

*На правах рукописи*



**СТАРОСЕЛОВ МИХАИЛ АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ОЦЕНКА СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНО-  
КОРРЕКТОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ  
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

16 00 04 Ветеринарная фармакология с токсикологией  
16 00 03 Ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА ВЕТЕРИНАРНЫХ НАУК

Краснодар – 2008



003444762

Работа выполнялась в лаборатории терапии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института РАСХН

Научные руководители                    заслуженный деятель науки РФ  
доктор ветеринарных наук,  
член-кор РАСХН, профессор  
**Антипов Валерий Александрович**

доктор ветеринарных наук  
**Басова Наталья Юрьевна**

Официальные оппоненты            доктор ветеринарных наук  
**Кузьмина Елена Васильевна**

доктор ветеринарных наук,  
профессор  
**Дорофеев Виталий Иванович**

Ведущая организация    ФГУ «Донской государственный аграрный университет»

Защита состоится «10» июня 2008 г в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220 038 07 в Кубанском государственном аграрном университете по адресу 350044, г Краснодар, ул Калинина, 13

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кубанского государственного аграрного университета

Автореферат разослан «9» июня 2008 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор ветеринарных наук



И А Родин

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. **Актуальность проблемы.** В настоящее время широкое распространение получили болезни животных, развивающиеся на фоне снижения естественной резистентности, обусловленной как не специфическими факторами, в первую очередь, нарушением содержания и кормления, (В С Бузлама, 1987, А А Конопаткин, 1993, Р Н, Коровин 1995, Бондаренко О И, с соавт, 1996, А Г Шитый с соавт, 1997, М С Найденский 1995-1997, К Х Папуниди, 1998, А В Иванов, 2000,), так и специфическими ( В М Данилевский, 1974; М А Сидоров с соавт, 1975, Г П Бородай, 1978, А Г Готов с соавт, 2006, Р Ide, 1970, L Lillie, 1974, D Mc Kercher 1978, L Sidoli, 1979, L Thomas et el, 1980, C Ungureanu et el, 1981, М А Muneer, J O. Farah, J A Wewman, S M Cogan, 1988), которые приводят к возникновению вторичных иммунодефицитных состояний В развитии целого ряда болезней неинфекционной этиологии, таких, как эндометрит, мастит, диспепсия, бронхопневмония в конечном итоге принимают участие бактериальные и вирусные агенты, часто сами выступающие в роли иммуносупрессоров (вирус лейкоза КРС, герпес вирус, парамиксовирус, и др ) (В Г Зароза, 1978, В Е, Сединов, 1982 В Н, Сюрин с соавторами, 1983, А А Конопаткин с соавторами, 1984, Э А Шегидевич, 1984, Ю Н Федоров, 2000, П Н Смирнов, 2007, С G Loosli, 1968, A Edward, 1978, D Pritchard, 1980, А -М К Virtala, G D Mechor, У Т Grohn, Н W Erb, E J Dubovi, 1996)

Поскольку практически все заболевания, все процессы в организме в той или иной степени связаны с различными иммунодефицитами, (Ю Н Федоров, О А Верховцев, 1996, Р М Хаитов, Б В Пинегин, 1996, Р М Хаитов, 1999, А А Яримин 1999,) а применение традиционных схем профилактики таких болезней не всегда успешно, иммунокоррекция приобретает все большее значение в комплексной профилактике и терапии большинства патологических процессов (Д Н Лазарева, Е К Алехин, 1985, Ю Н Федоров, 2000, П Н Смирнов, 2007)

Иммуностимуляция без интерпретации показателей, характеризующих иммунный статус может привести к нарушению полноценного функционирования иммунной системы, иммуносупрессии и, как результат, гибели животных от сопутствующих заболеваний ( Р Петров, 1982, Ю Н Федоров, 2000)

С учетом изложенного, весьма актуальным следует считать поиск эффективных и безопасных средств, усиливающих иммунную защиту, устойчивость к стрессам и стимулирующих обменные процессы в организме (Бузлама В С, 1997, Конопатов Ю В, 1992, Уразаев Н А, 1995)

Поэтому изучение иммунобиологических параметров КРС, определение эффективности иммунотропных препаратов для повышения резистентности животных является актуальной проблемой

**1.2. Цель исследований** - выявить наиболее часто встречающиеся дефициты иммунитета у крупного рогатого скота в Краснодарском крае и определить эффективность применения иммуностимуляторов для повышения резистентности животных

### **1.3. Задачи исследований:**

- 1 Изучить распространение незаразных болезней КРС на территории Краснодарского края
- 2 Установить наиболее распространенные дефициты иммунитета, встречающиеся у КРС в Краснодарском крае
- 3 Подобрать доступные иммуностимулирующие препараты, корректирующие выявленные у КРС иммунодефицитные состояния
- 4 Изучить влияние ПАК – 9000 на иммуногenez, токсикологические параметры новых иммуностимулирующих препаратов иммуофан и ПАК - 9000.
- 5 Изучить влияние иммуностимулирующих препаратов на клинические и иммунобиологические показатели КРС
- 6 Определить эффективность применения иммуностимулирующих препаратов в системе лечебно-профилактических мероприятий

**1.4 Научная новизна работы.** Изучено распространение болезней крупного рогатого скота на территории Краснодарского края, выявлены наиболее часто встречающиеся патологии

Впервые в сравнительном аспекте изучены иммунобиологические показатели крупного рогатого скота различных пород молочного направления, разводимых в регионе, различных физиологических и возрастных групп Изучены иммунобиологические показатели у инфицированных ВЛ КРС, больных лейкозом коров в сравнении с интактными

Установлены наиболее распространенные у крупного рогатого скота в Краснодарском крае дефициты иммунитета

Подобраны иммуностимулирующие препараты для коррекции выявленных нарушений иммунитета – иммуофан и ПАК-9000, изучены их, токсикологические свойства, влияние препарата ПАК-9000 на иммуногenez, установлена высокая иммунотропная активность изученных препаратов, низкая токсичность, отсутствие кожно-резорбтивного и раздражающего действия, эмбриотоксической и тератогенной активности

Доказано позитивное влияние новых иммуностимулирующих препаратов на клинические и иммунобиологические показатели КРС и эф-

фективность их применения для повышения резистентности в системе лечебно-профилактических мероприятий, а так же снижения внутриутробного и постнатального инфицирования телят ВЛ КРС

**1.5. Теоретическая и практическая значимость работы.** Дана комплексная характеристика иммунобиологического и биохимического статуса КРС различных пород, физиологических и возрастных групп, иммунобиологического и биохимического статуса у инфицированных ВЛ КРС, больных лейкозом коров в сравнении с интактными

Выявлены наиболее часто встречающиеся дефициты иммунитета у КРС на территории края

На основе полученных знаний об иммунобиологическом статусе КРС подобраны, изучены и предложены в ветеринарную практику новые эффективные, доступные иммуностимуляторы для повышения резистентности КРС

Практикующим ветеринарным специалистам предложена система, повышения естественной резистентности крупного рогатого скота, включающая применение иммуностимуляторов на фоне нормализации обменных процессов, способствующая снижению заболеваемости, повышению сохранности и продуктивности коров и телят

Предложенные препараты и схемы могут быть использованы при оздоровлении скотоводческих хозяйств Краснодарского края от лейкоза

#### **1.6. Основные положения, выносимые на защиту.**

- распространение заболеваний крупного рогатого скота в Краснодарском крае
- иммунобиологические показатели крупного рогатого скота различных возрастных, физиологических, породных групп, сравнительная оценка иммунобиологических и биохимических показателей инфицированных ВЛ КРС, больных лейкозом и интактных коров
- результаты исследований токсикологических свойств и влияния на иммуногенез новых синтетических иммуностимуляторов– иммунофана и ПАК-9000
- результаты применения иммуностимулирующих препаратов иммунофана и ПАК – 9000 для повышения резистентности крупного рогатого скота в системе профилактических мероприятий

**1.7. Апробация полученных результатов.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях», посвященной 60-летию Краснодарского НИВИ (2006), на первой всероссийской научно-практической конференции

молодых ученых «Научное обеспечение агропромышленного комплекса», посвященной 85-летию КубГАУ (2007), на международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины», посвященной 125-летию ветеринарии Курской области, доложены и обсуждены на заседаниях ученого совета Краснодарского НИВИ (2005 – 2008)

Основные положения, выводы и практические предложения, изложенные в диссертационной работе, заслушаны, обсуждены и одобрены на межлабораторном совещании сотрудников КНИВИ (2008)

**1.8. Публикация материалов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 1 в реферируемом издании, рекомендуемом ВАК РФ

**1.9. Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 191 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы, приложений

Работа иллюстрирована 37 таблицами, 21 рисунком. Список литературы включает 305 источников, из них 258 отечественных и 47 зарубежных авторов

**1.10. Внедрение результатов исследований.** Система мероприятий, для повышения сохранности и продуктивности крупного рогатого скота, включающая применение иммуностимулирующих препаратов ПАК-9000, иммунофан и левомизлов, внедрена в двух хозяйствах Краснодарского края: ОАО п/з им В И Чапаева Динского района и ОПХ п/з «Ленинский путь» Новокубанского района. На основе результатов исследований разработано «Временное наставление по применению препарата ПАК-9000», рассмотренное и одобренное ученым советом КНИВИ (протокол №4 от 26 мая 2008 г.)

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы исследований**

Работа проводилась в лабораториях терапии, фармакологии ГНУ Краснодарского НИВИ, кафедре органической химии КубГУ, кафедре анатомии сельскохозяйственных животных ФГОУ ВПО КубГАУ, лаборатории биотехнологии СКНИИЖ в 4 животноводческих хозяйствах Краснодарского края с 2006 по 2008 годы, согласно НИР по теме 08 04 03 госконтракту по НИОКР №2 3 /17-2007.

Анализ распространения неинфекционных болезней крупного рогатого скота проводили по данным ветеринарной отчетности Краснодарского края, форме 2-вет. Изучение иммунобиологических показате-

лей крупного рогатого скота проводили в 4-х хозяйствах 3-х районов края и г Краснодара

Эпизоотологические, клинические, патологоанатомические исследования проводили по общепринятым методам

Комплексный гематологический анализ – автоматизированным анализатором «Абакус» (Австрия) и унифицированным методом подсчета в счетной камере, подсчет общего количества лейкоцитов - унифицированными методами подсчета в автоматическом счетчике типа «PS-5» – Пикоскел и в счетной камере, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – методом Панченкова, гемоглобина – по методу Сали и гемиглобинцианидным методом, количественную оценку лимфоидных элементов - с помощью гематологического электронного цифрового счетчика, согласно методическим рекомендациям по ветеринарной гематологии (А А Кудрявцев, с соавт, М, 1969, Г А Симонян, Ф Ф Хисамутдинов, М, 1995).

Определение общего белка в сыворотке крови (колориметрически), белковых фракций (нефелометрически), каротина и витамина А (по Бессю, в модификации Анисовой), мочевины (цветной реакцией с диацетилмонооксимом и тиосемикарбазидом), общего кальция (с ортокризолфталенином), неорганического фосфора (с ванадат-молибдатным реактивом), глюкозы (ферментативно). Активность трансаминаз, мочевую кислоту, билирубин, общие липиды, - с помощью наборов фирмы «ДДС» Микроэлементный состав крови исследовался атомно-абсорбционным методом.

Бактерицидную активность сыворотки крови – нефелометрическим методом по отношению к референтному штамму *E coli* 0<sub>55</sub> в нашей модификации, лизоцимную активность сыворотки крови – нефелометрическим методом с *M lysodeitiscus* (ацетоновая культура), фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови – с тест-культурой *St aureus* 209p, оценку функциональной активности микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов – по спонтанному и стимулированному NBT- тесту, стимуляцию проводили тест-культурой *St aureus* 209p, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) – методом преципитации с полиэтиленгликолем-6000, количество Т-лимфоцитов и их субпопуляций – методом спонтанного розеткообразования со стабилизированными эритроцитами барана с теофиллином и без, количество В-лимфоцитов – розеткообразованием с ЕАС-комплексом с использованием стабилизированных эритроцитов быка, основываясь на “Методических указаниях по тестированию естественной резистентности телят” М, 1980, “Тестирование состояния микоби-

цидной системы нейтрофильных гранулоцитов в диагностике иммуно-го дефицита” и “Методах оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов”, И В Нестерова с соавт, 1992 Титры антиэритроцитарных антител определяли в РМГА согласно “Иммунологическим методам” под редакцией Г Фримеля, 1987 Инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота коров и колостральный иммунитет у телят выявляли в реакции иммунной диффузии в агаровом геле (РИД) согласно “Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота “ № 13-7-2/2130 от 23 08 2000 г с помощью набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота ФГУП “Курская биофабрика-фирма “Биок”, больных лейкозом коров – по результатам гематологического исследования – выявление повышенного содержания лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, согласно “лейкозного ключа”, выявление внутриутробного инфицирования телят вирусом лейкоза крупного рогатого скота – молекулярно-генетическим методом полимеразной цепной реакцией (ПЦР) “Nested» – ПЦР для гена *env* вируса лейкоза крупного рогатого скота проводили по методу *Licursi M et al* , титры к парагриппу –3 КРС в РТГА, согласно «наставлению по применению набора диагностикомов парагриппа-3 крупного рогатого скота» № 432-3 от 02 06 1989 г выпущенных Государственной Приволжской биофабрикой, ТУ-10-19-84-89, серия № 5

Общетоксические свойства препаратов оценивали путем определения острой и хронической токсичности а также возможных побочных свойств и отдаленных последствий в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве», утвержденными ГУВ СССР и «Методическими рекомендациями по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии», одобренных секцией отделения ветеринарной медицины РАСХН (1998)

Определение острой токсичности проводили на белых крысах по методу *Deishmann, Le Blank* (1943), согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных», Воронеж, 1987

Параметры хронической токсичности изучали по общепринятым методикам, при этом препараты задавали ежедневно в терапевтической, и дозах, превышающих терапевтическую в 3 и 5 раз в течение двух месяцев При наблюдениях учитывали потребление корма, воды, состояние шерсти и слизистых оболочек, показатели дыхания, пульса, температуры тела Взвешивание животных осуществляли в начале опыта, а затем каждые 20 дней, кровь для морфологических исследований брали

3 раза (фоновое, на 30 и 60 сутки) В начале и по окончании эксперимента проводили биохимические исследования сыворотки крови, а местно-раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт оценивали в процессе патоморфологического изучения при макро- и микроскопическом исследовании

В хронических опытах оценивали влияние препаратов на функцию пищеварительного тракта, для этого каждые 20 дней от животных опытной и контрольной групп собирали фекалии, в которых определяли цвет, запах, консистенцию (органолептически), наличие кровяных пигментов (бензидиновой пробой), желчных пигментов, жира (окраской суданом-3), крахмала (обработка раствором Люголя), рН-(лакмусовой бумагой)

Определение кумулятивных свойств проводили по методу Lim (1961), на белых крысах в течение 28 дней по определенной схеме, оценивая при этом степень накопления изучаемых препаратов в организме животных

Выявление кожно-резорбтивного действия изучаемых веществ проводилось по методике И В Саноцкого (1970) методом накожных аппликаций на морских свинках и конъюнктивальной пробой на кроликах.

Исследования по изучению эмбриотоксической и тератогенной активности проводили общепринятыми методами на белых мышах при ежедневном введении на протяжении всего срока беременности.

Патоморфологические исследования органов и тканей животных проводили общепринятыми в патоморфологии методам (Г А Меркулов, 1969), Материал для исследования (печень, селезенка, почки, легкие и сердце, семенники) отбирали непосредственно после убоя и фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина Кишечник отбирали в области перехода двенадцатиперстной кишки в тощую, а поджелудочную железу в центральной части вентральной доли Проводку материала для гистологических исследований осуществляли по общепринятой методике, заливку осуществляли в парафин, серийные парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм готовили при помощи санного микротомы МС-2, окрашивали гематоксилином и эозином Микрофотографии изготавливали при помощи микроскопа «Микмед -1» и цифрового фотоаппарата «Сапон -540 А», при увеличении  $\times 200$  (ок 10 х об 20) и  $\times 400$  (ок 10 х об 40)

Оценку фармакологического действия препаратов на основные показатели обмена веществ, проводили путем изучения гематологических и биохимических показателей крови опытных животных

Определение экономической эффективности применения препаратов проводили согласно “Методическим рекомендациям по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в агропромышленном комплексе” Москва, 2007

Математическую и биометрическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2000 на компьютере Пентиум 2, степень достоверности устанавливали по распределению Стьюдента

## **2.2. Распространение неинфекционных болезней крупного рогатого скота в Краснодарском крае**

Анализ заболеваемости и отхода крупного рогатого скота в Краснодарском крае свидетельствует о широком распространении незаразных болезней. Не смотря на значительное снижение поголовья за последние 10 лет - в 1,9 раза, заболеваемость животных остается высокой. Если в 1997 году заболеваемость крупного рогатого скота в Краснодарском крае была 63,4%, то в 2007 году этот показатель, только от незаразных болезней, составил 52,9% и колебался в 2005-2007 годах в пределах 51,2%- 52,9%, или ежегодно заболело 346900-400200 животных.

Таким образом, в Краснодарском крае заболеваемость крупного рогатого скота за последние три года составила  $51,8\% \pm 0,55$  к обороту стада. Наиболее часто регистрировали болезни органов размножения –  $39,17\% \pm 0,61$ , органов пищеварения –  $28,64\% \pm 0,49$ , органов дыхания –  $18,5\% \pm 0,39$  и обмена веществ –  $14,37\% \pm 0,24$ . Летальность животных за тот же период составила в среднем  $1,95\% \pm 0,11$ , смертность –  $1,01\% \pm 0,06$ . Наиболее часто регистрировали отход от болезней органов пищеварения – пало  $48,27\% \pm 0,78$  и вынуждено убито –  $46,02\% \pm 0,16$ , от болезней органов дыхания – пало  $25,63\% \pm 0,81$  и вынужденно убито  $28,64\% \pm 1,56$ , болезней обмена – пало  $15,57\% \pm 1,92$  и вынужденно убито  $10,45\% \pm 1,21$  соответственно к общему количеству павших и вынужденно убитых животных. От болезней органов размножения за тот же период пало  $1,15\% \pm 0,11$  и было вынужденно убито  $5,14\% \pm 0,18$ .

### **2.3. Иммунобиологические показатели крупного рогатого скота.**

#### **2.3.1. Иммунобиологические показатели крупного рогатого скота различных породных групп.**

Иммунобиологические показатели крупного рогатого скота различных пород молочного направления изучали на базе 4-х хозяйств Краснодарского края, имеющих хорошую кормовую базу и получаю-

щих молочную продуктивность выше 5,5 тыс кг молока на фуражную корову, у клинически здоровых дойных животных в возрасте 2-4 лактации, 2-4 месяцев стельности айширской, красной степной, голштино-фризской пород местного разведения и голштино-фризской породы привезенный из Ленинградской области

Достоверных различий между гематологическими показателями у животных различных породных групп не отмечали У коров красной степной породы выявлена эозинофилия в пределах  $6,33\% \pm 2,25$ , что может объясняться чрезмерной антигенной нагрузкой и подтверждается показателями ЦИК –  $600,17 \text{ед} \pm 89,05$ , которые, впрочем, очень высоки у всех обследованных животных, не зависимо от породной принадлежности и превышают показатели нормы в 3,2-12 раз

У обследованных коров показатели ФА ниже нормы и находятся в пределах  $18,4\% \pm 2,03$  –  $33,6\% \pm 3,44$ , низкая активность микробицидной системы НГ, что подтверждается результатами НБТ-теста и низким коэффициентом мобилизации, при достаточно высоком количестве фармазин-позитивных нейтрофилов в спонтанном НБТ-тесте

Относительное и абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов не имело достоверных различий у животных разных пород При низких показателях количества Т-лимфоцитов ( $36,17\% \pm 5,1$  –  $51,3\% \pm 3,2$ ) и В-лимфоцитов ( $21,83\% \pm 3,48$  –  $28,5\% \pm 3,62$ ) их соотношение находилось в пределах нормы

Количество Ig G у всех животных находился в пределах нормы, однако, у коров красной степной породы этот показатель был достоверно ( $P < 0,95$ ) на  $16,9\%$  –  $33,6\%$  ниже, чем у животных других пород, при этом количество Ig M было выше на  $21,9\%$  –  $52,5\%$  по сравнению с черно-пестрым и айширским скотом и превышало норму на  $12,5\%$

Бактерицидная активность сыворотки крови у коров айширской породы была достоверно ( $P < 0,01$ ) выше, чем у других породных групп и достигала значения  $91,01\% \pm 1,64$

Лизоцимная активность сыворотки крови у всех обследованных животных была низкой ( $19,2 \text{ед} \pm 10,6$  –  $23,9 \text{ед} \pm 1,05$ )

### **2.3.2. Иммунобиологические показатели крупного рогатого скота различных физиологических групп**

Иммунобиологические показатели коров различных физиологических групп изучали в ОПХ п/з «Ленинский путь» Новокубанского района, у клинически здоровых коров в возрасте 2-4 лактации, голштино-фризский породы 4 групп по 5 животных в группе 1 - коровы через 1-1,5 месяцев после отела, не стельные, 2 - стельность 7-7,5 месяцев, 3 – 2-4 месяца стельности, 4 - коровы – «перегульщицы», не стельные

У глубоко стельных сухостойных коров было достоверно ( $P < 0,001$ ) выше количество гемоглобина на 13,7% по сравнению с коровами в первой фазе лактации, на 10,4% - по сравнению с 3-й группой коров и на 10,1% - по сравнению с коровами- «перегульщицами»

Другие изученные гематологические показатели не имели достоверных различий. Количество эритроцитов снижено (ниже  $5 \times 10^{12} / л$ ) у всех животных, цветовой показатель был ниже нормы на 18,9% - 27,8%

Отмечена относительная эозинофилия у коров 3 и 4 групп и лимфоцитоз у коров 1 и 2 групп, нейтропения (на 24,3% - 44,1% ниже нормы) у всех обследованных животных

У всех животных снижена фагоцитарная активность, низкое фагоцитарное число, при этом фагоцитоз не завершен только в 4-й группе - коров - «перегульщиц» (показатель ниже 1,0)

Показатели клеточного звена иммунитета не имели достоверных различий, относительное и абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов снижено, их процентное соотношение соответствовало норме у всех коров, кроме животных 1-й группы, где отмечено снижение количества Т-лимфоцитов, количество Ig G у всех животных находился в пределах нормы, однако, у коров 4-й группы этот показатель был на 10,6% - 22,7% ниже, чем у животных других групп, при этом количества Ig M и Ig A находились в пределах нормы и не имели существенных отличий от показателей в других группах. ЦИК резко повышены у животных всех физиологических групп в 8-15 раз, по сравнению с коровами 1-й группы достоверно повышение этого показателя у животных 2-й ( $P < 0,001$ ) и 3-й групп ( $P < 0,05$ )

Низкая бактерицидная и лизоцимная ( $12,78 \text{ед} \pm 0,9 - 15,22 \text{ед} \pm 1,41$ ) активность сыворотки крови

### **2.3.3. Иммунобиологические показатели молодняка крупного рогатого скота различных возрастных групп**

Для изучения иммунобиологических показателей молодняка было сформировано 3 группы телят айширской породы разного возраста по 10 животных в группе. 1-я группа - телята в возрасте 1- 1,5 месяцев, 2-я группа - телята 3-4 месячного возраста и 3-я группа - телята 5-6 месяцев

У телят в возрасте 5-6 месяцев отмечается повышение общего количества лейкоцитов на 129% или в 2,3 раза по сравнению с телятами 3-4 месячного возраста и на 59,5% - телятами 1-1,5 месячного возраста. У всех возрастных групп выявлена анемия - цветовой показатель  $0,56 \text{ед} \pm 0,08 - 0,6 \text{ед} \pm 0,14 (0,03)$ , нейтропения и лимфоцитоз

Снижение фагоцитарной активности у телят 3-4-месячного возраста компенсировался за счет активизации микробицидной системы нитрофилов – коэффициент мобилизации  $1,33 \pm 0,29$ , в показателях клеточного звена иммунитета у животных данной возрастной группы отмечен сдвиг в сторону увеличения Т-лимфоцитов и нарушения соотношения Т- и В-лимфоцитов, при этом активность В-лимфоцитов повышена, о чем свидетельствует высокое значение Ig G

Показатели естественной резистентности находились на высоком уровне бактерицидная активность варьировала в диапазоне от  $42,1\% \pm 1,5$  у телят 3-4-х месячного возраста до  $73,9\% \pm 2,16$  – у телят 5-6-и месячного возраста, лизоцимная активность, соответственно от  $28,6 \text{ ед} \pm 4,8$  до  $38,34 \text{ ед} \pm 6,9$

Таким образом, установлено, что не смотря на возрастные, физиологические и породные особенности, у крупного рогатого скота в Краснодарском крае выявлены нарушения клеточного звена иммунитета, дефицит фагоцитоза, и неспецифического звена по лизоцимной активности

### **2 3.4. Биохимические показатели крупного рогатого скота различных возрастных групп**

Биохимические показатели, характеризующие основные обменные процессы были изучены у крупного рогатого скота айширской породы 3 групп телята 3-4-х месячного возраста, телки 15-17-и месячного возраста и коровы 2-3 лактации, 2-4-х месяцев стельности

Установили, что у 100% телят и у 33% телок общий белок ниже нормы на 18,7% - 41,5%, нарушение его фракционного состава выявлено у 100% телят, изменения в протеинограммах связаны с повышением альбуминовой (на 3,7% -23,8%), и резким снижением  $\gamma$ - глобулиновой фракции (на 20,4%-95,6%), что характерно при наличии иммунодефицитного состояния В 40% проб не значительно, на 3,8% -11,3% повышено содержание глюкозы, мочевины снижена в 50% проб АЛТ снижена у 90% телят, Са Р соотношение нарушено у 100% телят и 80% телок, за счет повышенного содержания Р Зарегистрированы низкие значения цинка и магния – 20%, железа – 100% проб, концентрация каротина на нижней границе нормы у 70% и ниже нормы у 30% обследованных телят Концентрация глюкозы снижена у 40% телок, патология печени по тимоловой пробе выявлена у 20% Концентрация каротина у всех телок ниже нормы

У 70% коров установили снижение общего белка и нарушение его фракционный состава за счет снижения альбуминовой и повышения

$\gamma$ -глобулиновой фракций, глюкоза снижена в 90% проб на 17,5%-82,5%, в 100% образцов нарушено Ca P соотношение, снижено содержание цинка и меди, в 80% - каротина Патология печени по тимоловой пробе установлена у 30% обследованных коров

Результаты проведенных исследований подтверждают мнение, что нарушения обменных процессов у крупного рогатого скота способствуют развитию вторичных иммунодефицитных состояний

### **2.3.5 Иммунобиологические показатели инфицированных ВЛ КРС и больных лейкозом коров в сравнении с интактными**

Лейкоз крупного рогатого скота, занимает в структуре инфекционных патологий в Краснодарском крае ведущее место

Изучили показатели иммунитета и их взаимосвязь с обменными процессами у глубоко стельных интактных, зараженных ВЛ КРС и больных лейкозом коров айширской породы 2-3 стельности, из которых сформировали 3 группы по 10 голов в каждой

1-инфицированные, 2 - интактные, 3 – больные

У больных лейкозом коров понижено содержание общего белка ( $P < 0,001$ ), изменен его фракционный состав за счет увеличения  $\beta$ -глобулиновой и снижения  $\gamma$ -глобулиновой фракций Количество глюкозы у больных и интактных коров сравнимы, однако, отмечено резкое снижение этого показателя у инфицированных животных – на 45%, по сравнению с интактными Количество мочевины достоверно ( $P < 0,05$ ) снижено у больных коров, аминотрансферазы соответствуют показателям нормы

Установлено достоверное снижение уровня магния, цинка и железа в сыворотке крови больных лейкозом коров, магния – инфицированных Кальций повышен на 43% у инфицированных коров Достоверно снижение каротина у инфицированных и больных лейкозом коров по сравнению с интактными У больных коров достоверно ( $P < 0,01$ ) снижено количество гемоглобина, прослеживается тенденция к развитию анемии, лейкоцитоз, лимфоцитоз, нейтропения Остальные гематологические показатели достоверно не различались у больных лейкозом, инфицированных ВЛ КРС и интактных коров

Результаты иммунологических исследований выявили повышение ФЧ и ФИ, при резко сниженной активности микробицидной системы У больных коров регистрируется увеличение количества Т- и В-лимфоцитов, как в процентном, так и в абсолютном значениях, однако, функциональная активность В-лимфоцитов, продуцирующих иммуноглобулин класса М снижена

Лизоцимная активность сыворотки крови интактных коров была ниже на 32,8% по сравнению с инфицированными и на 31,7% - больными лейкозом. Бактерицидная активность сыворотки крови интактных животных на 38,8% ниже, чем у инфицированных и на 20,6% выше, чем у больных.

#### **2.4. Влияние ПАК-9000 на иммуногенез**

Изучение влияния различных доз двух новых синтезированных препаратов (препараты представляют собой прозрачные, слегка опалесцирующие 3% растворы сополимеров (ПАК-ПАН) и полимера (ПАК-9000) органических кислот в дистиллированной воде, pH 5,5-6,1) на иммуногенез по иммунному ответу на внутривенное введение эритроцитарного антигена беспородным белым мышам массой 18-20 г

Было использовано 70 белых мышей, которых по принципу пар-аналогов разделили на 7 групп по 10 животных в группе шесть опытных и 1 – контрольная. Изучали дозировки препаратов 0,1, 0,25 и 0,5 мг/кг массы при внутримышечном введении на фоне двукратной иммунизации отмытыми эритроцитами барана. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Через 7 дней после второго введения эритроцитов у мышей всех групп взяли кровь и определили уровень антиэритроцитарных антител в РМГА. Наиболее высокие титры антител были у животных 5 опытной группы, которым ввели ПАК-9000 в дозе 0,1 мг/кг массы тела - 1 256. Основываясь на полученных результатах в дальнейшем проводили изучение препарата ПАК-9000 в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного при внутримышечном введении.

#### **2.5. Токсикологическая оценка ПАК-9000**

Изучение острой токсичности препарата ПАК-9000 проводили на 16 белых не линейных крысах с массой тела 195-205 г из которых по принципу пар-аналогов сформировали две группы – опытную и контрольную. Крысам однократно в диапазоне от 4 до 646 мг/кг массы тела, вводили препарат для определения различных доз LD при однократном внутримышечном введении препарата, в диапазоне объемов от 0,02 см<sup>3</sup> до 5,0 см<sup>3</sup>. Животным контрольной группы в тех же объемах - физиологический раствор. Наблюдение вели в течение 14 дней.

Было установлено, что введение препарата животным с № 1-7 не выявило клинической картины отравления. Введение крысе с № 9 препарата в дозе 436 мг/кг массы тела привело к появлению выраженных клинических признаков интоксикации, на 11 день наступила гибель (таб 1).

Таблица 1

Результаты определения острой токсичности препарата ПАК 9000 для крыс при внутримышечном введении (n=11)

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Исследуемая доза, мг/кг	4	8	16	32	64	128	282	320	436	646	359
Выжило/погибло (+/-)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
День наступления гибели									11	9	9

Исходя из факта гибели животного № 9, не перенесшего дозу препарата 436 мг/кг массы тела и оставшейся в живых крысы под № 8 с дозировкой 320 мг/кг, была установлена доза, являющаяся максимально переносимой и не вызывающей гибели животного при однократном внутримышечном применении – LD<sub>0</sub> – 320,0 мг/кг массы тела. Доза 359,0 мг/кг массы тела соответствует LD<sub>50</sub>, доза 436 мг/кг массы тела соответствует LD<sub>100</sub>.

Изучение хронической токсичности препарата ПАК-9000 проводили на 40 беспородных белых крысах живой массой 185-205 г, которых по принципу пар-аналогов разделили на 4 группы по 10 животных в группе – три опытных и одна контрольная.

Крысам 1 опытной группы терапевтическую дозу (0,1 мг/кг массы тела) ПАК-9000 вводили внутримышечно, на протяжении 2 месяцев по схеме трижды, с интервалом 24 часа. Животным второй и третьей опытных групп - в трехкратной и пятикратной терапевтической дозе (0,3 мг/кг и 0,5 мг/кг массы тела) в объеме 0,5 см<sup>3</sup>. Контрольным животным в том же объеме инъецировали стерильный физиологический раствор.

За животными вели наблюдение в течение всего срока эксперимента. Учитывали общее состояние, аппетит, активность, поведенческие реакции. Массу тела контролировали трехкратно в начале опыта, через 30 дней и на момент завершения исследований, в те же сроки отбирали кровь для проведения гематологических и иммунологических исследований.

Установили, что длительное применение препарата в терапевтической и дозах в 3 и 5 раз превышающих рекомендуемую терапевтическую не оказывает вредного влияния на организм белых крыс. Расстройств пищеварения от применения препарата ПАК- 9000 не зарегистрировано.

Анализ динамики массы тела в выявил увеличение данного показателя у животных всех опытных групп, наибольший эффект наблюдали при введении препарата в дозе 0,1 мг/кг массы тела Прирост массы тела на 1 животное в первой группе составил 202,4%, во второй – 127,8% и в третьей – 115,4% по отношению к контролю

Морфологические исследования крови не выявили токсического влияния препарата ПАК-9000 Показатели, характеризующие иммунитет, свидетельствуют о иммуностимулирующим действии изучаемого препарата, отмечено повышение лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности нейтрофилов и их микробицидной системы, что подтверждается показателями ФА, ФЧ, КМ

При проведении патоморфологических исследований органов убитых после последнего взвешивания подопытных крыс отклонений и особенностей строения выявлено не было

Длительное введение ПАК-9000 в терапевтической дозе и дозах, в три и пять раз превышающих терапевтическую, вредного действия на организм не оказало, функции жизненно важных органов и систем остались без изменений

Изучение субхронической токсичности препарата ПАК- 9000 проводилось на белых крысах в течение 28 дней Препарат вводился ежедневно внутримышечно с начальной дозой от LD<sub>50</sub> (359 мг/кг) по схеме, представленной в таблице 2 За животными вели ежедневное наблюдение, проводили морфологические исследования крови Погибшие крысы подвергались патологоанатомическому вскрытию с последующим гистологическим исследованием внутренних органов

В результате исследований установлено, что гибель животных от суммарного применения доз препарата ПАК- 9000 наблюдалась на 11,12,13,15,19,21,22,23 и 24 сутки от начала эксперимента Кк = 5,24 - по классификации Л И. Медведя с соавторами (1968г ), образец препарата ПАК-9000 относится к 4-му классу по кумулятивному действию - слабая кумуляция

Анализируя полученные результаты, установили, что суммарная доза препарата в 11630 раз превышающая терапевтическую, вызывала у подопытных крыс умеренный лейкоцитоз, лимфоцитоз, эозинопению, нейтропению Доза в 29580 раз превышающая терапевтическую, вызывала у животных резкий лейкоцитоз ( в пределах  $41,2 \times 10^9/\text{л} \pm 1,6$ , что в 2 раза превышает норму), лимфоцитоз, нейтрофилез, снижение количества гемоглобина и эритроцитов, что свидетельствует о развитии воспалительной реакции

Таблица 2

Схема проведения субхронической токсичности препарата ПАК - 9000 (n=35)

период дни	1 1-4	2 5-8	3 9-12	4 13-16	5 17-20	6 21-24	7 25-28
доли от LD <sub>50</sub> (359 мг/кг)	0,1	0,15	0,22	0,34	0,5	0,75	1,12
доза, мг/кг	35,9	53,85	78,98	122,06	179,5	269,25	402,08
гибель, %	0	0	13,3	6,7	13,3	53,4	13,3
суммар- ная доза за пери- од, мг/кг	143,6	215,4	315,92	488,24	718,0	1077,6	1608,32
суммар- ная доза от нача- ла опы- та, мг/кг	143,6	359,0	674,92	1163,16	1881,16	2958,76	4567,08

По окончании эксперимента, было изучено воздействие препарата на макро- и микроструктуры внутренних органов

У животных макроскопически регистрировали фибринозный перикардит, серозно-геморрагический экссудат в брюшной полости, отек и эмфизему легких, вздутие желудка (на фоне воспаления дна желудка), серозно-катаральный энтерит, вздутие толстого отдела кишечника, резкое увеличение слепой кишки, жировая дистрофия печени, увеличение селезенки, желчного пузыря и почек, переполнение мочевого пузыря, геморрагический отек семенников (у самцов), отек задних конечностей

При анализе результатов патоморфологических исследований установили, что препарат ПАК-9000 обладает избирательным кумулятивно-токсическим действием, в высоких дозировках оказывает токсическое действие на печень, почки, сердце, селезенку, слизистую желудка, лимфатические узлы, обладает ярко выраженным аутоиммунным действием

### **2.5.1. Раздражающее и кожно-резорбтивное действие ПАК-9000**

Местнораздражающее действие препарата ПАК- 9000 изучали путем эпидермальных провокационных накожных аппликаций на морских свинках. Перед началом опыта проводили сенсибилизацию животных путем многократных (18 раз) в объеме  $0,1 \text{ см}^3$  нанесений на кожу ПАК-9000. После выдержки инкубационного периода, продолжавшегося 14 дней, на свежевыстриженный участок кожи наносили разрешающую дозу препарата –  $0,3 \text{ см}^3$ . Изменений в клиническом статусе животных и на месте аппликации за время проведения опыта и после его прекращения выявлено не было. Эластичность, подвижность и упругость кожи оставалась неизменной. При пальпации места аппликации болевая реакция не отмечалась. Отека кожи и геморрагий не установлено.

На основании перечисленного выше, реакцию оценили как отрицательную.

При постановке конъюнктивальной пробы на кроликах изменений местного аллергического характера не выявили.

Таким образом, препарат ПАК 9000 не оказывает патологического действия на организм животных, его можно охарактеризовать как не обладающий раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

### **2.5.2. Эмбриотоксическая и тератогенная активность ПАК-9000**

Исследования по изучению эмбриотоксической и тератогенной активности препарата ПАК-9000 были проведены общепринятыми методами на белых крысах при внутримышечном введении на протяжении всего срока беременности.

В результате проведенных исследований установлено, что его назначение в терапевтической дозе беременным животным не оказывает токсического влияния на течение беременности и роды, потомство, рожденное от крыс, которым вводили препарат во время беременности, не отличалось от крысят контрольных животных. Различий в росте, развитии и поведении обнаружено не было.

### **2.6. Токсикологическая оценка иммунофана**

Изучение токсичности (острой и хронической) иммунофана проводили совместно с А.Г. Степановым.

Острую токсичность препарата определяли на 60-ти белых беспородных мышах. Препарат вводили однократно подкожно, в объеме  $0,1 \text{ см}^3$  на 10 г веса мышцы. Длительность наблюдения за животными составляла 14 дней.

Состояние животных оценивали по поведению, пищевой активности, изменению массы тела.

Хроническую токсичность иммунофана изучали при подкожном введении на 160 крысах. При подборе доз для проведения хронических экспериментов учитывали рекомендуемую терапевтическую дозу для клинических исследований, а также величины ЛД<sub>50</sub> препарата при подкожном введении мышам. Исходя из этого, его терапевтическая доза была равна 0,5 мкг/кг (1/120000 от ЛД<sub>50</sub>) и промежуточная (между субтоксической и терапевтической) - 5 мкг/кг (1/12000 от ЛД<sub>50</sub>).

Животным контрольных групп вводили подкожно стерильный физиологический раствор в том же объеме. Препараты вводили в течение месяца. Наблюдали за общим состоянием животных, гомеостаз оценивали с помощью гематологических, биохимических и патоморфологических тестов.

В результате проведенных исследований установили, что при однократном подкожном введении иммунофана мышам в максимальных дозах (30-60 мг/кг) в течение 50-70 минут отмечалось резкое угнетение двигательной и рефлекторной активности мышей, которое проходило через 2-3 часа. Гибели у подопытных мышей в течение суток не отмечалось. Наблюдения за мышами в последующие 14 суток не выявили значительных отклонений от нормы поведения животных в целом.

Учитывая малые рекомендуемые терапевтические дозы (0,5 мкг/кг), сочли нецелесообразным дальнейшее определение ЛД<sub>50</sub> препарата.

При изучении хронической токсичности иммунофана не установлено значимых изменений биохимических показателей крыс, при патологоанатомических исследованиях не выявлено его вредного действия в дозах 0,5-50 мкг/кг при ежедневном однократном подкожном введении крысам в течение одного месяца, а в терапевтической дозе (0,5 мкг/кг) препарат способствовал отчетливому (статистически значимому) увеличению массы тела крыс.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о слабой токсичности иммунофана.

### **2.6.1. Раздражающее и кожно-резорбтивное действие иммунофана**

Местнораздражающее действие иммунофана изучали путем эпидермальных провокационных кожных аппликаций на морских свинках и конъюнктивальной пробы на кроликах.

Установили, что иммунофан в дозах 0,5, 5 и 50 мкг/кг при внутрикожном введении сенсибилизированному животному не оказывает раздражающего действия.

У кроликов в 50% случаев наблюдалась положительная реакция через 24 часа после введения 0,1% раствора иммунофана в конъюнктивальную область, которая исчезла к 48 часу наблюдения.

Таким образом, введение иммунофана в дозах 0,5, 5 и 50 мкг/кг не оказывает патологически значимых изменений аллергологического статуса организма животных

## **2.7. Применение иммунокорректоров при болезнях КРС**

### **2.7.1. Влияние иммунокорректоров на инфицирование ВЛ КРС**

Для изучения влияния совместного применения иммуностимулирующих препаратов и витаминно-минеральных премиксов на внутриутробное и постнатальное инфицирование телят ВЛ КРС отобрали 20 инфицированных и больных лейкозом коров, которых по принципу параналогов разделили на 4 группы, по 5 голов. Всем взятым в опыт животным в рацион ввели премикс. Коровам 1-й группы по схеме 1 раз в неделю до отела внутримышечно вводили левамизол из расчета 1 мг/кг массы тела животного.

2-й группы - внутримышечно вводили иммунофан из расчета 0,5 мкг/кг массы тела животного.

3-й группы - препарат ПАК-9000 из расчета 0,15 мг/кг массы тела животного.

4-й контрольной группы - в те же сроки по 5, 0 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора.

Телятам, полученным от коров опытных групп ежемесячно, трижды с интервалом 3 дня вводили иммуномодуляторы, которые применяли их матерям, в тех же дозировках. Интерьерные показатели коров изучали до начала опыта и через 1 месяц после отела. Внутриутробное инфицирование телят не получавших молозива выявляли молекулярно-генетическим методом в ПЦР и в РИД. Продолжительность колострального иммунитета, инфицирование телят вирусом лейкоза и их интерьерные показатели определяли в 4,5 и 6 месячном возрасте.

Установили, что при введении иммуностимуляторов глубоко стельным инфицированным ВЛ КРС и больным лейкозом коровам на фоне нормализации обменных процессов регистрируется увеличение в сыворотке крови общего количества белка на 14%, 14,4% и 10,9% по сравнению с коровами контрольной группы, повысилось содержание альбуминовой и  $\gamma$ -глобулиновой фракций, глюкозы, цинка, железа, магния, меди. Снизилось количество мочевины, нормализовались гематологические и иммунологические показатели.

Внутриутробное инфицирование зарегистрировано у 1 (20%) теленка контрольной группы, до приема молозива все телята были РИД негативны. В 4-х месячном возрасте было выявлено 3 РИД позитивных теленка: 2 (40%) в контрольной группе и 1 (20%) в группе, где животным вводили иммунофан.

Данные гематологических исследований новорожденных телят свидетельствуют об усиленном эритропоэзе у телят опытных групп, по сравнению с контрольной и гемопоэзе у животных 2 и 3 опытных групп, нормализовалось количества лейкоцитов и лимфоцитов. Масса телят при рождении в контрольной группе составляла 23,4 кг, что на 14,5% ниже, чем в первой, на 14,9% - чем во второй и на 13,97% чем в третьей опытной группе, где эти показатели составили соответственно 27,4 кг, 27,5 кг и 27,2 кг

### 2.7.2. Влияние иммуностимуляторов на иммунобиологические показатели и сохранность коров после отела

Влияние иммунофана и ПАК-9000 на иммунобиологические показатели и сохранность коров после отела проводили на базе п/з «Чапаева», Динского района и учхоза «Краснодарский», г Краснодар на коровах 7-7,5 мес стельности

Животным 1-х опытных групп трижды, с интервалом 7 дней вводили иммунофан в дозе 0,5 мг/кг, 2-х опытных групп – ПАК-9000 в дозе 0,1 мг/кг, контрольных - физ раствор

Проанализировав состояние коров после отела установили, что заболеваемость животных в опытных группах была ниже, чем в контрольных в п/з им Чапаева сохранность коров после отела составила 85,7% (выбыла 1 корова), а среднее количество дней до первого осеменения - 105,5, во второй опытной группе сохранность была 100% а количество дней до первого осеменения - 88,5, тогда как в контрольной группе эти показатели были соответственно 71,4% (выбыло 2 коровы) и 107 дней, или на 2 дня больше чем в первой и на 18,5 – чем во второй (таб 3)

Таблица 3

Влияние иммунокорректоров на сохранность и оплодотворяемость коров в течение 6 месяцев после отела в ОАО п/з им В И Чапаева (n=7)

№ груп пы	Препарат	Сохранность коров после отела		Количество дней до 1-го осеменения	Стельных коров	
		коров	%		коров	%
1	Иммунофан	6	85,7	105,5	4	57,1
2	ПАК-9000	7	100	88,5	6	85,7
3	Физ раствор	5	71,4	107	4	57,1

В учхозе «Краснодарский», в опытной группе сохранность коров составила 71,4% (выбыло 2 головы), а количество дней до первого осеменения – 95,6, в контрольной группе сохранность была всего 28,6%

(выбыло 5 коров), у оставшихся в живых количество дней до первого осеменения 84,5

У коров опытных групп нормализовался белковый, углеводный, витаминный и минеральный обмены, стабилизировались гематологические и иммунологические показатели, масса телят при рождении в опытных группах была выше, чем в контроле соответственно на 2,9% и 1,03%

### **2.7.3. Влияние иммуностимуляторов на иммунобиологические**

#### **показатели и сохранность телят**

Влияние иммунофана и ПАК-9000 на иммунобиологические показатели и сохранность телят изучали в двух сериях опытов в ОАО п/з им В И Чапаева Динского

Для проведения исследований по принципу пар-аналогов сформировали 3 группы коров (2 опытных и контрольную) в возрасте 2-4 отела, со сроком стельности 7-7,5 месяцев

Все животные получали общий для данной физиологической группы рацион с добавлением минерально-витаминного кормового премикса, выпускаемого отделом фармации Краснодарского НИВИ

Телятам, полученным от коров 1-й опытной группы (с 14-и дневного возраста) дважды с интервалом 14 дней вводили иммунофан в объеме 1,0 см<sup>3</sup> Коровам и телятам 2-й опытной группы по аналогичной схеме вводили ПАК-9000 из расчета 0,1 мг/кг массы тела Животным контрольной группы вводили стерильный физиологический раствор

Кроме того телят, полученных от коров опытных и контрольной групп в 14-20-и дневном возрасте дважды, с интервалом 14 дней вакцинировали против ПГ-3 и ИРТ, инактивированной сорбированной вакциной, выпускаемой ВНИИЗЖ, согласно наставлению по применению

Кровь для проведения гематологических, биохимических, иммунологических исследований брали до применения иммуностимуляторов и через 14 дней после повторного введения препаратов Критериями оценки эффективности были показатели живого веса телят при рождении, заболеваемости, сохранности, прироста живой массы, титры специфических антител к ПГ-3

Было установлено, что через 14 дней после второго введения иммуностимуляторов у телят контрольных групп достоверно повысилось количество эритроцитов (на 12 % -12,7%), гемоглобина ( на 9,8%-12,3%), бактерицидной и фагоцитарной активности сыворотки крови, КМ по НБТ-тесту

Количество лейкоцитов у телят опытных групп в конце опыта снизилось на 33,6% - 40,4% и составило  $6,9 \times 10^9/\text{л}$  –  $7,27 \times 10^9/\text{л}$ , у телят контрольной группы снизилось на 31,4% и было выше нормы

Бактерицидная активность сыворотки крови у телят опытных групп возросла в среднем на 44,5% по отношению к фоновым показателям и была выше на 40,1% -97% чем у телят контрольной группы в тот же период. Активность фагоцитоза у подопытных и контрольных животных увеличилась по сравнению с фоновыми показателями, однако, у телят опытных групп это увеличение было более значительным

Заболевания парагриппом-3 в опытных группах телят не отмечали. В контрольных группах заболело 57% животных

Таблица 4

Прирост живой массы, заболеваемость и сохранность телят

№ п/п	Показатель	Препарат		
		Иммунофан	ПАК - 9000	Контроль
1	Количество животных	15	15	15
2	Заболело	5	3	7
3	Пало	2	0	3
4	Заболеваемость%	33,3	20	46,6
5	Сохранность	86,7	100	80
6	Средняя масса тела при рождении	29,7	29,15	28,85
7	Среднесуточный прирост	0,654	0,568	0,480
8	Средняя масса тела в 2 мес	68,94	63,25	57,65

Заболеваемость телят 1 опытной группы была ниже, чем контрольной на 13,3% и составляла 33,3%, тогда как в контрольной группе

этот показатель был равен 46,6% Во второй опытной группе заболеваемость телят была 20%, что ниже показателей контроля на 26,6% Сохранность телят опытных групп также была выше, чем в контрольной на 6,7% в первой опытной группе, что составило 86,7% против 80% в контрольной группе, во второй опытной группе этот показатель был на 20 % выше по сравнению с контролем и равнялся 100% - не пал ни один теленок

Масса тела при рождении у телят первой и второй опытных групп был выше чем у контрольных соответственно на 2,86% и 1,03%

Среднесуточный прирост массы тела у телят первой опытной группы был выше, чем у контрольных аналогов на 26,6% и составлял 0,654 кг, в контрольной группе этот показатель был на уровне 0,480 кг Во второй опытной группе среднесуточный прирост массы тела был выше, чем у контрольных на 15,5% и составлял 0,568 кг

Таким образом, введение в систему комплексной этиопатогенетической фармакопрофилактики иммуностимулирующих препаратов иммунофан и ПАК-9000 способствует снижению заболеваемости, повышению сохранности молодняка крупного рогатого скота, увеличению прироста массы тела телят

Иммуностимуляторы способствовали повышению количества общего белка и нормализации показателей протеинограмм у животных опытных групп за счет повышения относительного количества  $\gamma$ -глобулинов и снижения альбуминовой фракции, стабилизировался минеральный обмен, и хотя во всех группах Ca р соотношение было нарушено (за счет высокого уровня P), но у телят опытных групп этот дисбаланс был выражен меньше (таблица 5)

Таблица 5

Влияние иммуномадуляторов на биохимические показатели телят  
( $M \pm n$ , n=15)

Группа	Об- щий белок	аль- бу- ми-	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	мочеви- на	глюко- за	Ca	P
1	66,4	55,8	15,4	12,3	16,5	0,54	3,19	2,08	2,52
2	64,8	61,25	12	11,45	15,3	0,67	4,02	2,17	2,9
кон- троль	62,2	62,2	11,3	10,9	15,6	0,66	3,72	2,19	3,0
	г/л	%	%	%	%	м моль/л	м моль/л	м моль/л	м моль/л

Уровень общего белка у подопытных телят был выше на 4,1 -

6,3% по сравнению с контрольными

При проведении широкого производственного опыта по изучению влияния ПАК-9000 на заболеваемость и сохранность молодняка крупного рогатого скота в ОПХ п/з «Ленинский путь» Новокубанского района, установили, что при его введении в систему лечебно-профилактических мероприятий, сохранность телят повысилась с 86,25% до 96,16% или на 10%, что в абсолютных значениях дает прибавку по хозяйству за год – 167 телят (таб 6)

Таблица 6

Показатели отхода и сохранности телят при применении ПАК-9000

Ферма	До применения ПАК-9000			С использованием ПАК-9000				
	Получено телят за год	Отход		Сохранность, %	Получено телят за год	Отход		Сохранность, %
		телят	%			телят	%	
МТФ 1	604	111	18,4	81,6	631	17	2,6	97,4
МТФ 3	449	24	5,3	94,6	472	14	3,0	97,0
МТФ 5	504	79	15,7	84,4	564	33	5,8	94,2
По хозяйству	1557	214	13,7	86,25	1667	64	3,8	96,2

Кроме повышения сохранности, применение препарата ПАК-9000 способствовало снижению послеродовых осложнений у коров и нетелей, повысилось количество полученных телят на 6,6% или 110 голов

Таким образом, применение иммуностимулирующего препарата ПАК-9000 повышает рождаемость телят, снижает заболеваемость и повышает сохранность молодняка крупного рогатого скота

### 3 ВЫВОДЫ

1 Заболеваемость КРС в Краснодарском крае остается высокой, в 2005-2007гг колебалась в пределах 51,2% - 52,9% к обороту стада Наиболее часто регистрировали болезни органов размножения – 39,17±0,61%, пищеварения – 28,64±0,49%, дыхания – 18,5±0,39%, обмена веществ – 14,37±0,24%

Летальность за тот же период составила в среднем 1,95±0,11%, смертность – 1,01±0,06% От болезней органов пищеварения – пало 48,27%±0,78 и вынужденно убито – 46,02%±0,16, органов дыхания – пало 25,63%±0,81 и вынужденно убито 28,64%±1,56, болезней обмена – пало 15,57%±1,92 и вынужденно убито 10,45%±1,21 соответственно к общему количеству павших и вынужденно убитых животных От болез-

ней органов размножения пало  $1,15\% \pm 0,11$  и было вынужденно убито  $5,14\% \pm 0,18$

2 У коров в не зависимости от породной принадлежности регистрируются дефицит клеточного звена иммунитета ( процент содержания Т – лимфоцитов –  $36,17\% \pm 5,18$  –  $51,3\% \pm 3,2$ , В-лимфоцитов –  $21,83\% \pm 3,48$  –  $28,5\% \pm 3,62$ ), фагоцитоза ( $18,4\% \pm 2,03$  –  $33,6\% \pm 3,44$ ) и низкие показатели лизоцимной активности ( $19,2$  ед  $\pm 10,6$  –  $23,9$  ед  $\pm 1,05$ ), при резко (в  $3,2$  –  $12$  раз) повышенных ЦИКах

У молодняка крупного рогатого скота 1-6 месячного возраста отмечается дефицит фагоцитоза (процент НГ в пределах  $19,8\% \pm 2,9$ – $28,0\% \pm 2,75$ ), анемия – ЦП от  $0,56$  ед  $\pm 0,08$  до  $0,6$  ед  $\pm 0,14$ , нарушение клеточного звена иммунитета

3 У телят 3-4 месячного возраста нарушены белковый (снижен общий белок на  $18,7$  –  $41,5\%$ , повышена альбуминовая (на  $3,7\%$ - $23,86\%$ ) и резко снижена  $\gamma$ -глобулиновая (на  $20,4$ - $95,6\%$ ) фракции, углеводный (повышена глюкоза на  $3,8\% \pm 1,3$  в  $40\%$  проб), минеральный (нарушено Са Р соотношение за счет повышенного содержания Р), витаминный (каротин у  $70\%$  животных на нижней границе, у  $30\%$  проб – ниже нормы) обмена

У телок случного возраста и коров кроме этого, отмечается нарушение фракционного состава белка за счет повышения  $\gamma$  - глобулиновой фракции у  $70\%$  животных и патология печени у  $30\%$  по тимоловой пробе

4 У инфицированных ВЛ КРС и больных лейкозом коров увеличено количество Т- и В- лимфоцитов соответственно на  $22,9$  –  $24,8\%$  и  $5,7\%$  -  $62,9\%$ , снижена функциональная активность В – лимфоцитов, продуцирующих Ig класса М на  $21,8\%$  и  $92\%$ , активность микробицидной системы микрофагов на -  $45,5\%$  и  $47,3\%$  по КМ

У больных лейкозом коров изменен фракционный состав белка за счет увеличения  $\beta$  - глобулиновой фракции на  $43,3\%$  и снижения  $\gamma$  - глобулиновой на  $36\%$ , снижено количество мочевины на  $45,9\%$ , магния на  $41,2\%$ , цинка на  $19,5\%$ , железа на  $21,9\%$ , каротина на  $71,4\%$ , гемоглобина на  $20\%$

5 Иммуностимулятор ПАК – 9000 в дозе  $0,1$  мг/кг массы тела активизирует иммуногенез, повышает титры антиэритроцитарных антител в  $9,6$  раз, по сравнению с контролем Среднесмертельная доза препарата ( $LD_{50} = 359,0$  мг/кг массы тела) в  $3590$  раз превышает рекомендуемую терапевтическую Не оказывает вредного действия на организм при длительном введении Относится к 4-му классу кумуляции –

слабая кумуляция. Не обладает местным раздражающим и кожно-резорбтивным действием, эмбриотоксической и тератогенной активностью.

Иммунофан относится к малотоксичным препаратам. При длительном многократном его введении не оказывает токсического действия на организм животных, не вызывает морфофункциональных изменений систем и тканей органов, не нарушает процессы пищеварения, мочеотделения, не проявляет сенсибилизирующего действия.

6 Применение иммуностимулирующих препаратов левамизола в дозе 1 мг/кг массы тела, иммунофана – 0,5 мг/кг массы тела, ПАК-9000 – 0,15 мг/кг массы тела глубокоостельным инфицированным ВЛ КРС и большим лейкозом коровам на фоне применения минерально-витаминных премиксов, нормализует обменные процессы, увеличивает количество белка в сыворотке крови на 10,9% - 14,4%, содержание альбуминовой и  $\gamma$ -глобулиновой фракции, глюкозы, микроэлементов. Снижает внутриутробное инфицирование телят ВЛ КРС в эксперименте на 20%, повышает массу тела при рождении на 13,97% – 14,9%.

Введение иммуностимуляторов телятам снижает постнатальное инфицирование ВЛ КРС на 50-100%, активизирует эритро- и гемопоз.

7 Применение иммунофана и ПАК –9000 глубокоостельным коровам нормализует гематологические показатели, белковый, углеводный, витаминный обмен, повышает сохранность коров после отела соответственно на 16,6% и 28,6%-40,0%, сокращает количество дней до 1-го осеменения на 1,5-18,5 и повышает оплодотворенность коров на 33,2% - 33,4%.

8 Введение иммунофана и ПАК – 9000 в систему профилактических мероприятий повышает у телят опытных групп эритропоз (количество эритроцитов по сравнению с контролем выше соответственно на 12% и 12,7%), гемопоз (увеличение гемоглобина на 9,8% и 12,3%), фагоцитарную и бактерицидную активность крови, нормализует обменные процессы. Повышается общий белок на 4,1% - 6,8%,  $\gamma$ -глобулиновой фракция.

Заболееваемость телят опытных групп ниже, по сравнению с контролем на 13,3%-20%. Масса тела при рождении выше, чем в контроле в среднем по группам на 2,86% и 1,03%, среднесуточный прирост массы тела выше на 26,6% и 15,5%.

9 Введение ПАК- 9000 в систему профилактических мероприятий в условиях широкого производственного опыта повысило рождаемость телят – на 6,6%, сохранность - на 9,91%, что позволило дополнительно

но по хозяйству получить 265 телят Экономическая эффективность его применения – 5,1 рубля на 1 рубль затрат

#### **4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Для повышения естественной резистентности крупного рогатого скота, снижения его заболеваемости, отхода и повышения продуктивности показано применение иммуностимулирующих препаратов, нормализующих показатели клеточного звена иммунитета, повышающие активность фагоцитов и неспецифических гуморальных факторов – иммунофан и ПАК-9000. Применение иммуностимуляторов осуществлять на фоне нормализации обменных процессов и под контролем иммунологических показателей. Рекомендуется применение препаратов иммунофан и ПАК-9000 в системе оздоровительных противолейкозных мероприятий. На основе результатов исследований разработано «Временное наставление по применению препарата ПАК-9000», рассмотренное и одобренное ученым советом КНИВИ (протокол №4 от 26 мая 2008 г.)

#### **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

- 1 Семененко М П Состояние обмена веществ и естественной резистентности организма при некоторых желудочно-кишечных и респираторных патологиях у молодняка сельскохозяйственных животных / М П Семененко, Н Ю Басова, М А Староселов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины – Курск, 2008 – С 364-367
- 2 Марков А Н Влияние левамизола на иммунные показатели телок/ А Н Марков, М А Староселов, Н Ю Басова// Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях – Краснодар, 2006 – С 411-414
- 3 Староселов М А Влияние препарата иммунофан на показатели естественной резистентности и сохранности телят / М А Староселов // Труды КубГАУ – 2008 – Вып № 3(12)
- 4 Староселов М А Иммунологические показатели инфицированного вирусом лейкоза КРС и больных лейкозом коров в сравнении с интактными / М А Староселов, Н Ю Басова // Научный журнал КубГАУ [электронный ресурс] – Краснодар КубГАУ, 2008 - № 06(40) – 8 с – Режим доступа <http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/07.pdf>
- 5 Староселов М А Иммунологические показатели крупного рогатого скота различных физиологических групп / М А Староселов, Н Ю Басова // Научный журнал КубГАУ [электронный ресурс] – Краснодар КубГАУ, 2008 - № 06(40) – 6 с – Режим доступа <http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/07.pdf>

Подписано в печать 10 06 2008 г.

Формат 60x84  $\frac{1}{16}$

Бумага офсетная

Офсетная печать

Печ л 1

Заказ № 349

Тираж 100 экз

---

Отпечатано в типографии КубГАУ

350044, г Краснодар, ул Калинина, 13