



На правах рукописи

ЛИГИДОВА МАРЬЯНА МУХАМЕДОВНА

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО
ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА ЭНТРИКИМА ПРИ МИКОПЛАЗМОЗЕ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Саратов – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, профессор
Агольцов Валерий Александрович

Официальные оппоненты:

Сухинин Александр Александрович,
доктор биологических наук, профессор,
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский
государственный университет
ветеринарной медицины,
заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии

Спиридонов Геннадий Николаевич,
доктор биологических наук, ФГБНУ
«Федеральный центр токсикологической,
радиационной и биологической
безопасности» (г. Казань), заведующий
лабораторией бактериальных патологий
животных

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

Защита состоится « ____ » _____ 2024 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 35.2.035.01 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколовая, 335, УК № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Вавиловского университета и на сайте www.vavilovsar.ru

Отзывы направлять по адресу: 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина, зд. 4. стр. 3, ученому секретарю диссертационного совета.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 года

Учёный секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук,
профессор

Карпунина
Лидия Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сохранение здоровья сельскохозяйственных животных является одной из основных целей на современном этапе развития животноводства. В достижении этой цели основным препятствием являются инфекционные и незаразные болезни, особенно те, которые отличаются стертой клинической картиной и хроническим течением (Васильев Р.М., 2022). Трудности диагностики приводят к развитию морфофункциональных изменений в органах различных систем организма. Одним из таких заболеваний является микоплазмоз сельскохозяйственных животных (Свиридова А.Н., 2007). Микоплазмоз молодняка сопровождается значительными изменениями иммунологических и морфологических показателей крови (Suleman M. et al., 2016).

Возбудителем болезни являются различные виды микоплазм: *M. hyopneumoniae*, *M. agalactiae*, *M. mycoides* и др. Как показывают результаты исследований отечественных и зарубежных ученых, данное заболевание имеет широкое распространение как среди рогатого скота, так и свиней (Абед Алхуссен М. с соавт. 2020; Скориков А.В. с соавт, 2020; Andersson A. et al., 2019).

Для лечения микоплазмоза широко применяются антибиотики тетрациклиновой, макролидной, фторхинолоновой групп (Ali Abadi FS. et al., 2020).

Эффективность терапии, главным образом, оценивается на основании изменения клинической картины и идентификации возбудителя одним из прямых методов. Наиболее часто в практической работе ветеринарные специалисты используют в основном антибиотики макролидной группы по отдельности или же в составе комплексной терапии. На сегодняшний день достаточно хорошо изучена терапевтическая эффективность различных антибиотиков данной группы, применяемых отдельно, которая свидетельствует, что их использование не даёт желаемого результата (Maes D. et al., 2020; Polveiro RC et al., 2020).

Исходя из этого, исследование по разработке оптимальных доз и курсов проведения аддитивной терапии сельскохозяйственных животных при микоплазмозах комплексными антибактериальными препаратами представляет собой актуальную задачу.

Степень разработанности темы. Комплексный препарат энтриким представляет собой антибактериальное средство, состоящее из оптимального соотношения трёх компонентов: энрофлоксацина - антибиотика фторхинолоновой группы, тилмикозина фосфата – макролидного антибиотика и сульфаниламида – триметоприма. Нормативно - технической документацией на ветеринарный препарат «Энтриким 5% (10%)», разработанной ООО НПФ «АЛИСА», данное лекарственное средство рекомендуется применять при колибактериозе, сальмонеллезе, пастереллёзе, инфекционном синовите, респираторном микоплазмозе, бордетеллиозе, инфекционном рините, стафилококкозе и других инфекционных заболеваниях, вызванных микроорганизмами, чувствительными к компонентам препарата у птицы, а также при колибактериозе, сальмонеллезе у свиней (Сухинин А.А. с соавт., 2017). Применение энтрикима в качестве аддитивной терапии при микоплазмозе животных не разработано.

Цель исследования - разработать научно обоснованную терапию молодняка сельскохозяйственных животных с изучением морфофункциональных, биохимических, иммунологических и микробиологических изменений в организме телят, поросят, ягнят, козлят и предложить эффективную схему применения антимикробного препарата энтрикима.

Задачи исследования:

1. Установить характер проявления эпизоотического процесса при микоплазмозе телят, ягнят, козлят и поросят по количественным показателям (заболеваемость, смертность и смертельность) в зависимости от течения болезни.

2. Определить показатели клеточного и гуморального иммунитета телят и поросят до и после лечения энтрикимом.

3. Провести сравнительную оценку лечебного эффекта монопрепаратов: энрофлоксацина, тилмикозина, триметоприма и комплексного препарата энтрикима для лечения поросят при энзоотической пневмонии и определить экономическую эффективность предлагаемой аддитивной терапии.

4. Разработать лечение телят, ягнят, козлят и поросят при микоплазмозах, а также коров при хроническом эндометрите, осложненного микоплазмами, с использованием энтрикима.

5. Изучить фармакокинетику действующих компонентов препарата энтриким в тканях органов поросят и телят и в молоке коров.

Научная новизна. Впервые выявлены закономерности нарушения механизмов функциональных изменений органов иммуногенеза при микоплазмозах телят и поросят.

Впервые разработана эффективная схема применения энтрикима в животноводческих хозяйствах, неблагополучных по микоплазмозу телят, ягнят, козлят и поросят.

Впервые установлена лечебная эффективность аддитивной терапии с использованием препарата энтриким при микоплазмозах телят, ягнят, козлят и поросят с восстановлением иммунологических и микробиологических показателей.

Впервые предложено использование энтрикима для лечения коров при хроническом эндометрите, осложненного микоплазмами.

Впервые изучена фармакокинетика действующих компонентов препарата энтриким в тканях органов поросят и телят и в молоке коров.

Теоретическая и практическая значимость работы. Диссертационное исследование носит фундаментальный и прикладной характер. Полученные данные дополняют сведения о механизмах восстановления иммунологических и микробиологических показателей применением аддитивной терапии сельскохозяйственных животных при микоплазмозах.

На основании полученных данных о положительном влиянии комплексного препарата энтрикима при микоплазмозе животных на эпизоотологические, клинические, иммунологические и микробиологические показатели, способствующие улучшению и восстановлению здоровья животных, в том числе и на фоне вторичных инфекций, позволяют рекомендовать применение этого препарата как эффективного и экономически оправданного для проведения лечения. По материалам диссертационной работы опубликовано методическое пособие «Учебное пособие по санитарии, гигиене и основам санитарной микробиологии на предприятиях перерабатывающей и пищевой промышленности» (в соавторстве с В.А. Агольцовым, М.И. Калабековым, Л.П. Падило, Д.К. Карасевым, А.А. Калабековым, 2021г.).

Результаты диссертационной работы внедрены в хозяйства Саратовской области: колхоз «им. Чапаева» с. Яблоневый Гай Ивантеевского МР и хозяйства Кабардино-Балкарской Республики: ООО «Дарган» с.п. Герпегеж Черекского района, ООО «Агро-Союз» Чегем-2 Чегемского района, ООО «Рассвет И» Баксанского района Верхний Куркужин.

Результаты работы используются в учебном процессе при чтении лекций по дисциплине эпизоотология и инфекционные болезни животных обучающимся

специальности Ветеринария в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Методология и методы исследований. За методологическую основу взяты труды отечественных и зарубежных ученых по эпизоотологическому анализу и разработке лечения при микоплазменных инфекциях. В работе использован комплекс общенаучных и специальных методов. Общенаучные методы представляют совокупность общетеоретических и эмпирических методов. Специальные методы представлены эпизоотологическими, клиническими, гематологическими, иммунологическими, биохимическими, микробиологическими, молекулярно-генетическими, патоморфологическими исследованиями, выполненными на высокотехнологичном оборудовании научных подразделений ФГБОУ ВО «Вавиловский университет», ГБУ КК «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», г. Кропоткин, Краснодарский край.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Характер проявления эпизоотического процесса при микоплазмозе телят, ягнят, козлят и поросят по количественным показателям (заболеваемость, смертность и смертельность) зависит от течения болезни.

2. Состояние клеточного и гуморального иммунитета при микоплазмозе телят и поросят, зависит от течения болезни, а лечение телят и поросят нормализует состояние клеточного и гуморального иммунитет.

3. Терапия телят, ягнят, козлят и поросят при микоплазмозах, комплексным препаратом – энтриким, значительно выше отдельных его компонентов: энрофлоксацина, тилмикозина, триметоприма.

4. Терапия коров энтрикимом при хроническом эндометрите, вызванного ассоциацией микроорганизмов и осложненного микоплазмами обладает высокой лечебной эффективностью.

5. Применение энтрикима в качестве аддитивной терапии телят, ягнят, козлят и поросят при микоплазмозах экономически целесообразно.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Степень достоверности и апробация работы.

Степень достоверности подтверждается существенным объемом исследований фактического биологического и патологического материала, а также достаточным анализом эпизоотической ситуации по изучаемой болезни со статистической составляющей. Достоверность разности результатов средних значений определялась методами математической статистики.

Результаты исследований были представлены на следующих конференциях: конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2022 год (Саратов, 2023); 74-й Международной научно-практической конференции студентов и аспирантов «Студенческое научное объединение: наука, бизнес и технологическое предпринимательство. Новые возможности развития на пути к экономике знаний» (Мичуринск-научоград РФ, 2023); Всероссийской научно-практической конференции «Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК региона» (Махачкала, 2023); Международной научно-практической конференции «Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных», ФГБОУ ВО Вавиловский университет (Саратов, 2023).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 7 статей из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад соискателя состоит в получении первичных данных, обработке и анализе результатов, подготовке текста диссертации, апробации материалов исследований на различных конференциях, подготовке научных публикаций по теме, выведении основных научных положений, выносимых на защиту.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, материалы и методы исследований, результаты исследований, заключение, выводы, список литературы, включающий 199 источников, из которых 160 иностранных и 39 отечественных авторов, а также список сокращений и приложения. Работа изложена на 147 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 14 рисунками и 62 таблицами.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований

Исследования по патологиям телят, ягнят, козлят, поросят и коров, вызываемых микоплазмами, и разработке аддитивной терапии проводились в хозяйствах Северо-Кавказского региона, Краснодарского края и регионов ПФО.

Объектами исследований были телята 10-30-ти дневного возраста, средней массой 40 кг, поросята от 2-х недельного до 4-х месячного возраста с подострым и хроническим течением энзоотической пневмонии, средней массой 14 кг и ягнята месячного возраста, средней массой 14 кг, с лабораторно подтвержденным диагнозом - микоплазмоз. Объектами для исследований также служили коровы 4-6 летнего возраста, больные хроническим эндометритом.

Показатели эпизоотического процесса при микоплазмозе телят, поросят и ягнят (заболеваемость, смертность и смертельность) рассчитывали по С.И. Джупина, 2002.

Телятам в качестве лекарственного препарата применяли 10% раствор энтрикима orally в дозе 1,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7-ми дней подряд. Поросятам и ягням для лечения применяли 5% раствор энтрикима в дозах 5 см³/кг живой массы тела, два раза в сутки в течение 7-ми суток.

За подопытными животными было установлено постоянное клиническое наблюдение, при этом учитывали показатели течения эпизоотического процесса (заболеваемость, смертность и смертельность).

Лабораторные (бактериологические, гематологические и иммунологические, молекулярно-генетические) исследования проводили при первичном осмотре животных, от трупов и после окончания лечения энтрикимом в Кропоткинской краевой ветеринарной лаборатории.

Для постановки ПЦР и идентификации возбудителей использовали амплификатор Bio - Rad CFX (США). Для диагностики микоплазмоза животных использовали диагностический набор "МИК-КОМ, а также «ДНКсорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия).

Кровь у телят для исследований брали из вены утром до кормления. Количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина определяли на гематологическом анализаторе Microsc-20 Plus (High Technology, Inc., США). Лейкограмму выводили по популяциям лейкоцитов в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза. Общий белок крови, альбумины и отдельные фракции глобулинов определяли колориметрическим методом. Лизоцимную активность определяли с использованием тест-культуры *Micrococcus lysodektricus* на КФК-2. Бактерицидную активность сыворотки крови определяли с применением тест культуры *E. coli* методом фотонейлометрической

оценки по О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой, 1966. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли методом завершённого фагоцитоза по Е.А. Кост с соавт., 1985. Функциональную активность нейтрофилов устанавливали с использованием тест культуры *E. coli* НСТ-тестом.

Содержание JgA, JgM, JgG в сыворотках крови определяли иммуноферментным методом, Т- и В- лимфоциты методом спонтанного розеткообразования. Специфические антитела к микоплазмам выявляли при помощи набора «МИКОПЛАЗМА – СЕРОТЕСТ» Определение иммуноглобулинов, В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и их отдельные популяции проводили при первичном осмотре и через 5 дней после окончания лечения.

При оценке лечебной эффективности энтрикима, в качестве контрольных препаратов использовали отдельно энрофлоксацин, триметоприм и тилмикозина фосфат, согласно инструкции по их применению.

Для культивирования микоплазм использовали среду IST, для *S. sp. hamolisierend* применяли селективный агар Streptococcus Selection Agar, для культивирования *P. haemolytica* и *P. multocida* использовали МПБ и МПА.

Диагноз на острую и хроническую формы эндометритов у коров ставили на основании вагинального, ректального и эхографического исследований. Субклинические эндометриты выявляли по методике Флегматова Н.А., 1978, основанный на выявлении жизнеспособности спермиев в цервикальной слизи самки.

Материалом для микробиологических исследований служило содержимое из полости матки коров, больных хроническим эндометритом. Выделение изолятов, видовую принадлежность микробиоты, а также чувствительность выделенных микроорганизмов к препаратам для лечения коров с хронической формой эндометрита устанавливали по общепринятым методикам.

О динамике выздоровления судили по результатам трансректального исследования и показаний ветеринарного сканера AcuVista 880i (производитель - Китай). Учитывали результаты проявления половой цикличности, оплодотворяемость коров разных опытных групп после осеменения.

В опыте по определению остаточных веществ тилмикозина фосфата и энрофлоксацина в мышечной и жировой тканях использовали поросят подсосного возраста, которым ежедневно подкожно вводилось 2 мг меченого радиоактивным изотопом ³²P тилмикозина фосфата и энрофлоксацина на кг массы тела на протяжении 5-ти дней. Определяли тилмикозина фосфат и энрофлоксацина в мышечной и жировой тканях у телят в подсосный период после внутримышечного введения препарата. Затем животных убивали группами по 4 особи, в различные сроки, прошедшие от момента последней инъекции. В исследовании по содержанию остаточных веществ в молоке использовали группу животных из восьми коров. Энрофлоксацин-³²P, вводился подкожно в дозе 2 мг/кг массы тела на протяжении 5-ти дней. Образцы молока отбирались в различные временные промежутки. Суммарные остаточные вещества в тканях определялись при помощи сцинтилляционного счётчика, а остаточное содержание тилмикозина фосфата и энрофлоксацина определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе с обращенной фазой - Agilent 1220 Infinity II (Agilent Technologies Inc., США).

Полученные результаты анализов обрабатывались методами вариационной статистики с использованием сервисных программ и статистических функций программы Microsoft Excel с определением критерия достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эпизоотологические и клиничко-лабораторные исследования микоплазмоза у свиней

Поражения в легких у свиней, вызванных микоплазмами, могут отсутствовать или ограничиваться локализацией в верхушечных долях в виде геморрагических участков или тотальным пропитыванием кровью тканей лёгких. При тяжелом течении инфекционного процесса могут наблюдаться обширные поражения легких с абсцессами и некроза.

При выявлении *M. hyopneumoniae*, как правило, выделяли и другие микроорганизмы. В 41,7% случаев от поросят с микоплазмозной пневмонией параллельно выделяли патогенные штаммы различных бактерий и в 58,3 % случаев вирусы. Наиболее часто респираторному микоплазмозу сопутствовал пастереллез (29,1%), стрептококкоз (8,8%) и актинобациллёзная плевропневмония (3,8%). Молекулярно-генетическими исследованиями был выделен генетический материал возбудителей цирковиральной инфекции и репродуктивно-респираторного синдрома.

Таблица 1 – Результаты бактериологического исследования мазка из носа

№ п/п	Количество проб	Выделены микроорганизмы в пробах			
		<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>P. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>S. pneumoniae</i>
1.	12	5	1	6	4
2.	16	6	1	6	5
3.	12	7	1	5	5

При анализе данных, полученных в результате бактериологического исследования патматериала от поросят, было установлено, что стрептококки были представлены *S. pneumoniae*, а пастереллы: *P. multocida* и *P. haemolytica* (Таблица 1).

Для обнаружения генетического материала микоплазм применялась ПЦР - диагностика. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты молекулярно-генетического исследования легких

№ п/п	Возбудитель	Количество исследованных проб	Количество положительных результатов	Значение Ct
1.	<i>M. hyorhinis</i>	12	1	33,37
2.	<i>M. hyopneumoniae</i>	12	8	22,4

Примечание: Результаты ПЦР при указании значений Ct: значение Ct < 27 соответствует высокому количеству антигена Ct ≤ 30 среднему, Ct > 30 низкому количеству антигена.

Число Ct - условный показатель определения микробной нагрузки. Ct –это пороговый цикл амплификации, на котором обнаружен возбудитель болезни.

Показатели эпизоотического процесса при энзоотической пневмонии свиней (заболеваемость, смертность и летальность) взаимосвязаны, зависят от течения болезни и наиболее часто регистрируются в холодное время года (ноябрь-апрель) (Таблица 3).

Таблица 3 – Динамика заболеваемости, смертности и смертельности при подостром и хроническом течении энзоотической пневмонии свиней

Течение болезни	Животных, гол	Заболело, гол	Пало, гол	Заболеваемость на 1000 голов	Смертность на 1000 голов	Летальность, %
п/острое	2500	750	267	300,0	106,8	35,6
хрон-кое	1950	560	234	287,1	120,0	41,7
п/острое+хрон-кое	4455	1310	501	294,05	112,45	38,24

Таблица 4 – Результаты диагностики в ИФА сывороток крови свиней на антитела к *M. hyorheumoniae*

№ п/п	Группы животных	Количество проб	Положительных проб
1.	Поросята-сосуны до 20-ти дневного возраста	30	24
2.	Поросята до 50 –ти дневного возраста	30	8
3.	Подсвинки-откорм	30	20
4.	Супоросные свиноматки	30	16
Итого		120	68

При острой форме микоплазмоза у поросят абсолютное значение лимфоцитов снижается до $0,70 \pm 0,038 \times 10^9/\text{л}$. Количество Т-лимфоцитов при подостром течении снижается до $28,9 \pm 1,4\%$, а при хроническом наоборот увеличивается до $69,1 \pm 1,2\%$. При хронической энзоотической пневмонии количество лимфоцитов находится в пределах $0,44 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$. Снижение количества Т-лимфоцитов у поросят до $0,44 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ при хроническом течении свидетельствует о глубокой супрессии клеточного иммунитета. Соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам при подостром течении составляет – 1,7, а при хроническом - 2,28 (Таблица 5).

Таблица 5 – Показатели клеточного иммунитета поросят с подострым и хроническим течением пневмонии (n = 20)

Формы течения болезни	Т-лимфоциты						
	Т-лимфоциты		Т-хелперы		Т-супрессоры		Тх/Тс
	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$	
Подострая	$28,9 \pm 1,4^{**}$	$0,70 \pm 0,038$	$16,01 \pm 0,8^*$	$0,10 \pm 0,012$	$9,4 \pm 0,5^{**}$	$0,066 \pm 0,033$	1,7
Хроническая	$69,1 \pm 1,2^{**}$	$0,44 \pm 0,04$	$12,3^{***}$	$0,04 \pm 0,019$	$7,2 \pm 0,6^{**}$	$0,032 \pm 0,012$	2,28
<i>*p < 0,05, ** p < 0,01, ***p < 0,001</i>							

Показатели гуморального иммунитета поросят, с подострым и хроническим течением представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Показатели гуморального иммунитета поросят с подострым и хроническим течением пневмонии (n = 20)

Формы течения болезни	В-лимфоциты		Иммуноглобулины		
	%	х10 ⁹ /л	А, мг/мл	М, мг/мл	G, мг/мл
Подострая	14,07±1,92	0,36±0,04*	2,14±0,06*	11,0±0,12	1,39±0,02
Хроническая	32,64±0,3	0,20±0,06*	1,49±0,03*	1,9±0,07	11,8±0,11

* $p < 0,001$

При энзоотической пневмонии свиней с подострой формой заболевания количество В-лимфоцитов значительно ниже физиологических показателей (14,07±1,92%). При хроническом течении количество В-лимфоцитов наоборот увеличивается (32,64±0,3%). Низкий уровень Ig M (11,0±0,12 мг/мл) свидетельствует о негативном воздействии микоплазм на гуморальный иммунитет поросят.

Эпизоотологические и клинико-лабораторные исследования микоплазмоза мелкого рогатого скота

Клинические признаки у ягнят и козлят выражались лихорадкой, гиперемией век, серозным и серозно-гнойным конъюнктивитом, кашлем, хромотой. Микоплазмоз у ягнят и козлят регистрировали начиная с месячного возраста. Большая часть заболевшего молодняка погибала. При вскрытии павших ягнят и козлят наиболее часто обнаруживали патологические изменения в лёгких. Как правило изменения характеризовались воспалением эпикальных долей лёгких. При пальпации изменённых участков лёгких ощущалось сильное уплотнение лёгочной ткани. Характер воспалительной реакции (экссудата) был от серозного до катарально-геморрагического.

Количественные показатели эпизоотического процесса микоплазмоза ягнят и козлят представлены на диаграммах (Рисунок 1).

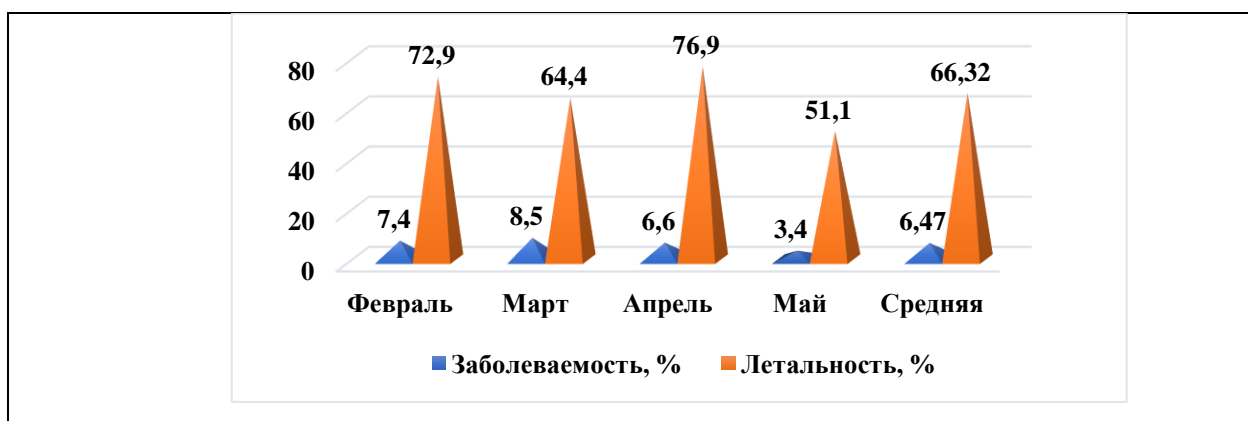


Рисунок 1 - Динамика заболеваемости и летальности ягнят по месяцам

Результаты исследований сывороток крови различных возрастных групп мелкого рогатого скота на наличие специфических антител к *Mycoplasma agalactiae* представлены в таблице 7. Антитела в диагностическом титре для ИФА обнаруживали в 50% проб сывороток крови. Наиболее часто антитела к микоплазмам выявляли у животных группы - откорма и баранов - производителей (60%), у овцематок и ремонтного молодняка (4-х мес. и старше) – в 50% исследованных проб сывороток крови.

Таблица 7 – Результаты ИФА сывороток крови мелкого рогатого скота

№ п/п	Группы животных	Количество проб	Положительно проб (%)
1.	Ягнята до 4-х месячного возраста	10	4 (40)
2.	Ремонтный молодняк (4-х мес. и старше)	10	5 (50)
3.	Откорм и бараны производители	10	6 (60)
4.	Овцематки	10	5 (50)
Итого		40	20 (50,0)

Таблица 8 – Результаты бактериологического исследования легких мелкого рогатого скота

Возбудитель	Количество исследованных проб	Количество положительных результатов
<i>M. capricolum subsp. capricolum</i>	6	0
<i>M. mycoides subsp. mycoides</i>	6	2
<i>M. agalactiae</i>	6	3
<i>P. haemolytica</i>	6	3
<i>P. multocida</i>	6	6
<i>S. sp. hamoliserend</i>	6	4

Таблица 9 – Результаты молекулярно-генетического исследования проб мазков из носовых ходов ягнят

№ п/п	Возбудитель	Количество исследованных проб	Количество положительных результатов исследования
1.	<i>P. haemolytica</i>	6	-
2.	<i>P. multocida</i>	6	2
3.	<i>S. sp. hamoliserend</i>	6	2
4.	<i>M. capricolum subsp. capricolum</i>	6	-
5.	<i>M. mycoides subsp. mycoides</i>	6	-
6.	<i>M. agalactiae</i>	6	1

В таблицах 8 и 9 представлены результаты бактериологического и ПЦР-исследований легких и мазков из носовых ходов ягнят мелкого рогатого скота.

Таким образом, можно констатировать, что микоплазмы очень часто инфицируют мелкий рогатый скот и являются этиологией различных патологических проявлений. Также следует отметить, что наряду с микоплазмами в ассоциации часто встречаются стрептококки и пастереллы, которые осложняют течение микоплазмоза и труднее поддаются лечению.

Эпизоотологические и клинико-лабораторные исследования микоплазмоза крупного рогатого скота

При клиническом проявлении микоплазмоза в форме пневмоний и артритов инкубационный период длится от 7 до 26 дней. У телят отмечаются вначале серозные, а затем слизистые истечения из носовых ходов, повышение температуры тела до

40,5°C и сухой кашель. Затем появляются обильные слизисто-гнойные истечения из носовых отверстий, дыхание становится частым поверхностным, кашель влажным, в легких прослушиваются хрипы. Животные совершают манежные движения. Через две-три недели появляются признаки артритов. В результате у телят появляются хромота, двигаются они неохотно. При пальпировании суставы были увеличенные в размере, горячие и болезненные.

Показатели эпизоотического процесса при остром и хроническом течении микоплазмоза телят (заболеваемость, смертность и смертельность), в зависимости от течения болезни представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Динамика заболеваемости, смертности и смертельности при остром и хроническом течении микоплазмоза телят

Течение болезни	Животных, гол	Заболело, гол	Пало, гол	Заболеваемость на 1000 голов	Смертность на 1000 голов	Смертельность, %
острое	1245	118	36	94,7	28,9	30,5%
хрон-кое	960	59	14	61,4	14,58	23,7%
острое + хрон-кое	2205	177	50	80,2	22,67	28,2

Антитела в диагностическом титре для ИФА обнаруживали в 55% проб сывороток крови. Наиболее часто антитела к микоплазмам выявляли у телят от 6-ти и до 12-ти месячного возраста (70%), у телят от 3-х и до 6-ти месячного возраста - 60% и у телят до 3-х месячного возраста в 50% исследованных проб сывороток крови (Таблица 11).

Таблица 11 – Результаты ИФА сывороток крови телят на антитела к *M. bovirhinitis*

№ п/п	Группы животных	Количество проб	Положительных проб
1.	Телята до 3-х мес. возраста	10	5
2.	Телята от 3-х и до 6-ти мес. возраста	10	6
3.	Телята от 6-ти и до 12-ти мес. возраста	10	7
4.	Нетели от 12-ти и до 15-ти мес. возраста	10	4
Итого		40	22

При прижизненных бактериологических исследованиях проб носовой слизи, экссудата из глазной щели, содержимого вымени выдели различные виды микоплазм: *M. mycoides* и *M. bovirhinitis*. Как правило кроме микоплазм выделяли и другие микроорганизмы: в мазках из носа *P. multocida*, *P. haemolytica*, *S. pneumoniae*; из содержимого вымени *S. aureus*, *S. faecalis*, *C. albicans*. Из суставной жидкости и лёгких *P. multocida* и *S. pneumoniae*.

Для подтверждения видовой принадлежности микоплазм применялась ПЦР диагностика (Таблица 12).

Таблица 12 – Результаты молекулярно-генетического исследования проб легких телят

№ п/п	Микроорганизм	Количество исследованных проб	Количество положительных результатов исследования	Значение Сt
1.	<i>M. mycoides</i>	6	3	33,33
2.	<i>M. bovirhinis</i>	6	1	22,8

Проведение молекулярно-генетической диагностики проб из лёгких при помощи ПЦР установлено, что у крупного рогатого скота, в частности телят циркулируют и являются причиной патологий два вида микоплазм: *Mycoplasma mycoides* и *M. bovirhinis*.

Показатели бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности у больных телят ниже физиологической нормы. Фагоцитарный индекс также низкий. У больных телят БАСК был ниже нормы на 26,4%, ЛАСК на 9,3%, ФА – 5,3%, ФИ – 12,5%. Количество иммуноглобулинов в сыворотках крови ниже на 28,5% по сравнению с физиологической нормой для телят данного возраста.

У телят, также наблюдалась тенденция снижения общего количества Т- и В-лимфоцитов. Количество Т- лимфоцитов снизилось на 33,9% ($p < 0,05$). Содержание В-лимфоцитов у телят снизилось на 30,0% ($p < 0,05$).

Исследования по разработке оптимальных доз и курсов проведения аддитивной терапии сельскохозяйственных животных при микоплазмозах

Рекомендованный НТД 5% раствор энтриким свиньям в дозе: 2,5 см³/1 кг массы один раз в сутки в течение 3-5 дней при микоплазмозе оказалась не эффективной (от 16,6 до 33,3%) при курсовой лечении от 7-ми до 9-ти суток соответственно. Высокой лечебной эффективностью обладает 5% раствор энтрикима в дозе 5,0 см³/1 кг массы и 10% раствор в дозе 2,0 см³/1 кг массы при 7-ми дневном курсе применения (83,3%).

Оптимальной по лечебной и экономической эффективности при микоплазмозе ягнят является доза 5,0 см³/1 кг массы при курсе лечения в 7-мь суток.

Использование при применении на телятах 10% раствора энтрикима обусловлено их большей массой по сравнению с поросятами и ягнятами.

Высокой лечебной эффективностью обладает 10% раствор энтрикима в дозе 2,0 см³/1 кг массы телят. Однако, экономически не целесообразно использовать дозу в 2,0 см³/1 кг массы телят, так как при том же курсе в 7-мь дней, но в дозе 1,0 см³/1 кг массы лечебная эффективность одинаковая – 83,3%.

Исследования по разработке аддитивной терапии свиней при энзоотической пневмонии

После проведения курса лечения энтрикимом поросят с подострым течением заболевания количество В-лимфоцитов увеличивалось в 2 раза, а после лечения поросят с хроническим течением заболевания 3,5 раза до $0,70 \pm 0,04 \times 10^9$ /л. При анализе иммуноглобулинов установлено, что применение энтрикима оказывает существенную помощь в формировании гуморального иммунитета так, как количество IgG увеличивается на 45%.

Испытания лечебного эффекта комплексного препарата энтрикима для лечения поросят, с подострым и хроническим течением энзоотической пневмонии. отдельными компонентами энтрикима, которые используются, как терапевтические препараты при болезнях, вызванных микоплазмами представлены в таблице 13 и 14.

Таблица 13 – Лечебная эффективность энтрикима и отдельных его компонентов при лечении поросят, с подострым течением пневмонии

Группа животных	Опыт (энтриким)	Контроль (тилмикозина фосфат)	Контроль (триметоприм)	Контроль (энрофлоксацин)
Кол-во больных поросят в начале опыта, гол.	54	54	54	54
Выздоровело поросят, гол.	49	38	15	40
Лечебная эф-ность, %	90,7	70,3	27,7	74,4

Таблица 14 – Лечебная эффективность энтрикима и отдельных его компонентов при лечении поросят, с хроническим течением пневмонии

Показатели	Опыт (энтриким)	Контроль (тилмикозина фосфат)	Контроль (триметоприм)	Контроль (энрофлоксацин)
Кол-во больных поросят в начале опыта, гол.	54	54	54	54
Выздоровело поросят, гол.	40	18	5	21
Лечебная эф-ность, %	74,4	33,3	9,2	38,8

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что лечебная эффективность композиционного препарата энтрикима увеличивается за счет синергического взаимодействия энрофлоксацина, триметоприма и тилмикозина фосфата в отношении микоплазм – возбудителя энзоотической пневмонии. Предлагаемый способ лечения 5% раствором энтрикима эффективен для поросят с 2-недельного до 4-месячного возраста в дозах 5 см³/кг живой массы тела, два раза в сутки в течение 7 суток при лечении пневмонии с подострым и хроническим течением. Лечебная эффективность энтрикима при подостром течении составила 90,7%, при хроническом - 74,4%, что значительно выше, чем при лечении энрофлоксацином, триметопримом и тилмикозином.

Исследования по разработке аддитивной терапии мелкого рогатого скота при микоплазмозах

Для лечения ягнят и козлят применяли 5% раствор энтрикима орально в дозе 5 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд. Через 3 дня после окончания курса лечения брали мазка из носа для комплексных лабораторных исследований (бактериологические и молекулярно-генетические). Результаты исследований представлены в таблице 15.

Терапия ягнят и козлят с использованием комплексного препарата 5% раствора энтрикима, содержащего в своём составе энрофлоксацин, триметоприм и тилмикозина фосфат в дозе 5,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд позволило инактивировать в организме молодняка мелкого рогатого скота целый ряд патогенных микроорганизмов *M. capricolum subsp. capricolum*, *M. mycoides subsp. mycoides* и *P. haemolytica* со 100% эффективностью, *M. agalactiae* с 83,4% эффективностью, а *S. sp. hamolisierend* и *P. multocida* с 66,7% эффективностью.

Таблица 15 – Оценка эффективности лечения лабораторными методами исследованиями мазка из носа

Метод исследования	Выявлены микроорганизмы	Количество исследованных проб	Количество положительных результатов	Эффективность лечения, %
Бактериологическое	<i>P. haemolytica</i>	6	0	100
	<i>P. multocida</i>	6	0	100
	<i>S. sp. hamolisierend</i>	6	0	100
	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	6	0	100
	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	6	0	100
	<i>M. agalactiae</i>	6	0	100
Молекулярно-генетическое (ПЦР)	<i>P. haemolytica</i>	6	0	100
	<i>P. multocida</i>	6	2	66,7
	<i>S. sp. hamolisierend</i>	6	2	66,7
	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	6	0	100
	<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	6	0	100
	<i>M. agalactiae</i>	6	1	83,4

Исследования по разработке аддитивной терапии молодняка крупного рогатого скота при микоплазмозах

В качестве лечебного препарата телятам применяли 10% раствор энтрикима орально в дозе 1,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд. От телят до и после проведения лечения (через 3 дня после окончания курса) брали кровь для комплексных лабораторных исследований. Морфологические показатели крови телят приведены в таблице 16.

Таблица 16 – Морфологический состав крови телят до и после лечения (n=5)

Показатели	Ед. изм.	До лечения	После лечения
эритроциты	×10 ¹² /л	5,5±0,3	6,9±0,5
лейкоциты	×10 ⁹ /л	5,9±0,2	6,9±0,4
Лейкограмма, %			
эозинофилы		0,4±0,04	0,2
базофилы		0	0,1
нейтрофилы:			
- юные		0,1±0,04	0,1±0,02
- п/ядерные		5,0±0,1	4,9±0,2
- с/ядерные		26,2±0,5	27,6±0,5
моноциты		2,1±0,4	2,2±0,02
лимфоциты		66,1±0,08	65,0

Общее количество эритроцитов и лейкоцитов у телят, получавших лечение «энтрикимом», увеличилось на 25,4% и на 16,9% соответственно (p < 0,05). Показатели лейкограммы не имели значительных отличий.

В связи с тем, что микоплазмы оказывают существенное негативное влияние на клеточно-гуморальные показатели, значительный интерес представляла оценка биохимического состава крови телят. Обобщенные результаты приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Биохимический состав крови телят до и после лечения (n=5)

№ п/п	Показатели	До лечения	После лечения
1.	Общий белок, г/л	58,7±2,2	65,7±1,2
2.	Альбумины, г/л	33,7±2,0	34,7±1,3
3.	Глобулины, г/л:		
	- альфа	13,7±1,2	15,7±0,7
	- бета	8,8±0,8	12,7±0,5
	- гамма	0,9±0,1	3,3±0,3

Содержание гамма-глобулинов у больных телят с острым течением микоплазмоза было низким. После проведения лечения произошло существенное нарастание количества глобулинов, и что особенно важно гамма-глобулина на 14,5% ($p < 0,05$). Стоит отметить и увеличение общего белка крови на 11,9% ($p < 0,05$). Остальные показатели значительных изменений не претерпели.

Результаты исследований по определению показателей неспецифической резистентности также свидетельствуют о положительном влиянии лечения энтрикимом на функционирование иммунокомпетентных органов телят (Таблица 18).

Таблица 18 – Показатели неспецифической резистентности в крови телят до и после лечения (n=5)

Показатели	Ед. изм.	До лечения	После лечения
БАСК	%	17,3±0,3	22,2±0,8
ЛАСК	%	12,7±0,2	14,1±0,7
ФА	%	43,1±0,3	45,1±0,3
ФИ	%	1,4±0,2	1,6±0,1
Иммуноглобулины	мг/мл	14,3±0,4	18,1±0,4
НСТ-тест:			
- спонт., %	%	5,7±0,2	8,2±0,2
- стимулир., %	%	6,9±0,3	9,2±0,3

Полученные результаты свидетельствуют о том, что показатели бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности у телят после проведения лечения выше, чем до него. Фагоцитарный индекс также стал выше у телят, подвергнутых терапии. У телят опытной группы БАСК повысилась на 28,3%, ЛАСК на 11,0%, ФА – 4,6%, ФИ – 14,2%. Количество иммуноглобулинов в сыворотках крови стало на 32,3% выше по сравнению с контрольной группой телят. Показатели НСТ-теста также были более выражены у телят после лечения. Функциональная активность нейтрофилов в НСТ-тесте после проведения терапии имел более высокие показатели, как в спонтанном, так и в стимулированном вариантах. Его уровень повысился на 43,8% и 33,3% соответственно. Содержание иммуноглобулинов, повысилось на 26,5%.

Таблица 19 – Показатели клеточного и гуморального иммунитета поросят с до и после лечения энтрикимом (n = 5)

№ п/п	Показатели	До лечения	После лечения
1.	Т-лимфоциты, тыс/мкл	2,38±0,14	3,53±0,38
2.	В-лимфоциты, тыс/мкл	0,63±0,03	0,84±0,04

По таблице видно, что у телят, подвергнутых лечению, также наблюдалась тенденция нарастания общего количества Т- и В- лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов повышалось на 48,3% (p <0,05). Содержание В- лимфоцитов у телят также стало выше на 33,3% (p <0,05). Это свидетельствует об активации клеточных и гуморальных факторов иммунитета телят после проведения лечения препаратом «Энтриким».

Обобщая полученные данные, можно констатировать положительное влияние проведённого лечения энтрикимом на гемопоэз и естественную резистентность телят.

Нами проведены испытания лечебного эффекта комплексного препарата энтрикима для лечения телят, с острым и хроническим течением микоплазмоза. Контрольные группы телят лечили отдельными компонентами энтрикима, которые используются, как терапевтические препараты при болезнях, вызванных микоплазмами. Результаты испытаний представлены в таблице 20 и 21.

Таблица 20 – Лечебная эффективность энтрикима и отдельных его компонентов при лечении телят, с острым течением микоплазмоза

Группа животных	Опыт (энтриким)	Контроль (тилмикозина фосфат)	Контроль (триметоприм)	Контроль (энрофлоксацин)
Количество больных телят в начале опыта, гол.	14	5	5	5
Выздоровело телят, гол.	12	2	2	3
Лечебная эффективность, %	85,7	40,0	40,0	60,0

Таблица 21 – Лечебная эффективность энтрикима и отдельных его компонентов при лечении телят, с хроническим течением микоплазмоза

Показатели	Опыт (энтриким)	Контроль (тилмикозина фосфат)	Контроль (триметоприм)	Контроль (энрофлоксацин)
Кол-во больных телят в начале опыта, гол.	16	5	5	5
Выздоровело телят, гол.	10	1	1	2
Лечебная эффективность, %	62,5	20,0	20,0	40,0

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что лечебная эффективность комплексного препарата «энтриким» увеличивается за счет ассоциированного действия составных компонентов: энрофлоксацина, триметоприма

и тилмикозина фосфата на микоплазмы. Предложенный способ лечения телят 10% раствором энтрикима орально в дозе 1,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд эффективен для телят до месячного возраста. Лечебная эффективность энтрикима при остром течении составила 85,7%, при хроническом - 62,5%, что значительно выше, чем при лечении только энрофлоксацином или триметопримом или тилмикозином.

Применение энтрикима расширяет ассортимент препаратов, обладающих высокой активностью в отношении микоплазм, вызывающих патологии у телят. Применение препаратов комплексного действия, к которым относится энтриким способно потенцировать антимикробный эффект, как в отношении микоплазм, так и эшерихий, сальмонелл и пастерелл, которые при лабораторных исследованиях, как правило выделяют от телят при клинических признаках микоплазмоза.

Оценка эффективности препаратов для лечения коров при хроническом эндометрите, осложненного микоплазмами

В содержимом матки коров при хроническом эндометрите микробиома была представлена: *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, *Pasterella multocida*, *Mycoplasma mycoides*, которая была чувствительна к Биотену, Энтрикиму и Тилозинокару, что и послужило основанием их использования для опытного и контрольного лечения коров при хронической форме эндометрита.

Для изучения сравнительной терапевтической эффективности различных методов лечения коров при хроническом эндометрите по принципу аналогов сформировали три опытные группы коров по 9 голов в каждой.

Коровам первой опытной группы внутриматочно вводили препарат Тилозинокар в дозе 20 мл на 100 кг массы тела коровы с интервалом 48 часов до закрытия шейки матки (производитель - Республика Беларусь). Активным веществом данного препарата является тилозин.

Животным второй опытной группы с помощью аэрозольного баллончика и специального катетера внутриматочно вводили препарат Биотен в дозе 65 мл в виде аэрозольной эмульсии в течение 3-4 дней с интервалом 24 часа. Активные вещества препарата: норфлоксацин и диоксидин. Производитель – ЗАО НПП «Агрофарм», Россия.

Коровам третьей опытной группы внутриматочно специальным катетером и шприцом-дозатором (доза 20 мл) двукратно вводили препарат Энтриким с интервалом 48 часов до закрытия цервикального канала. Активное вещество препарата – энрофлоксацин, триметоприм и тилмикозин. Производитель – ООО «Алиса», Россия. Результаты лечения в таблице 22.

Таблица 22 – Эффективность лечения коров при хроническом эндометрите (n=9)

№ группы	Препарат	Выздоровело		Срок выздоровления дни
		гол.	%	
1.	Тилозинокар	8	88,89	9,50±0,31
2.	Биотен	9	100	7,53±0,22*
3.	Энтриким	9	100	8,42 ±0,23*

Примечание: * $P < 0,05$ по отношению к Тилозинокару.

К 7-9 дню терапии коров Тилозинокаром, Биотеном и Энтрикимом, эхографическое сканирование показало уменьшение рогов матки практически до небеременного состояния, а наличие экссудата было незначительным и находилось

преимущественно в области эндометрия рогов матки. Причем, наиболее резкое снижение оплодотворяемости наблюдали во второй половой цикл у животных всех опытных групп, (n=9).

После лечения коров препаратами Энтриким и Биотен оплодотворение наступило у всех коров данных опытных групп. Причем, лучший индекс осеменения, получен при использовании препарата Энтриким (Таблица 23).

Таблица 23 – Оплодотворяемость коров после лечения различными методами за 90 дней опыта (n=9)

№ группы	Препарат	Всего оплодотворилось		Индекс осеменения
		гол.	%	
1.	Тилозинокар	8	88,89	1,9
2.	Биотен	9	100	1,5
3.	Энтриким	9	100	1,2

Высокие показатели индекса осеменения в опытных группах коров, которых лечили препаратами Энтриким и Биотен достигнуты за счет оплодотворения животных по первому половому циклу- 55,55% (Рисунок 2). Тогда как оплодотворяемость коров после лечения препаратом Тилозинокар составила 44,44%. Следовательно двукратное внутриматочное введение препарата энтриким катетером и шприцом-дозатором в дозе 20 мл с интервалом 48 часов до закрытия цервикального канала при хроническом эндометрите приводит к 100%-ному выздоровлению коров при индексе осеменения 1,2.

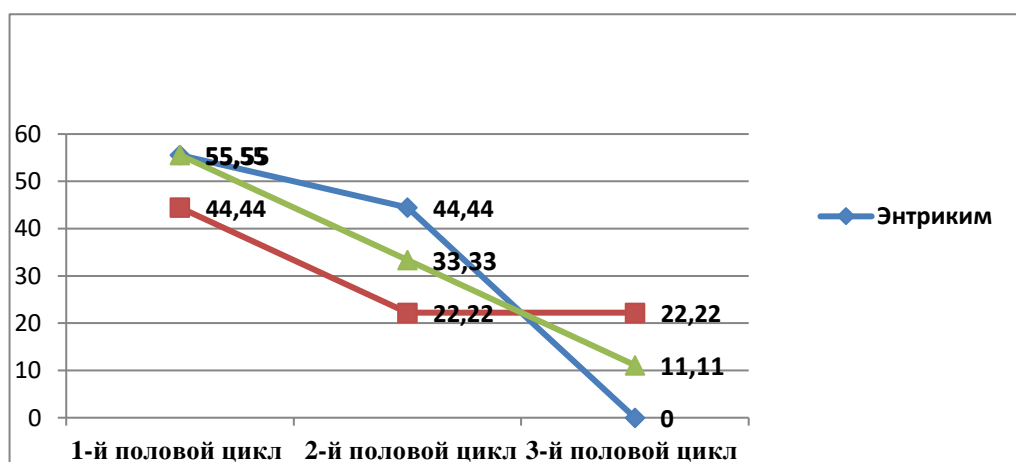


Рисунок 2 – Особенности оплодотворения коров по половым циклам (%)

Таким образом, однократное внутриматочное введение препарата Энтриким при хроническом эндометрите приводит к 100%-ному выздоровлению коров при лучшем индексе осеменения. Кроме того, высокая терапевтическая эффективность препаратов отечественного производства (энтриким и биотен), существенно снижает зависимость нашей страны от рынка лекарственных средств зарубежных государств. Поэтому препараты энтриким и биотен могут найти широкое применение для терапии коров при хроническом эндометрите, вызванного различной микробиотой, включая и *Mycoplasma mycoides*.

Изучение фармакокинетики действующих веществ препарата «Энтриким» у животных

Уровень остаточного количества тилмикозина фосфата, согласно результатам ВЭЖХ, в печени снижался с 1327-3105 мкг/кг через 4 ч после введения до 16-36 мкг/г после 96 ч от момента последнего введения препарата. Уровень тилмикозина фосфат в почках снижался с 3602-4782 мкг/кг до 39-59 мкг/кг за тот же период. В мышечной ткани уровень снижался с 1776-2207 мкг/кг до 16-23 мкг/кг, в тканях в месте инъекции с 2985-4410 мкг/кг до 15-25 мкг/кг и в жировой ткани с 504-2023 мкг/кг до менее чем 8,5-30 мкг/кг.

Через 192 часа после последней инъекции препарата концентрация остаточного тилмикозина фосфат в большинстве тканей организма была ниже предела количественного определения (ПКО) используемой методики (Таблица 24).

Таблица 24 – Интервал концентраций тилмикозина фосфат в тканях свиней на различных временных этапах после последнего введения препарата (мкг/кг).

№ п/п	Ткань	4 часа	96 часов	192 часа
1.	Печень	1327-3105	19-36	<ПКО
2.	Почки	3602-4782	39-59	<ПКО
3.	Мышечная	1776-2207	16-23	<ПКО
4.	Жировая	504-2023	<8.5-3.0	<ПКО
5.	Ткани в месте инъекции	2985-4410	15-25	<ПКО

При определении остаточного количества энрофлоксацина, отмечено, что уровень остаточных веществ быстро снижался. Остаточный энрофлоксацин был обнаружен только в 1 из 4-х образцов ткани печени (49 мкг/кг), в одном из 4-х образцов тканей почек (82 мкг/кг) через 4 дня после последнего введения. Обнаружить остаточные вещества в жировой ткани представилось возможным только в образцах, взятых через 4 ч после последнего введения препарата от 369 до 1826 мкг/кг. Уровень энрофлоксацина в тканях в точке инъекции был в диапазоне от 907 до 1118 мкг/мл через 4 ч после последнего введения, через 2 дня после последнего введения уровень снизился до 21-88 мкг/кг (Таблица 25).

Таблица 25 – Интервал концентраций энрофлоксацина в тканях свиней на различных временных этапах после последнего введения препарата (мкг/кг).

№ п/п	Ткань	4 часа	48 часов	96 часов
1.	Печень	-	-	<ПКО-49
2.	Почки	-	-	<ПКО-82
3.	Жировая	369 - 1826	<ПКО	<ПКО
4.	Ткани в месте инъекции	907 - 1118	21 - 88	<ПКО

Концентрация энрофлоксацина в печени телят через 4 часа после введения препарата составляла 30-198 мкг/кг, а через 96 часов снизилась до 37-61 мкг/кг

В почках концентрация остаточных веществ снизилась с 53-164 мкг/кг до 47-111 мкг/кг за тот же период времени, в мышечной ткани - с менее <ПКО-65 мкг/кг до 27-44 мкг/кг, в тканях в месте укола с 25-61 мкг/кг до 25-43 мкг/кг. Только в одном из образцов тканей, взятом из почек, были обнаружены остаточные количества (36

мкг/кг) после 192 ч после последнего введения препарата. ПКО используемого метода определения был равен 25 мкг/кг (Таблица 26).

Таблица 26 – Интервал концентраций энрофлоксацина в тканях телят на различных временных этапах после последнего введения препарата (мкг/кг).

№ п/п	Ткань	4 часа	96 часов	192 часа
1.	Печень	30-198	37-61	<ПКО
2.	Почки	53-164	47-111	<ПКО-36
3.	Мышечная	<ПКО-65	27-44	<ПКО
4.	Жировая	<ПКО	<ПКО	<ПКО

Исследования остаточного количества энрофлоксацина в молоке у коров показали, что в молоке первого надоя после завершения лечения было в диапазоне от 180 до 679 мкг/л. Затем, в третьем надое уровень остаточных веществ снизился до уровня <10-34 мкг/л. В 5-м надое уровень остаточных веществ во всех образцах был ниже ПКО, установленного для применяемой методики (Таблица 27).

Таблица 27 – Интервал концентраций энрофлоксацина в молоке коров на различных временных этапах после последнего введения препарата (мкг/кг).

№ п/п	Исследуемый образец	12 часов (1-й надой)	36 часов (3-й надой)	60 часа (5-й надой)
Концентрация в мкг/л				
1.	Молоко	180-679	10-34	<ПКО

Большой интерес для нас представляли исследования по определению концентрации энрофлоксацина в плазме и молоке лактирующих коров. Профиль «концентрация – время» энрофлоксацина в молоке соответствует профилю плазмы (Рисунок 3).

Однако отмечается и некоторая задержка в молоке по сравнению с абсорбцией в системе кровообращения. После первого введения T_{max} было равно 2.5 ч при C_{max} 1.024 мкг/мл. После третьего введения этот показатель был повысился до 1.074 мкг/мл. Период полувыведения был достаточно быстрым и равнялся 3.11 ч.

На рисунке 3 показано, что концентрация энрофлоксацина ниже максимального допустимого уровня остаточных веществ 75 мкг/кг ($=0,07$ мкг/кг) около 63 часов после введения препарата.

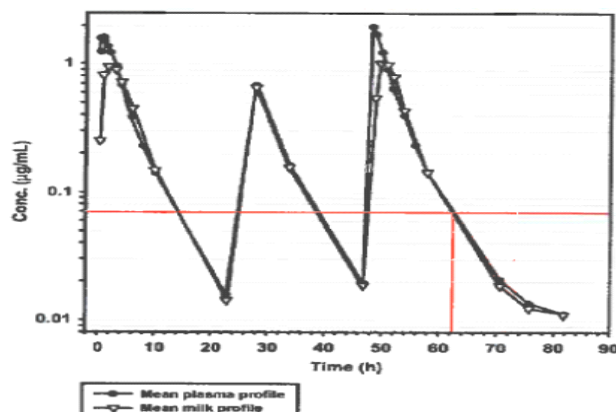


Рисунок 3 – Средний профиль концентрация-время энрофлоксацина в плазме и молоке коров после введения препарата

Таким образом, результаты проведенных экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что после подкожного применения препарата компонентов

препарата «Энтриким» свиньям убой животных разрешается не ранее, чем через 4 суток, а убой телят после внутримышечного введения - через 6 суток. При внутримышечном введении компонентов комплексного препарата «Энтриким», реализация молока коров возможна не ранее чем через 36 часов.

Экономическая эффективность энтрикима при проведении лечения сельскохозяйственных животных, больных микоплазмозом

Лечебная эффективность энтрикима при остром течении микоплазмоза у телят составила 85,7%, при хроническом - 62,5%, а экономическая эффективность 24,11 руб. на 1 руб. затрат.

Лечебная эффективность энтрикима при подостром течении микоплазмоза поросят составила 90,7%, при хроническом - 74,4%, а экономическая эффективность 181,5 руб. на 1 руб. затрат.

Терапия ягнят и козлят с использованием комплексного препарата позволило оздоровить поросят от микоплазмоза, вызванного: *M. capricolum subsp. capricolum*, *M. mycoides subsp. mycoides* со 100% эффективностью, *M. agalactiae* с 83,4%. При этом экономическая эффективность в среднем составила 24,45 руб. на 1 руб. затрат.

Заключение

Таким образом, проведенные клинико-экспериментальные исследования по применению препарата энтрикима при микоплазмозе сельскохозяйственных животных свидетельствуют о его эффективности.

Выводы

1. Заболеваемость микоплазмозом поросят в расчёте на 1000 условных голов составляет: 294,05, при показателе смертности – 112,45; у телят - 80,2, при смертности - 28,2; у ягнят и козлят - 68,7, при смертности - 57,97 животных. Специфические постинфекционные антитела в диагностическом титре ИФА выявляются в 52-57% проб сывороток крови свиней и в 50-55% проб сывороток крови телят и ягнят.

2. Основные виды микоплазм вызывающих патологии у свиней: *M. hyopneumoniae* и *M. hyorhinis*; у телят: *M. mycoides* и *M. bovirhinis*; у ягнят и козлят: *M. mycoides subsp. mycoides* и *M. agalactiae*.

3. При острой форме микоплазмоза у поросят абсолютное значение лимфоцитов снижается до $0,70 \pm 0,038 \times 10^9/\text{л}$, при хроническом наоборот увеличивается до $69,1 \pm 1,2\%$. Соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам при подостром течении составляет – 1,7, а при хроническом - 2,28. При энзоотической пневмонии свиней с подострой формой заболевания количество В-лимфоцитов значительно ниже физиологических показателей ($14,07 \pm 1,92\%$), при хроническом течении - увеличивается ($32,64 \pm 0,3\%$). Количество эритроцитов при микоплазмозе телят ниже на 11,4%, лейкоцитов на 15,3%, при увеличении количества эозинофилов (на 50%). БАСК ниже нормы на 26,4%, ЛАСК на 9,3%, ФА – 5,3%, ФИ – 12,5%. Количество иммуноглобулинов ниже на 28,5%. Содержание общего белка крови ниже на 11,1%. Количество Т- лимфоцитов ниже на 43,9%, В- лимфоцитов ниже на 30,0%.

4. После лечения энтрикимом у поросят количество В-лимфоцитов увеличивается в 2 -3,5 раза, до $0,70 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$., содержание IgG увеличивается на 45%. У телят БАСК повышается на 28,3%, ЛАСК на 11,0%, ФА – 4,6%, ФИ – 14,2%. Количество иммуноглобулинов в сыворотках крови повышается на 32,3%, функциональная активность нейтрофилов в НСТ-тесте после проведения терапии - на 43,8% и 33,3%, содержание иммуноглобулинов - на 26,5%, количество Т- лимфоцитов - на 48,3% ($p < 0,05$), А содержание В- лимфоцитов - на 33,3%.

5. Способ лечения: поросят при энзоотической пневмонии 5% раствором энтриким эффективен в дозе 5 см³/кг живой массы тела, при двукратном применении за сутки в течение 7 дней достигает 90,7%, что значительно выше, чем при лечении отдельными компонентами препарата: энрофлоксацином, триметопримом и тилмикозином; телят 10% раствором орально в дозе 1,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд энтриким обладает эффективностью 85,7%, что значительно выше, чем при лечении отдельными компонентами препарата: энрофлоксацином, триметопримом и тилмикозином; ягнят 5% раствором энтрикима, содержащего в своём составе в дозе 5,0 см³/1 кг массы тела два раза в сутки 7 дней подряд позволяет инактивировать *M. capricolum subsp. capricolum*, *M. mycoides subsp. mycoides* и *P. haemolytica* со 100% эффективностью, *M. agalactiae* с 83,4% эффективностью, а *S. sp. hamolisierend* и *P. multocida* с 66,7% эффективностью; коров двукратным внутриматочным введением препарата энтриким в дозе 20 мл с интервалом 48 часов до закрытия цервикального канала при хроническом эндометрите приводит к 100%-ному выздоровлению коров при индексе осеменения 1,2.

6. Убой свиней после подкожного применения энтрикима возможен не ранее, чем через 4 суток, убой телят после внутримышечного введения - через 6 суток, реализация молока коров возможна не ранее чем через 36 часов.

7. Экономическая эффективность лечения поросят энтрикимом составляет 18,3 руб., телят - 24,11 руб., ягнят и козлят - 24,45 руб. на 1 руб. затрат.

Практические предложения

Научно-обоснованная разработанная аддитивная терапия сельскохозяйственных животных, с применением энтрикима может быть использована при микоплазмозах молодняка.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Настоящее клинико-экспериментальное исследование микоплазмоза сельскохозяйственных животных показало, что его течение осложняется целым рядом других патогенных бактерий, что затрудняет проведение лечения. Необходимо проводить дальнейшие изыскания по поиску оптимальной аддитивной терапии, направленной на эффективное воздействие на стрептококки, пастереллы, актиномицеты и сальмонеллы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК
Минобрнауки России:

1. Терапевтическая эффективность энтрикима при микоплазмозе телят / **М.М. Лигидова**, М.И. Калабеков, А.А. Гусев, Л.П. Падило // Научная жизнь. – 2020. – Т. 15, № 11(111). – С. 1534-1543.

2. Терапевтическая эффективность энтрикима при энзоотической пневмонии свиней / **М.М. Лигидова**, Л.П. Падило, А.А. Гусев, В. А. Агольцов // Научная жизнь. – 2020. – Т. 15, № 9(109). – С. 1260-1269.

3. Диагностика и адитивная терапия микоплазмоза мелкого рогатого скота / В.А. Агольцов, **М.М. Лигидова**, Л.П. Падило, М.И. Калабеков // Научная жизнь. – 2023. – Т. 18, № 1(127). – С. 162-173.

4. ПЦР-диагностика с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени для быстрого обнаружения *Mycoplasma hyopneumoniae* в ассоциации с *Streptococcus pneumoniae* у свиней / Е.А. Толстова, **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов О.Ю. Черных, Л.П. Падило, О.М. Попова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 254, № 2. – С. 264-272.

5. Оценка эффективности препаратов различных производителей для лечения коров при хроническом эндометрите / **М.М. Лигидова**, А.М. Семиволос, В.А. Агольцов., С.А. Семиволос // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. –2023. – Т. 254, № 2. – С. 242-246.

6. Исследования по разработке оптимальных доз и курсов проведения адитивной терапии сельскохозяйственных животных при микоплазмозах / **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов, Л.П. Падило, О.М. Попова // Научная жизнь. – 2023. – Т. 18, № 2(128). – С. 317-325.

7. Экономическая эффективность энтрикима при проведении лечения сельскохозяйственных животных, больных микоплазмозом / В. А. Агольцов, **М. М. Лигидова**, Л.П. Падило, М.И. Калабеков // Научная жизнь. – 2023. – Т. 18, № 2(128). – С. 308-316.

Публикации в сборниках и материалах конференций:

8. Диагностика, терапия и специфическая профилактика стрептококкоза свиней, осложненного пастереллезом и микоплазмозом / Е. А. Толстова, **М.М. Лигидова**, Л.П. Падило, А.М. Семиволос, В.А. Агольцов // Аграрный научный журнал. – 2022. – № 1. – С. 71-75.

9. Изучение фармакокинетики действующих веществ препарата «Энтриким» при применении его животным / **М.М. Лигидова**, Е. А. Толстова, А.М. Семиволос, В.А. Агольцов, М.П. Мариничева / Аграрный научный журнал. – 2022. –№ 8. – С. 47–49

10. Эффективность и безопасность лекарственных препаратов при лечении экспериментальных и спонтанных микоплазменных инфекций / В.А. Агольцов, Л.П. Падило, О.П. Бирюкова, **М.М. Лигидова** // Ветеринария сегодня. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 169-175.

11. **Лигидова, М.М.** Исследования по разработке оптимальных доз и курсов проведения адитивной терапии поросят при энзоотической пневмонии / **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов // Мат. Конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2022 год Саратов 2023. – С. 25-28.

12. **Лигидова, М.М.** Эпизоотологические и клинические исследования микоплазмоза молодняка крупного и мелкого рогатого скота / **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК региона: Материалы VII Всер. науч.-практ. конф. студентов, магистров, аспирантов и молодых ученых. – Махачкала, 2023. – С. 322-327.

13. **Лигидова, М.М.** Исследования по разработке оптимальных доз и курсов проведения адитивной терапии молодняка мелкого и крупного рогатого скота при микоплазмозах / **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов // Наука и образование. – 2023. – Т. 6, №2. – С. 125-128.

14. **Лигидова, М.М.** Изучение фармакокинетики энрофлоксацина / **М.М. Лигидова**, В.А. Агольцов // Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных: Материалы межд. науч.- практ. конф. – Саратов, 2023. – С. 123-125.