 3,12-6,25 мкг/мл. Наиболее устойчивой к препарату оказалась синегнойная палочка – 100,0 мкг/мл.

Бактерицидные свойства офтальмектина проявлялись в концентрациях двукратно превышающих бактериостатические.

2.3.2.2 Нематоцидная активность офтальмектина

При использовании различных композиций препарата с постоянным содержанием азитромицина (10 мг/г) и различной концентрацией в них ивермектина от 1,5 до 3,0 мг/г. Высокая противопаразитарная активность отмечена в композициях с массовым содержанием ивермектина 2,5 и 3,0 мг. На 3-й день введения ЭЭ составила – 66,7%, при ИЭ – 75 и 83,1% соответственно.

но. На 5-й день введения эффективность обработок достигла 100%.

При достижении одинакового эффекта целесообразно использовать концентрацию ивермектина 2,5 мг/ г препарата.

2.3.2.3 Оценка острой токсичности офтальмектина

На основании результатов первичных токсикометрических исследований были получены данные, позволившие определить параметры острой токсичности препарата при внутрижелудочном введении белым мышам и накожном применении белым крысам (таблица 2).

Таблица 2 - Параметры острой токсичности офтальмектина для лабораторных животных

Параметры токсичности офтальмектина для белых мышей при однократном внутрижелудочном введении (мг/кг)

МПД	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₁₀₀	SLD ₅₀
5000,0	9408,9	14661,6 (12600÷16700)	20091,8	22762,5	±2016,8

Значение LD₅₀ для белых крыс при однократном накожном нанесении (г/кг)

выше 34,0 г/кг, что более чем в 34 раз выше максимальной суточной дозы для крупного рогатого скота

Таким образом, препарат офтальмектин по степени токсичности относится к IV классу опасности — вещества малоопасные [ГОСТ 12.1.007-76].

При изучении безвредности (переносимости) офтальмектина на целевых животных установлено, что при однократном введении препарата в полость конъюнктивального мешка глаза телят в терапевтической дозе 0,5 г и в четыре раза ее превышающей (1,0 г в полость конъюнктивального мешка каждого глаза) хорошо переносится телятами.

2.3.2.4 Подострая токсичность офтальмектина на грызунах

Проведенными исследованиями установлено, что многократное накожное нанесение препарата офтальмектин в дозах 5,0 и 30,0 г/кг не вызывает существенных изменений в клиническом состоянии белых крыс.

Гибели животных в ходе опыта не было. Животные охотно поедали корм, равномерно прибавляли в весе, за период наблюдения (15 дней) в контрольной группе привес составил в среднем 17,3 г, в опытных группах – 17,1 г. Ректальная температура у всех наблюдаемых животных находилась в пределах физиологической нормы – 35,8-36,4 С°.

По совокупности результатов внешних наблюдений и постановки теста «открытое поле» установлено, что препарат офтальмектин не оказывает отрицательного влияния на функциональное состояние центральной нервной системы у подопытных крыс.

Изучение морфологических и биохимических показателей крови крыс показало, что в подопытных группах не зависимо от пола животных, они соответствовали физиологическим нормам для данного вида животных.

Изучение клинических анализов мочи показало, что pH у всех опытных и контрольных животных находилась в диапазоне 6,0-7,0, белок – не обнаруживался, содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови у опытных крыс не изменилось по сравнению с контрольными величинами.

При проведении некропсии не выявлено дистрофических, деструктивных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строме внутренних органов. Проведенное гистологическое исследование нескарифицированной кожи и препаратов мышц указывает на отсутствие раздражения, воспаления или деструкции тканей в местах нанесений.

2.3.2.5 Субхроническая токсичность офтальмектина, изученная на телятах

В опыте по изучению субхронической токсичности офтальмектина на клинически здоровых телятах установлено, что применение испытуемого препарата в изученных дозах не оказывало существенного влияния на клинический статус, поведение и аппетит животных. В период всего опыта животные контрольной и опытных групп были подвижны, аппетит выражен, рефлексы сохранены. Нарушений функций пищеварения и мочеотделения не установлено. Морфологические и биохимические показатели крови существенно не отличались от показателей у животных контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния препарата на организм телят.

2.3.2.6 Раздражающие и аллергенные свойства офтальмектина

В опыте по изучению раздражающего действия препарата при однократной аппликации на кожные покровы кроликам (12 голов) при плотности нанесения от 0,020 до 0,12 г/см², с экспозицией 4 часа, а так же при многократном нанесении, в течение 15 дней, на кожу кроликов (10 голов) в дозе 0,5 г/гол. Установлено отсутствие изменения поведения и аппетита животных. Не отмечено различий температуры тела и живой массы кроликов. Толщина складки выстриженной и выбритой кожи животных опытной группы на протяжении двадцатидневного срока наблюдения не отличалась от таковой у контрольных животных.

В течение эксперимента состояние кожи кроликов, получавших гелевую основу и офтальмектин, практически не изменялось (отсутствие реакции): признаков гиперемии, эритемы, отека и других изменений состояния кожных покровов визуально не отмечалось. Этот результат по шкале оценки кожных проб соответствует 0 баллов, что указывает на отсутствие у офтальмектина местно - раздражающего действия.

Изучение влияния офтальмектина на конъюнктиву глаза кроликов (n=2), при внесении 2 капель подогретого до 40 0С препарата в левый глаз (правый служил контролем), при визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз опытных животных показало, что препарат не вызывает раздражения конъюнктивы, как сразу после инстилляции, так и в течение всего периода наблюдения, не оказывает влияния на клиническое состояние животных.

Изучение аллергенных свойств препарата при многократных эпикутанных аппликациях на белых крысах, в реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышах и конъюнктивальной пробы на морских свинках препарат не вызывал явлений сенсибилизации.

2.3.2.7 Эмбриотоксическое и тератогенное действие офтальмектина

При изучении эмбриотоксического и тератогенного действия офтальмектина не выявлено различий пренатального развития потомства самок опытных и контрольной групп. Общая эмбриональная смертность у крыс контрольной и опытных групп была на уровне диапазона значений, обычно регистрируемых у крыс линии Wistar (по данным разных исследователей – 15,0 - 18,6 %). Среднее количество плодов на самку в контрольной группе составило $10,0 \pm 0,21$, а у крыс опытных групп – $10,5 \pm 0,34$ и $10,2 \pm 0,20$ соответственно. Развитие крысят, рожденных от самок опытных групп, не отличалось от крысят контрольных самок. Проведенные морфологические исследования показали отсутствие аномалий развития внутренних органов и скелета плодов, рожденных от крыс опытных групп. Таким образом, офтальмектин, при накожном применении в дозе 3400,0 мг/кг массы тела, не оказывает эмбриотоксического и тератогенного действия.

2.3.2.8 Определение остаточных количеств препарата офтальмектина в крови и молоке крупного рогатого скота

Азитромицин и ивермектин в сыворотке крови телят после однократного введения офтальмектина и молоке коров после пятикратного введения препарата, не обнаруживались на протяжении всего исследования. Таким образом, использовать молоко от дойных коров можно без ограничения, также, как и продукты животного происхождения.

2.3.3 Отработка оптимальной лечебной дозы офтальмектина

При определении оптимальной лечебной дозы офтальмектина на животных с признаками телязиозного керато - конъюнктивита через 3 дня после начала лечения у телят опытных групп были обнаружены личинки телязий в 12,5-25,0% случаев, а у животных положительного контроля в 62,5% случаев. Соответственно интенсивность офтальмектина по сравнению с «Мизофеном» была выше на 22,6-35,8-38,0-42,9%.

Через 5 дней личинки телязий не обнаруживались у животных обработанных офтальмектином в дозах от 0,5 до 1,0 г. При дозировке в 0,25 г исследуемого препарата экстенсивность инвазии составила 12,5%. В группе положительного контроля от личинок телязий полностью освободились 50% животных. Офтальмектин проявил высокую противопаразитарную активность во всех группах животных, но наиболее эффективными дозами оказались 0,5-1,0 г на введение. Однако лечение животных препаратом по схеме 0,5 г в конъюнктивальный мешок пораженного глаза один раз в день в течение 5 дней является более экономичным, чем при применении его в дозах 0,75-1,0 г, и эта схема является более удобной при нанесении, чем 1,0 г, при достижении одинакового терапевтического эффекта.

2.3.4 Терапевтическая эффективность офтальмектина при лечении телязиоза крупного рогатого скота

При изучении эффективности лечения телязиоза у молодняка крупного рогатого скота в хозяйствах Воронежской и Липецкой областей офтальмектин показал 100% нематодоцидную эффективность. В смывах с конъюнкти-

вальных полостей у животных, проведенных после курса применения препарата, не обнаружено телязий, признаки кератоконъюнктивита полностью отсутствовали в течение 10 суток наблюдения (таблица 3).

Таблица 3 - Изучение терапевтической эффективности офтальмектина

Хозяйство	ЭИ, %		ЭИ, %		ЭЭ, %	ИЭ, %
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения		
Офтальмектин, 0,5 г в течение 5 дней						
ЗАО «Агросвет»	100	0	8,90±0,10	0	100	100
ОАО «Колос Агро»	100	0	3,91±0,34	0	100	100
КФХ	100	0	4,46±0,42	0	100	100
Мизофен, 0,5 г 2 раза в день в течение 5 – 7 дней						
ЗАО «Агросвет»	100	50	10,2±0,10	2,80±0,10	50	72,6
ОАО «Колос Агро»	100	70	4,1±0,35	1,9±0,57	30	53,7
КФХ	100	72,2	4,73±0,47	2,27±0,52	27,3	52

2.3.5 Экономическая эффективность применения офтальмектина при лечении телязиоза крупного рогатого скота

Лечение животных, больных телязиозом комплексным препаратом офтальмектин, обладающим противопаразитарным и антимикробным действием, является экономически выгодным. При применении офтальмектина телятам на каждый затраченный рубль хозяйство сохраняет 1,66 руб., коровам – 2,26 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На территории Воронежской и Липецкой областей в популяциях крупного рогатого скота телязиоз имеет широкое распространение с выраженной сезонной и возрастной динамикой. Пик инвазии приходится на июль, с экстенсивностью инвазии соответственно 31,6% и 29,8%. Максимальные показатели инвазии установлены в возрастной группе животных от года до двух лет (ЭИ – 40,8% и 49,4%, ИИ – 8,7±0,02 экз. и 11,6±0,08 экз. личинок телязий на животное). Выделенные нематоды относятся к виду *Th. rhodesi*.

2. Антимикробная активность офтальмектина для грамположительных бактерий составляет 1,56-6,25 мкг/мл. Наиболее высокую чувствительность к препарату проявляли *Strept. pneumoniae* и *Staph. epidermidis* (1,56-3,12 мкг/мл). Бактерицидные свойства офтальмектина проявляются в концентрациях, двукратно превышающих бактериостатические.

3. Офтальмектин относится к малотоксичным препаратам – IV класс опасности (ГОСТ 12.1.007-76). Среднелетальная доза (ЛД₅₀) при внутривенном введении офтальмектина мышам составила 14 661,6 мг/кг, при накожном нанесении белым крысам – выше 34,0 г/кг. Препарат не обладает аллергенными и местно-раздражающими свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия.

4. Офтальмектин в терапевтической дозе и в четыре раза ее превышающей не оказывает негативного влияния на морфологические показатели крови и биохимический статус животных, что свидетельствует о безопасности и хорошей переносимости его крупным рогатым скотом.

5. Сроки убоя животных на мясо, использования молока и другой продукции после применения офтальмектина не ограничены.

6. Терапевтическая эффективность препарата в дозе 0,5-1,0 г/животное

один раз в день в течение 5 суток при лечении телязиоза крупного рогатого скота составляет 100%.

7. Экономическая эффективность на рубль затрат при применении офтальмектина телятам составляет 1,66 руб., коровам – 2,26 руб.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения телязиозной инвазии у крупного рогатого скота рекомендуется применять офтальмектин в дозе 0,5 г в конъюнктивальный мешок пораженного глаза один раз в день. Продолжительность лечения составляет от 3 до 5 дней, при осложненном телязиозе – до 7 дней. Для профилактики офтальмектин вводят в той же дозе 1 раз в день 3 дня подряд.

2. Основные научные положения работы и ее практические результаты рекомендуется использовать в производственных условиях ветеринарным специалистам, а также в учебном процессе студентам, аспирантам и научным работникам ветеринарного профиля.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные теоретические выводы и результаты экспериментальных исследований позволяют наметить перспективы дальнейшей разработки темы в условиях Центрального Черноземья России:

- изучение факторов, путей и механизмов передачи возбудителя в современных природно-климатических и экономических условиях ведения животноводства;
- мониторинг видового состава промежуточных хозяев и определение особенностей биологии возбудителя;
- разработка комплексной научно обоснованной системы лечебно-профилактических мероприятий.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рецензируемых ВАК:

1. **Григорьева, Н.А.** Изучение острой токсичности и безвредности препарата «Офтальмектин»/ **Н.А. Григорьева**, Г.А. Востроилова, Л.В. Ческидова, А.В. Топольницкая// Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016.- № 10. – С. 76-81.

2. **Григорьева, Н.А.** Субхроническая токсичность «Офтальмектина»/ **Н.А. Григорьева**, Г.А. Востроилова, А.Ю. Калугина, Г.Г. Чусова, Е.В. Тюрина// Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016.- № 11. – С. 50-56.

3. **Григорьева, Н.А.** Определение раздражающего действия офтальмектина/ **Н.А. Григорьева**// Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2017. – № 3. – С. 75-81.

Материалы, опубликованные в других научных журналах и сборниках конференций:

4. Беспалова, Н.С. Распространение телязиоза крупного рогатого скота на территории Российской Федерации/ Н.С. Беспалова, **Н.А. Григорьева**// Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: мат. Междунар. науч. конф. – Москва, 2015. – Вып. № 16. – С. 37–38.

5. Востроилова, Г.А. Параметры острой токсичности препарата для лечения телязиоза крупного рогатого скота / Г.А. Востроилова, **Н.А. Григорьева**, Л.В. Ческидова// Проблемы и пути развития ветеринарии высокотехнологического животноводства: мат. Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж: издательство «Истоки», 2015. – С. 115-117.

6. Беспалова, Н.С. Особенности эпизоотологии телязиоза крупного рогатого скота в Липецкой области/ Н.С. Беспалова, **Н.А. Григорьева**, Е.О. Возгорькова// Международный научный журнал. – Киев, 2016. – Вып. № 1, Т. 1. – С. 7-8.

7. Беспалова, Н.С. Телязиоз крупного рогатого скота в Воронежской области/ Н.С. Беспалова, **Н.А. Григорьева**, Е.О. Возгорькова// Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: мат. Междунар. науч. конф. – Москва, 2016. – Вып. № 17. – С. 65–67.

8. Беспалова, Н.С. Пастбищные гельминтозы крупного рогатого скота в Центральном Черноземье России/ Н.С. Беспалова, **Н.А. Григорьева**, Е.О. Возгорькова// Селекционно - генетические и эколого - технологические проблемы повышения долголетнего продуктивного использования молочных и мясных коров: Таврический научный обозреватель. – Брянск, 2016. – № 5 (10). – С. 271-273.

9. Bespalova, N. S., **Grigorieva N. A.** The main pasture helminth infections of cows in the central black earth region of Russia/ N.S. Bespalova, **N.A. Grigorieva**// 3rd International VETistanbul Group Congres May 17-20. – 2016, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. – Р. 240.

10. **Григорьева, Н.А.** Некоторые результаты определения токсичности офтальмектина / **Н.А. Григорьева**// Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: мат. Междунар. науч. конф. – Москва, 2017. – Вып. 18. – С. 125-128.

11. **Григорьева, Н.А.** Изучение аллергизирующих свойств офтальмектина/ Н.А. Григорьева// Ученые записки УО ВГАВМ. – 2017. – Т. 2, вып. 2.– С. 40–43.

12. Беспалова, Н.С., **Григорьева Н.А.** Территориально-временные и возрастные границы эпизоотического процесса при телязиозе крупного рогатого скота в Центральном Черноземье России/ Н.С. Беспалова, **Н.А. Григорьева**// Актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства: мат. науч. и учеб.-метод. конф. проф.-препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов ФВМиТЖ. – Воронеж: 2017г. – ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ. – Вып. 6. – С.79-82.

Патенты

13. Способ лечения телязиоза крупного рогатого скота: патент РФ 2613145 С1 МПК A61K31/ 7048/ Шабунин С.В., Востроилова Г.А., Близнецова Г.Н., Рогачева Т.Е., Ческидова Л.В., Беспалова Н.С., Григорьева Н.А., Возгорькова Е.О. – заявитель и патентообладатель ГНУ ВНИИПФиТ. – 2016106700. – Опубликовано 15.03.2017. – Бюл. №8. – 9 с.

Подписано в печать 02.04.2018г. Формат 60x80¹/16. Бумага кн.-журн.
П.л. 1,0. Гарнитура Таймс. Тираж 100 экз. Заказ №1.
Типография ФГБОУ ВО ВГАУ 394087, Воронеж, ул. Мичурина, 1.