

На правах рукописи



ЧУХЛЕБОВА ОЛЕСЯ МИТРОФАНОВНА

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ
У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ
И АНТИГЕЛЬМИНТНОЙ ТЕРАПИИ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

5 АПР 2012

Воронеж-2012



005020436

Работа выполнена в отделе фармакологии ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии и на кафедре фармакологии, токсикологии и паразитологии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

Научные руководители: доктор биологических наук
Востроилова Галина Анатольевна
доктор ветеринарных наук, профессор
Беспалова Надежда Сергеевна

Официальные оппоненты: **Жуков Иван Васильевич**
доктор ветеринарных наук, начальник
Липецкой областной ветеринарной
лаборатории
Курочкина Карине Гегамовна
доктор ветеринарных наук, заведующая
лабораторией иммунологии Всероссийского
института гельминтологии им. К.И. Скрыби-
на

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина» г. Москва.

Защита состоится «24» апреля 2012 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета ДМ 006.004.01 при ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии (ВНИВИПФиТ) по адресу: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВНИВИПФиТ

Автореферат разослан «22» марта 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н., доцент



Ермакова Т.И.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Скотоводству принадлежит основная роль в увеличении производства высококачественных продуктов питания. Однако этой отрасли сельского хозяйства немалый ущерб наносят трематодозы. Среди них наиболее распространенным и опасным является фасциолез. Фасциолез крупного рогатого скота встречается повсеместно в разных регионах России и представляет не только ветеринарную, но и медицинскую проблему (Сорокина Н.П. с соавт., 2003). В связи с возрастающей заболеваемостью скота фасциолезом, можно ожидать и прогнозировать увеличение заболеваемости человека этим гельминтозом (Бибик О.И., Начева Л.В., 2007).

Фасциолез вызывает в организме животных тяжелые патологические изменения, особенно в период острого течения болезни, когда отмечают даже гибель животных. При хроническом течении фасциолеза происходит снижение удоев молока на 16,6%, прироста массы тела молодняка на 14,3%. Ежегодно теряется до 106 л молока и 17 кг мяса (Кошеваров Н.И. с соавт., 2006).

В связи с этим в последние годы особое значение приобретают высокоэффективные противопаразитарные средства: фазинекс, рафоксанид, клозантел, нитроксинил, альбендазол, оксиклозанид, триклабендазол (Якубовский М.В., Карасев Н.Ф., 2001). Однако при их применении достаточно часто регистрируются побочные эффекты: угнетение иммунитета и обменных процессов организма животных; наличие остаточных количеств этих препаратов в животноводческой продукции; появление резистентности у паразитов к препаратам при их длительном применении (Якубовский М.В., Щурова Н.Ю., 2008).

В настоящее время хорошо известно, что гельминтозы вызывают вторичные иммунодефициты в организме хозяина, сопровождающиеся иммунным дисбалансом (Озерецковская Н.Н., 1980-1997), который усугубляется антигельминтными препаратами, даже в терапевтических дозах (Даугалиева Э.Х., Мамыкова О.И., 1990; Даугалиева Э.Х., Филиппов В.В., 1991; Маннапова Р.Т., 1998; Красочка П.А. с соавт., 2001 и др.).

Корректировка состояния иммунной системы больных гельминтозами животных очевидна. Даже при повторном применении антигельминтиков или увеличении их терапевтической дозы лечебный эффект не достигается и наблюдается реинвазия в короткие сроки после дегельминтизации (Даугалиева Э.Х., 1979; Серикбаева Б.К., 1981; Плиева А.И., 1986; Курочкина К.Г., Даугалиева Э.Х., 2001 и др.).

При коррекции иммунодефицитных состояний оптимальный клинический эффект может быть достигнут только при наличии синергизма в действии защитных сил организма и лекарственных средств. В связи с этим в настоящее время возрос интерес к препаратам, лечебный эффект которых связан с селективным действием на иммунную систему (Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., 2000; Топурия Л.Ю. с соавт., 2008).

Ежегодно в продаже появляются новые антигельминтики разных фармакологических групп, как отечественного, так и зарубежного производства,

но их влияние на организм больных животных и возможность применения совместно с цитокиновыми препаратами в терапии гельминтозов изучена недостаточно.

Цель и задачи исследований. Целью диссертационной работы является изучение метаболических изменений в организме крупного рогатого скота при гельминтозах и антигельминтной терапии и разработка методов фармакологической коррекции нарушений обмена веществ, вызванных их действием.

Для достижения общей цели были определены следующие основные задачи:

- Установить изменения в обменных процессах у крупного рогатого скота при фасциолезе.
- Установить изменения в обменных процессах у крупного рогатого скота после терапии антигельминтным препаратом.
- Оценить эффективность иммунокорректора из группы цитокинов для коррекции метаболического и иммунного статуса у крупного рогатого скота.
- Разработать научно-обоснованную систему терапии, реабилитационных мероприятий при фасциолезе крупного рогатого скота в условиях Центрального Черноземья России.

Научная новизна. Разработан новый метод дегельминтизации крупного рогатого скота при фасциолезе путем комплексной терапии. На основе полученных данных изменения гомеостаза животных при гельминтозах, дегельминтизации и комплексной терапии разработана научная программа лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий при фасциолезе крупного рогатого скота. Новизна исследований подтверждена патентом РФ «Способ лечения фасциолеза коров» №2385713 от 10 апреля 2010 года.

Практическая значимость. Определена степень зараженности крупного рогатого скота фасциолезом в хозяйствах Центрального Черноземного региона. Изучена возможность применения иммунокорректора цитокиновой группы ронколейкина с антигельминтиком при фасциолезе крупного рогатого скота. Материалы исследований вошли в «Методические рекомендации по применению комплексной терапии крупного рогатого скота при фасциолезе».

Основные научно-практические результаты используются в учебном процессе на кафедре фармакологии, токсикологии и паразитологии ФГБОУ ВПО «Воронежский ГАУ им. К.Д. Глинки».

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены на ежегодных отчетных научных конференциях профессорско-преподавательского и аспирантского состава факультета ветеринарной медицины (Воронеж, 2009); научно-практической конференции молодых ученых Пензенская ГСХА (Пенза, 2007); международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Вклад молодых ученых в реализацию приоритетного национального проекта «развитие агропромышленного комплекса» Уральская ГАВМ (Троицк, 2007); научной конференции Проблемы и перспективы развития аграрного производства (Смоленск, 2007);

научной конференции Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Москва, 2008); Ученые записки Казанской Государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана (Казань, 2009); Труды Кубанского государственного аграрного университета (Краснодар, 2009); Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых (Воронеж, 2009); научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения П.Г. Петского (Киров, 2009).

Публикации. Основные положения диссертации опубликованы в 13 печатных работах, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобразования РФ, 1 патенте, 1 методических рекомендациях.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является результатом исследований автора в период с 2007 по 2010 гг.

Автором лично проведена большая часть наблюдений и исследований, собраны, систематизированы, проанализированы и описаны полученные результаты.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 117 страницах, иллюстрирована 11 таблицами и 11 рисунками. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и практических предложений, списка литературы и приложений. Список литературы состоит из 290 источников, из которых 66 иностранных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- ретроспективный анализ и современное состояние заболеваемости крупного рогатого скота фасциолезом в Воронежской области;
- гематологический статус крупного рогатого скота при фасциолезе и после дегельминтизации;
- биохимический статус крупного рогатого скота при фасциолезе и после дегельминтизации;
- неспецифическая реактивность крупного рогатого скота при фасциолезе и после комплексной терапии;
- терапевтическая эффективность комплексной терапии фасциолеза

КРС.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2007-2010 годах в отделе фармакологии ГНУ ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии в соответствии с планом научно-исследовательских работ по заданию 08.04.01. «Разработать методы ранней диагностики, эффективные средства и способы профилактики и лечения массовых незаразных и вызываемых условно-патогенными микроорганизмами заболеваний у молодняка высокопродуктивных животных» (№ гос. рег. 15070.3666026906.06.8.001.2), программа фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации Россельхозакадемии на 2001-2005 и 2006-2010 г.г. и на кафедре фармакологии, токсикологии и паразитологии ВГАУ, межкафедральной лаборатории ВГАУ в соответствии с планом научно-исследовательских работ ВГАУ по

теме №01.200.1003994. Раздел 8. «Разработать и внедрить научно-обоснованные экологически безопасные методы диагностики, лечения и профилактики массовых болезней животных в условиях ЦЧР. Подраздел 8.7. Теоретически обосновать и разработать методы иммунотерапии и иммунопрофилактики при некоторых гельминтозах домашних животных» и

Для изучения эпизоотологической ситуации по фасциолезу крупного рогатого скота в Воронежской области были проанализированы данные ежегодных (1995-2010 гг.) отчетов Воронежской областной ветеринарной лаборатории, записи в журналах эпизоотологического состояния хозяйств, а также были обследованы животные разных возрастов, принадлежащих ФГОУ СПО «Острогожский аграрный техникум» Острогожского района Воронежской области и колхозу СПК «Староникольский» Хохольского района Воронежской области.

Проведено две серии опытов на животных 3-х летнего возраста симментальской и красно-пестрой породы, спонтанно заражённых фасциолезом, принадлежащих ФГОУ СПО «Острогожский аграрный техникум» Острогожского района Воронежской области и колхозу СПК «Староникольский» Хохольского района Воронежской области. Перед началом эксперимента всех животных обследовали копрологическими методами, устанавливали интенсивность инвазии (ИИ) и экстенсивность инвазии (ЭИ). В ходе опыта до введения препаратов и через каждые 10 дней после их введения, брали кровь натошак из яремной вены в приготовленные заранее стерильные пробирки для биохимических, морфологических и иммунологических исследований и фекалии.

Схема опытов представлена в таблице 1.

Таблица 1

Схема опытов

Группа	Кол-во ж-х в группе (голов)	Препарат	Доза и кратность введения	Место введения
I	10	Клинически здоровые	Препараты не вводили	
II	16	Больные	Препараты не вводили	
III	16	Фаскоцид (антигельминтик)	1 г/10 кг массы тела однократно	per os с конц. кормом
IV	16	Ронколейкин (иммунокорректор)	5000 МЕ/кг двукратно с интервалом 72 ч.	Подкожно в области средней трети шеи
		Фаскоцид (антигельминтик)	1 г/10 кг массы тела однократно	per os с конц. кормом через 24 ч. после 1-го введения ронколейкина

В первый опыт было подобрано 58 животных, из которых сформировали четыре группы: в I группу (n=10) вошли клинически здоровые интактные коровы (яиц фасциол у них не обнаружили); в оставшиеся 3 группы вошли

животные, спонтанно инвазированные фасциолами. Больные животные, которым препараты не вводили, вошли во II группу (n=16) - контрольную. Животных III группы (n=16) однократно дегельминтизировали фаскоцидом в дозе 1г/10кг массы тела. Животным IV группы (n=16) за сутки до дачи антигельминтика вводили подкожно в области средней трети шеи ронколейкин в дозе 5000 МЕ/кг массы тела двукратно с интервалом 72 часа.

Животных содержали и кормили во время опытов по принятым в хозяйствах технологиям.

Опытные группы сравнивали с группой больных животных (отрицательный контроль) и здоровыми животными (положительный контроль).

Гельминтооувоскопия: применяли комбинированный метод Дарлинга с использованием счетной камеры ВИГИС для учета выделенных яиц гельминтов в г фекалий. Метод Дарлинга комбинирует процедуры осаждения и флотации. Фекалии в количестве 10-15 г смешивали с водой в количестве 40-50 мл до полужидкой консистенции в пластиковом стакане, процеживая через металлическое сито с мелкими ячейками в центрифужные пробирки, объемом 10 мл и центрифугировали 3-5 мин, вследствие чего яйца гельминтов осаждались на дно. Затем надосадочную жидкость из пробирки сливали, а к осадку приливали жидкость Дарлинга (глицерин, смешанный в равных частях с насыщенным раствором поваренной соли). Осадок размешивали тонкой стеклянной палочкой до однородной консистенции и вторично центрифугировали 3-5 мин. В результате чего яйца фасциол всплывали на поверхность раствора. Металлической петлей диаметром 0,5 см снимали 3-5 раз пленку поверхностного натяжения на предметное стекло, накрывали покровным и исследовали под микроскопом (объектив 10, окуляр 15). Яйца фасциол подсчитывали в счетной камере ВИГИС в четырех повторностях от каждого животного. Определяли ИИ и ЭИ.

Производственный опыт был проведен в СПК «Староникольский» Хохольского района Воронежской области на 485 коровах 3-летнего возраста.

С целью характеристики общего состояния животных при проведении опытов общепринятыми методами, описанными в соответствующих руководствах (В.Г. Предтеченский, 1964; И.П. Кондрахин с соавт., 1983; И.М. Карпуть, 1986) в крови определяли количество эритроцитов ($10^{12}/л$); гемоглобина (г/л); СОЭ (мм/ч); лейкоцитов ($10^9/л$); концентрацию мочевины (мМ/л), фосфора (мМ/л), холестерина (мМ/л), глюкозы (мМ/л), креатинина (мМ/л), кальция (мМ/л), активность аспартат- и аланинаминотрансфераз (Ед/л), щелочной фосфатазы (Ед/л) и γ -глутамилтрансферазы (Ед/л) - на биохимическом анализаторе «Hitachi-902»; концентрацию общего белка (г/л), липидов (г/л) и билирубина (мкМ/л) наборами фирмы «Витал Диагностика» (Санкт-Петербург); белковые фракции электрофорезом на агарозе (Ю.Б. Филиппович с соавт., 1975).

Для характеристики неспецифической иммунологической резистентности организма определяли показатели гуморального звена: бактерицидную активность (%) сыворотки крови; лизоцимную активность (мкг/мл) сыворотки крови; комплементарную активность (% гемолиза) сыворотки крови и клеточного звена: фагоцитарную активность лейкоцитов, фагоцитарный ин-

декс и фагоцитарное число в соответствии с Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных (2005).

Полученный цифровой материал приведен в соответствие с государственной системой обеспечения единства измерений «Единицы физических величин (в соответствии с Международной системой СИ)» (ГОСТ 8.471-81), проанализирован и обработан с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Excel», «Statistica 5.0». Достоверность отличий оценивали методом парных сравнений, используя t-критерий Стьюдента (Г.Ф. Лакин, 1990).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эпизоотический мониторинг фасциолеза крупного рогатого скота в Воронежской области

Ретроспективный анализ отчетности показал, что фасциолез крупного рогатого скота широко распространенное заболевание в Воронежской области. В 1995 году выявлено 109 неблагополучных пунктов и 4596 случаев фасциолеза (рис.1). Экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 5,53%. В 1996 году – 114 пунктов и 3783 случаев. ЭИ составила 13%; в 1997 году – 157 пунктов и 2836 случаев, ЭИ – 9,84%; в 1998 году – 211-3107-10,75%; в 1999 – 179-2327-8,98%; Несмотря на уменьшение количества неблагополучных по фасциолезу крупного рогатого скота населенных пунктов в 2000 году (на 6,7%) и снижение количества диагностических исследований (на 2,3%), существенно увеличилось количество дегельминтизаций животных. В течение года яйца фасциол были обнаружены в 617 случаях, экстенсивность инвазии составила 2,4%.

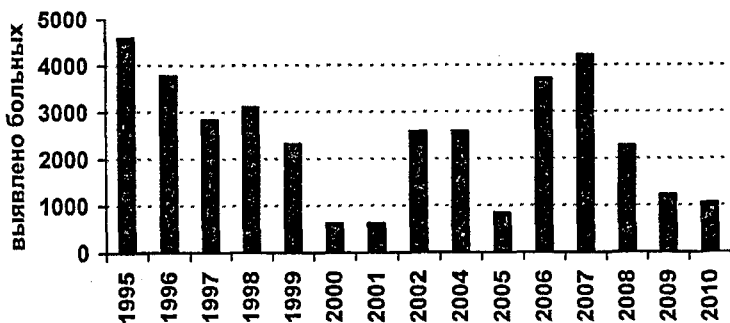


Рис. 1. Ретроспективный анализ заболеваемости фасциолезом по годам

Количество неблагополучных пунктов в 2001 году уменьшилось вдвое, при увеличении количества обработок. Лабораторными исследованиями было выявлено 620 случаев фасциолеза, ЭИ составила 5,4%. Клинически заболевание установлено у 4650 голов животных. Из 32 районов области, в 16-ти

имеются данные о выявлении фасциолеза. В 2002 году из 746 обследованных проб, фасциолез выявлен в 124,4 случаях, ЭИ = 16,6%.

Количество неблагополучных пунктов в 2003 году увеличилось по сравнению с 2002 годом на 50% и составило - 123. Из 242966 обследованных туш фасциолез выявлен в 2592 случаях. В 2004 году выявлено 2587 случаев заболевания животных фасциолезом. В 2005 году было запланировано исследовать 15320 проб фекалий, но исследовано - 14500 или 94,8%, выявлено - 836 случаев заболевания, ЭИ = 5,7%. В 2006 году ЭИ составила 8,9%, в 2007 году - 9%, в 2008 году - было выявлено 2273 случаев фасциолеза, ЭИ составила 4,8 %. В 2009-2010 годах было выявлено соответственно 1224 и 1052 случаев заболевания животных фасциолезом.

Таким образом, фасциолез крупного рогатого скота широко распространен на территории Воронежской области. Заболевание регистрируется в 20 районах из 32, ЭИ не превышает 9,9%. Несмотря на ежегодные плановые исследования и дегельминтизации стационарно неблагополучными являются хозяйства Рамонского, Эртильского, Ольховатского, Верхнемамонского, Бобровского, Репьевского районов.

3.2. Результаты гельминтокопрологических исследований

В первом опыте в ФГОУ СПО «Острогожский аграрный техникум» Острогожского района Воронежской области при исследовании фекалий животных II, III и IV групп, спонтанно инвазированных фасциолами, до начала опыта была установлена 100% экстенсивность инвазии (ЭИ), интенсивность инвазии (ИИ) составила по группам $115,2 \pm 11,7$; $112,4 \pm 10,4$ и $114,5 \pm 11,1$ экземпляров яиц *F. hepatica* в г фекалий.

В контрольной группе (II группе) исследуемые показатели практически не изменились в ходе опыта и к 30 дню составили: $115,0 \pm 11,6$ экз. яиц в 1г фекалий при ЭИ - 100%.

В третьей группе через 10 дней после дегельминтизации коров фасцидом ИИ снизилась до $61,4 \pm 9,7$ экз. (рис.2а) и интенсивность (ИЭ) составила 45,4%. Экстенсивность инвазии (ЭИ) снизилась до 68,8% (рис. 2б) и экстенсивность (ЭЭ) была равна 31,2%. На 20 день после дегельминтизации ИИ составляла $43,3 \pm 5,7$ экз. и по сравнению с фоновым исследованием и контролем ИЭ увеличилась на 61,5%. ЭИ на 20 день была равна 37,5%, что было на 62,5% выше по сравнению с фоновыми исследованиями и контролем. ЭЭ по сравнению с 10 днем возросла на 31,3%. На 30 день опыта у животных III группы ИИ составила $11,8 \pm 0,82$ экз. в 1 г фекалий, что было ниже предыдущего исследования в 3,7 раза. ИЭ составила 89,5%. ЭИ не превышала 12,5%, и, следовательно, ЭЭ составила на 30 день опыта 87,5%.

После проведения комплексной терапии на 10 день опыта было установлено более динамичное снижение исследуемых показателей. ИИ составила $42,7 \pm 4,8$ экз., что в 2,7 раза ниже, чем в контрольной группе, и в 1,4 раза, чем во III группе. ИЭ в эти же сроки составила 62,7%, а ЭЭ - 43,8%. На 20 день опыта у животных IV группы ИИ и ЭИ снизились соответственно до $25,6 \pm 3,7$ экз. и 31,5% (рис. 2а и 2б), что было ниже в 1,7 и 1,2 раза по сравне-

нию с III группой и в 4,5 и 3,2 раза по сравнению с контролем. ИЭ и ЭЭ в эти сроки исследования составили 77,6 и 68,8%.

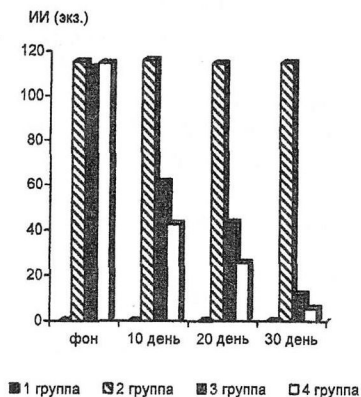


Рис. 2а. Динамика изменения интенсивности инвазии в течение опыта

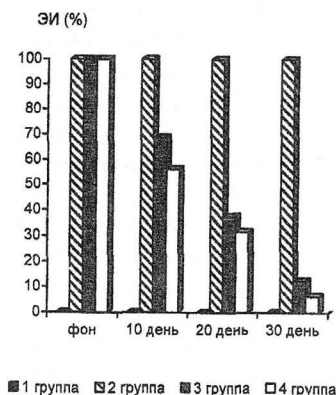


Рис. 2б. Динамика изменения экстенсивности инвазии в течение опыта

К концу опыта (30 день) показатели ИИ и ЭИ у подопытных животных после комплексной терапии снизились до минимума и составили $5,5 \pm 0,87$ экз. и 6,3% соответственно, что по сравнению с контрольной группой было ниже в 20,9 раза и на 93,8%. По сравнению с показателями III группы ИИ была ниже в 2,1 раза, ЭИ – на 6,2%.

Таким образом, проведенные исследования по определению терапевтической эффективности разных методов дегельминтизации коров при фасциолезе показали, что комплексная терапия с применением антигельминтика фаскоцида и иммунокорректора ронколейкина снижает ИИ и ЭИ более, чем в 2 раза, начиная с 10 дня опыта, в то время, как после применения одного фаскоцида эти показатели были несколько ниже (в среднем в 1,7 раза). К 30 дню опыта ИЭ при комплексной терапии превышала аналогичный показатель III группы на 5,7% и составляла 95,2%, ЭЭ – на 6,3% и составляла 93,8% ($p < 0,05$).

3.3. Морфологический состав крови крупного рогатого скота при фасциолезе, после дегельминтизации и комплексной терапии

В крови у здоровых коров количество эритроцитов колебалось от $5,94 \times 10^{12}/л$ до $6,36 \times 10^{12}/л$, тогда как у больных фасциолезом она составляла $(3,88-4,79) \times 10^{12}/л$. После дегельминтизации фаскоцидом достоверное увеличение количества эритроцитов на 34,3% ($p < 0,05$) отмечалось на 20-й день исследования по сравнению с животными контрольной группы. В то же время в группе животных, которые были подвергнуты комплексной терапии, этот показатель достоверно увеличивался на 27,9% ($p < 0,05$) уже на 10-й день опыта.

Исследование влияния фаскоцида и комплекса фаскоцид+ронколейкин на содержание лейкоцитов в крови показало, что дегельминтизация этими препаратами вызывала снижение количества лейкоцитов соответственно на 28,6 и 38,7% ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы на 10-й день опыта, но в то же время по сравнению с интактными животными были выше на 37,5 и 21,2%. К концу опыта (30 день) количество лейкоцитов в крови животных III и IV групп практически приблизилось к показателям здоровых животных. У инвазированных животных контрольной группы количество лейкоцитов на протяжении опыта составляло в среднем $18,7 \times 10^9/\text{л}$, что было выше в 2 раза по отношению к здоровым животным.

В начале исследований было установлено, что количество гемоглобина в крови животных зараженных фасциолами было ниже на 30,7% по сравнению с I группой. Введение фаскоцида способствовало увеличению гемоглобина на 14,2% (10 день), на 20-й день – на 22,5% и на 30-й день – на 30,5% по сравнению с животными контрольной группы (больные). Комплексная терапия способствовала более выраженному изменению этого показателя. На 10-й день уровень гемоглобина повысился на 21,8%, на 20-й день – на 33,4%, на 30-й – 39,6% по сравнению с инвазированными животными контрольной группы. К 20-30 дню опыта количество гемоглобина в IV группе практически не отличалось от здоровых животных.

3.4. Иммунный статус крупного рогатого скота при фасциозе, после дегельминтизации и комплексной терапии

Анализ результатов, полученных при изучении иммунологического профиля опытных животных, показал, что у большинства коров отмечается снижение лизоцимной (ЛАСК), и комплементарной (КАСК) активности сыворотки крови, фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ). У инвазированных животных по сравнению с клинически здоровыми животными, ЛАСК понижена на 42,5%, ФАЛ – на 21,3%, КАСК – на 19,6% (табл.2).

Исследования показали, что при применении фаскоцида отмечалось некоторое угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов с 10-го по 20-й день опыта, но на 30-е сутки исследования фагоцитарная активность повышалась до показателей клинически здоровых животных.

При комплексной терапии стимуляция фагоцитарной активности лейкоцитов происходит на протяжении всего опыта. Так на 10-й день исследования данный показатель был выше на 21,3% по сравнению с большими животными и на 30,2% по сравнению с III-ой опытной группой, хотя оставался более низким по сравнению со здоровыми животными на 10,8%. К 20-30-му дню исследования ФАЛ приблизилась к показателям здоровых животных. Аналогичная динамика отмечена и при анализе фагоцитарного числа и индекса.

У инвазированных животных комплементарная активность сыворотки крови достоверно не изменялась и была ниже, чем у здоровых животных соответственно на 42,5, 38,4 и 45,0% на 10-20-30-й день исследования (табл. 2).

Таблица 2

Иммунологические показатели крови коров в эксперименте

Показатели	Группы			
	Клинически здоровые	Больные	Фаскоцид	Фаскоцид+ ронколейкин
10 день опыта				
ФАЛ, %	75,3±2,92	55,4±4,70*	51,6±2,43*	67,2±3,06 [▫]
ФИ	11,1±0,38	5,31±0,42*	4,96±0,25*	6,80±0,75 [▫]
ФЧ	7,14±0,52	2,92±0,18*	2,82±0,09*	6,90±0,31 [▫]
КАСК, % гем.	13,6±0,25	7,82±0,10*	8,07±0,20*	9,11±0,59*
20-й день опыта				
ФАЛ, %	76,3±1,80	57,5±5,75*	62,3±3,48*	73,6±2,82 [▫]
ФИ	11,2±0,42	5,36±0,10*	6,57±0,18* [▲]	7,83±0,80* [▲]
ФЧ	7,24±0,60	2,95±0,24*	5,64±0,37* [▲]	6,20±0,26 [▲]
КАСК, % гем.	12,9±0,52	7,95±0,29*	8,76±0,31*	9,67±0,32
30-й день опыта				
ФАЛ, %	76,4±2,73	57,5±3,78*	67,9±4,30	71,6±2,71 [▲]
ФИ	11,2±0,40	5,30±0,10*	8,92±0,57* [▲]	10,3±0,69 [▲]
ФЧ	7,12±0,49	2,95±0,22*	6,06±0,13 [▲]	7,01±0,41 [▲]
КАСК, % гем.	14,2±0,43	7,81±0,25	9,69±0,19	12,5±0,31

Примечание: $P < 0,01 - 0,0001$ в сравнении: * - со здоровыми; [▲] - с больными; [▫] - с лечеными фаскоцидом

После дегельминтизации фаскоцидом комплементарная активность сыворотки крови до 20-го дня изменялась не значительно, и лишь к 30-му дню отмечено постепенное возрастание КАСК на 20,1% (по сравнению с 10 днем), но оставаясь на 31,8% ниже, чем у здоровых животных.

Комплексная терапия способствовало стимулированию комплементарной активности на протяжении всего опыта. Так на 10-й день данный показатель был выше, чем у больных животных на 16,5%, а по сравнению с первой опытной группой на 12,9%. К 30-му дню эти изменения были более выраженными – 60,1 и 29,0%.

После применения фаскоцида активность лизоцима сыворотки крови до 20-го дня практически не изменялась, и лишь к 30-му дню отмечено постепенное возрастание активности лизоцима на 26,1% по сравнению с больными животными, но при этом оставаясь на 9,6% ниже, чем у здоровых животных.

Применение фаскоцида в комплексе с ронколейкином способствовало стимулированию активности лизоцима на протяжении всего опыта. Так на 10-й день данный показатель был выше, чем у больных животных на 14,4%, а по сравнению с третьей группой - на 11,1%. К 30-му дню эти изменения были более выраженными – 35,3% и 8,0%.

3.5. Биохимические показатели крови у крупного рогатого скота при фасциолезе, после дегельминтизации и комплексной терапии

Известно, что паразитирование фасциол в печени крупного рогатого скота обуславливает дистрофические изменения паренхимы, вызывает дест-

рукцию гепатоцитов и повышение активности аминотрансфераз (АсАТ и АлАТ), щелочной фосфатазы и билирубина. Это приводит к снижению обменных и синтезирующих процессов в печени, к нарушению белкового баланса в организме животных, что в свою очередь оказывает отрицательное влияние на иммуногенез и защитные силы организма.

Данные, полученные в результате биохимических исследований, показывают, что применение комплексной терапии ограничивает рост активности аминотрансфераз (рис. 3).

После введения фаскоцида к 10 дню исследования отмечена тенденция возрастания активности АсАТ на 5,6% по сравнению с началом опыта, а АлАТ – на 5,1%. Достоверное снижение активности ферментов происходило к 20 дню по сравнению с исходным состоянием и больными животными (АсАТ – на 14,4% и 19,0%, АлАТ – на 34,7,6% и 26,3%).

После комплексной терапии наблюдалось снижение активности аминотрансфераз (АсАТ – на 8,9%, АлАТ – на 36,4%) уже к 10 дню от начала опыта. Причем это изменение было достоверным, как к исходному состоянию, так и к больным животным. К 20-30 дню опыта активность сывороточных ферментов приблизилась к показателям клинически здоровых животных.

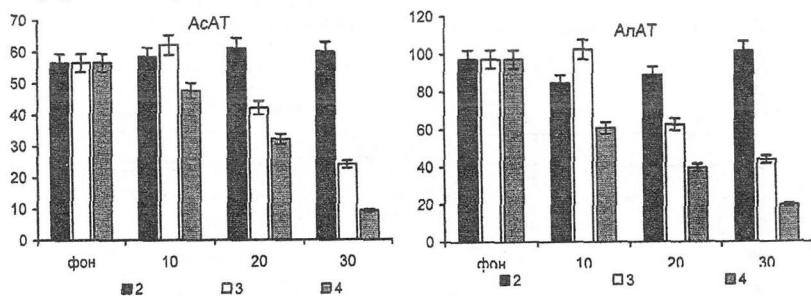


Рис. 3. Динамика изменения активности АсАТ и АлАТ в опыте (2- больные; 3 – фаскоцид; 4 – фаскоцид+ронколейкин), в % к клинически здоровым

У инвазированных фасциолами животных контрольной группы данные показатели в среднем составили 101,2 Е/л (АсАТ) и 62,1 Е/л (АлАТ).

Уровень общего белка сыворотки крови всех подопытных животных (II, III и IV группы) при фоновом взятии был несколько ниже физиологической нормы для данного вида животных, и который в группе контрольных животных практически не менялся весь период опыта и находился в пределах $69,9 \pm 4,73$ - $71,05 \pm 6,14$ г/л (табл. 3).

На протяжении 30 дней наблюдалось повышение общего белка у коров опытных групп, хотя и в разной степени. В первой опытной группе значение данного показателя постепенно повышалось и достигло к концу опыта $80,12 \pm 4,04$ г/л, в то время как во второй опытной группе содержание общего белка достигало уровня $82,09 \pm 2,12$ г/л на 20-й день опыта.

При изучении белковых фракций сыворотки крови контрольных животных отмечалось снижение относительного содержания альбуминов при увеличении содержания глобулинов.

У животных леченых фаскоцидом содержание альбуминов было выше, чем у коров контрольной группы на 6,6%, а при комплексной терапии – на 21,5%. Количество альфа-глобулинов в максимальных концентрациях отмечено у животных контрольной группы, что свидетельствует о хроническом процессе, показателем которого является эта белковая фракция сыворотки крови. Лечение коров фаскоцидом, и особенно в комплексе с цитокином способствует снижению воспалительного процесса, который характеризуется снижением концентрации α -глобулинов соответственно на 18,1 и 19,4%. Пониженное содержание γ -глобулинов, отмеченное у коров контрольной группы (19,18±1,27-20,28±0,20 г/л), свидетельствует об истощении иммунной системы и снижении уровня биосинтеза иммуноглобулинов. Повышение содержания γ -глобулинов в первой группе на 18,4%, и особенно в группе с комплексной терапией – на 39,7%, свидетельствует о компенсаторной реакции организма животных.

Таблица 3

Показатели белкового обмена у коров при фасциолезе и после фармакокоррекции

Показатели	больные животные	фаскоцид	фаскоцид+ ронколейкин
Через 10 дней			
Общий белок, г/л	70,11±4,29	72,03±4,97	74,7±5,91
Альбумины, г/л	26,28±0,11	28,02±1,17	30,3±0,16*
Глобулины, г/л	- α	17,74±0,11	13,26±0,21*
	- β	7,08±0,28	8,24±0,24*
	- γ	20,28±0,20	23,06±0,28*
Через 20 дней			
Общий белок, г/л	69,90±4,73	77,84±3,19	82,1±2,12*
Альбумины, г/л	26,49±0,14	31,40±2,03*	32,2±0,22*
Глобулины, г/л	- α	16,83±0,17	14,08±0,08*
	- β	7,95±0,26	10,16±0,11*
	- γ	19,59±1,10	23,19±0,37*
Через 30 дней			
Общий белок, г/л	71,05±6,14	80,12±4,04	82,3±6,17
Альбумины, г/л	27,51±0,10	34,12±1,59*	35,2±1,44*
Глобулины, г/л	- α	17,29±0,27	14,16±0,17*
	- β	8,91±0,48	10,69±0,11*
	- γ	19,18±1,27	23,09±2,37

Примечание: $P < 0,01 - 0,001$ в сравнении: * - со здоровыми; Δ - с больными;

■ - с леченными фаскоцидом

Таким образом, проведенные нами исследования доказывают преимущество комплексной терапии крупного рогатого скота при фасциолезе. Достоверное улучшение в целом всех исследуемых показателей в группе комплексной терапии установлено с 10-20 дня опыта, в то время как в группе антигельминтика на 30-й день большинство показателей не достигли значений клинически здоровых животных хозяйства.

3.6. Производственные испытания комплексной терапии с применением ронколейкина при фасциолезе коров

Научно-производственный опыт был проведен в СПК «Староникольский» Хохольского района Воронежской области на коровах красно-пестрой породы 3-х летнего возраста весом 450-500 кг. По принципу аналогов животные были разделены на две группы.

Животных I группы однократно дегельминтизировали фаскоцидом в дозе 1г/10кг массы тела. Животным II группы за сутки до дачи антигельминтика вводили подкожно в области средней трети шеи ронколейкин в дозе 5000 МЕ/кг массы тела двукратно с интервалом 72 часа.

Животных содержали и кормили во время опыта по принятым в хозяйстве технологиям.

Копрологическими исследованиями через 30 дней после дегельминтизации было установлено, что после комплексной терапии количество яиц фасциол снизилось на 94,6%, а экстенсивность дегельминтизации (количество свободных от гельминтов животных) составила 95,6% (табл. 4).

Таблица 4

Терапевтическая эффективность методов дегельминтизации

Группы	Кол-во животных	Из них заражено Голов		Среднее кол-во яиц фасциол в г фекалий		ЭЭ, %	Снижение кол-ва яиц фасциол, %
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения		
Фаскоцид	225	42	5	125,7±14,2	18,8±2,6	88,1	85,0
Фаскоцид+ ронколейкин	260	45	2	127,1±14,0	6,5±1,00	95,6	94,9

При монотерапии эти показатели составили соответственно 85,0 и 88,1%, что было ниже комплексной терапии на 9,9 и 7,5%.

Таким образом, комплексное применение антигельминтика и иммунокорректора ронколейкина является наиболее оптимальным и приемлемым способом лечения животных при фасциолезе в условиях хозяйств Воронежской области.

ВЫВОДЫ

1. В хозяйствах Воронежской области фасциолез является стационарной инвазией. Экстенсивность инвазии (ЭИ) на протяжении последних 15-ти лет колеблется в пределах 9,9%, интенсивность инвазии (ИИ) от 86 до 116 экз. яиц фасциол в г фекалий.

2. При фасциолёзной инвазии гематологический статус у больных животных характеризуется снижением эритроцитов до $3,9-4,8 \times 10^{12}/л$, гемоглобина – на 30,7%, лимфоцитов в 1,4 раза, сегментоядерных нейтрофилов – в 1,4 раза, повышением количества лейкоцитов в 2 раза, палочкоядерных нейтрофилов в 1,6 раза, базофилов – в 1,8 раза, моноцитов – в 3 раза, эозинофилов в 3,9 раза.

Биохимический статус у больных животных характеризуется повышением активности аминотрансфераз в 1,8-2,0 раза, общего билирубина в 2,5 раза, мочевины – на 62,3% и креатинина – на 48,7%. Уровень общего белка был несколько ниже физиологической нормы и находился в пределах $69,9 \pm 4,73 - 71,05 \pm 6,14$ г/л.

У коров при фасциолёзе происходит угнетение иммунной системы, проявляющееся снижением показателей неспецифической резистентности – лизоцимной активности – в 1,4 раза, комплементарной активности – в 1,7 раза, фагоцитарной активности лейкоцитов – на 35,9%.

3. Применение комплексной терапии при фасциолёзе крупного рогатого скота характеризуется повышением уровня гемоглобина на 30,5%, количества эритроцитов – в 1,4 раза, лимфоцитов – на 44,2%, снижением общего количества лейкоцитов на 39,0%, палочкоядерных нейтрофилов – в 2 раза, моноцитов – в 1,6 раза, эозинофилов – 2,9 раза.

При терапии фаскоцидом в комплексе с ронколейкином нормализуется функция печени: повышается уровень общего белка, альбуминов и γ -глобулинов на 15,8, 28,0 и 28,3% соответственно, снижается активность аспартат- и аланинаминотрансферазы на 47,3% и в 5 раз.

На фоне терапии фаскоцидом в комплексе с ронколейкином повышается лизоцимная активность (на 35,3%), комплементарная активность (на 60,1%) и фагоцитарная активность лейкоцитов (на 24,5%).

4. Лечение коров при фасциолёзе с применением фаскоцида однократно в дозе 1 г/10 кг массы тела в комплексе с ронколейкином в дозе 5000 МЕ/кг двукратно с интервалом 72 часа повышает экстенсивность до 93,8%, интенсивность – до 95,2%. В то время как экстенсивность при применении антигельминтика фаскоцида однократно в дозе 1 г/10 кг массы тела составила 87,5%, а интенсивность – 89,5%.

5. Производственные испытания подтвердили высокую терапевтическую эффективность комплексной терапии фасциолеза крупного рогатого скота. Эффективность дегельминтизации составила: – ЭЭ – 95,6%; ИЭ – 94,9%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При терапии фасциолеза у крупного рогатого скота применять антигельминтик фаскоцид в дозе 1,0 г/кг массы тела однократно в комплексе с иммунокорректором цитокиновой группы ронколейкином в дозе 5000 МЕ/кг двукратно с интервалом 72 часа.

2. Основные научные положения работы и ее практические результаты изложены в «Методических рекомендациях по применению комплексной терапии крупного рогатого скота при фасциолезе», которые рекомендуются практическим ветеринарным работникам, студентам, аспирантам и научным работникам соответствующего профиля.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лопатина О.М. Иммунокоррекция организма коров при фасциолезе методом комплексной терапии. / О.М. Лопатина // Сборник материалов научно - практической конференции молодых ученых «Иновации молодых ученых агропромышленному комплексу». – Пенза. - 2007. - С. 221 - 222.
2. Лопатина О.М. Неспецифическая резистентность коров при фасциолезе и после комплексной терапии. / О.М. Лопатина // Материалы XI международной научно - практической конференции молодых ученых и специалистов «Вклад молодых ученых в реализацию приоритетного национального проекта «развитие агропромышленного комплекса». – Троицк. - 2007. – С.-34-35.
3. Лопатина О.М. Динамика факторов неспецифической резистентности коров при фасциолезе и после комплексной терапии. / О.М. Лопатина, Н.С. Беспалова, Г.А. Востроилова // Сборник материалов научной конференции «Проблемы и перспективы развития аграрного производств. – Смоленск. - 2007. – С. - 330.
4. Лопатина О.М. Фармакокоррекция вторичного иммунодефицита коров при фасциолезе препаратами цитокинового ряда. / О.М. Лопатина, М.В. Островский, Н.С. Беспалова // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями. Матер. докл. научн. конф. – М. - 2008. - Вып. 9. - С. 271 – 273.
5. Лопатина О.М. Белковый обмен у крупного рогатого скота после дегельминтизации и комплексной терапии фасциолеза. / О.М. Лопатина, Г.А. Востроилова, Н.С. Беспалова // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями. Матер. докл. научн. конф. – М. - 2008. - Вып. 9. - С. 268 – 271.
- 6*. Лопатина О.М. Фасциолез крупного рогатого скота в Воронежской области / О.М. Лопатина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань. - 2009. – Т. 196. - С. 164-166.
- 7*. Лопатина О.М. Комплексная терапия при фасциолезе крупного рогатого скота. / О.М. Лопатина, Н.С. Беспалова // Ученые записки Казанской го-

сударственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань. - 2009. – Т. 196. - С. 166-171.

8*. Беспалова Н.С. Распространение фасциолеза крупного рогатого скота в Воронежской области. / Н.С. Беспалова, О.М. Лопатина // Научный журнал «Труды Кубанского государственного аграрного университета». Серия «Ветеринарные науки». – Краснодар. - 2009. – Ч. 1. - № 1. - С. 134 – 136.

9. Лопатина О.М. Повышение продуктивности крупного рогатого скота при фасциолезе. / О.М. Лопатина // Матер. Межрег. научн.-практ. конф. «Инновационные технологии и технические средства молодых ученых для АПК». – Воронеж. - 2009. - С. 143-146.

10. Лопатина О.М. Протеинограмма крови коров при фасциолезе и после терапии. / О.М. Лопатина // Сборник статей Междун. научн. – практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения П.Г Петского. – Киров. - 2009. - С – 165 – 167.

11. Лопатина О.М. Методические рекомендации по комплексной терапии крупного рогатого скота при фасциолезе. / Н.С. Беспалова, О.М. Лопатина, Г.А. Востроилова, Воронеж, ФГОУ ВПО: Воронежский государственный университет им. К.Д. Глинки. - 2010. – 16 с.

12*. Востроилова Г.А. Коррекция неспецифической резистентности при фасциолезе крупного рогатого скота / Г.А. Востроилова, Чухлебова О.М., Н.С. Беспалова // Вестник ветеринарии. - №60 (1/2012). – С. 19-20.

Патенты

13. Лопатина О.М., Беспалова Н.С., Востроилова Г.А. Способ лечения фасциолеза коров. Патент. RU 2385713 С2 РФ; заявитель и патентообладатель ГНУ ВНИВИПФиТ. - 2008124216/13; опубл. 10.04.2010. Бюл. № 10.

* - издания, рекомендованные ВАК РФ

Подписано в печать 22.03.2012 г.
Формат 60 x 84/16 . Бумага офсетная.
Усл. печ. л. 1,0 Тираж 100 экз. Заказ №773

Отпечатано в типографии
Воронежский ЦНТИ – филиал ФГБУ «РЭА» Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 30