

*На правах рукописи*

**Масимов Эдуард Нусратович**

**ПРИМЕНЕНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ ИММУННОГО  
СТАТУСА СОБАК ПРИ КОЖНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

**03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)**

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискания ученой степени кандидата биологических наук**

Щелково – 2011

Работа выполнена в отделе иммунологии Всероссийского исследовательского и технологического института биологической промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук  
**Матвеева Ирина Николаевна**

**Научный консультант:**

доктор биологических наук  
**Сургучева Лилия Михайловна**

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук  
**Скотникова Татьяна Анатольевна;**  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор ветеринарных наук, профессор  
**Гаврилов Владимир Андреевич**

**Ведущая организация:**

Санкт-Петербургская государственная  
академия ветеринарной медицины

Защита состоится 25 ноября 2011 года в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 006.069.01 при ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» РАСХН по адресу: 141142, Московская область, Щелковский район, п/о Кашинцево, пос. Биокомбината, д. 17, ВНИТИБП.

E-mail: [vnitbp@mail.ru](mailto:vnitbp@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Россельхозакадемии.

Автореферат разослан 24 октября 2011 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Ю.Д. Фролов

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Несмотря на интенсивное развитие ветеринарной медицины мелких домашних животных, кожная патология собак остается самой распространенной и сложной в диагностике проблемой. По данным многих исследователей (М.Ю.Лопатина (2004), С.И.Лебедев (2004), Н.И.Левяшова (2009), Т.В.Новикова и др.(2010), J.S.Mason (1998), D.N.Carlotti (2003) в настоящее время более 25% случаев обращений владельцев собак к ветеринарным специалистам связано с заболеванием кожи и ее состояние во многих случаях является показателем общего здоровья животного.

Кожа обеспечивает барьерную функцию, препятствует потере воды, электролитов и механически защищает организм животного от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Кроме того, кожный покров отвечает за температурную регуляцию, синтез и накопление витамина D, жиров, углеводов и белков. Поверхность кожи обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами. Причинами заболеваний кожного покрова собак могут быть различные травмы, бактерии, грибки, вирусы и эктопаразиты. Анализ многочисленных литературных источников свидетельствует о важной роли иммунологических нарушений в механизмах возникновения и развития кожных патологий у животных (Ю.Н.Федоров (2000), И.М. Донник (2000), Н.В.Монов (2002), В.А.Черешнев и др. (2003), Ю.Н.Федоров (2008), М.Ю.Лопатина (2004) и др.).

По мнению С.А.Griffin, К.В.Kwochka (1993), Е.С. Кузнецовой и др.(2002) многие кожные болезни вызываются банальной микрофлорой (бактериями и грибами), которые являются постоянными обитателями кожи, а их повышенная колонизация приводит к хронизации инфекционного процесса, что связано с иммунодефицитным состоянием организма. Аналогические данные изложены в научных статьях И.И.Вершинина и др. (2003), Ю.Н.Федоров (2000), М.А.Медведева (2003) и др. Авторы указывают, что демодекоз собак относится к наиболее часто встречаемым и трудно поддающимся лечению заболеваниям, так как инвазионный процесс всегда сопровождается иммунологической недостаточностью организма.

Детальное изучение иммунологических показателей собак, страдающими различными кожными патологиями, позволяет ввести коррекцию в стратегию лечения с помощью иммуномодулирующих препаратов. С начала XXI века в ветеринарной практике успешно применяются цитокины и интерлейкины при различных патологиях сельскохозяйственных и мелких домашних животных. Одним из производных цитокина и интерлейкина является ронколейкин. В доступной литературе мы не нашли применения данного препарата при кожных патологиях животных.

Приведенные выше обстоятельства и определили *актуальность и направления* настоящей работы.

**Цели и задачи исследований.** Целью исследований являлось изучение гематологических и иммунологических показателей при кожных болезнях различного генеза и определение эффективности ронколейкина для коррекции иммунного статуса животных. Для реализации указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить клинический, гематологический и иммунный статус у собак различного возраста и породы, при кожных патологиях различного генеза.
2. Определить диагностический алгоритм кожных болезней и их место в структуре патологии у собак.
3. Изучить динамику гематологических и иммунологических показателей больных собак при применении ронколейкина в качестве иммуностимулирующего средства.
4. Определить терапевтическую эффективность ронколейкина при заболеваниях кожи различного генеза у собак.

5. Разработать рекомендации по коррекции иммунного статуса у собак с заболеваниями кожи различного генеза.

**Научная новизна.** В результате проведенной работы:

- комплексно изучены этиопатогенетические аспекты кожных патологий собак, обусловленных бактериями, патогенными грибами и клещами рода *Demodex*;
- определены параметры гематологических и иммунологических показателей собак при пиодермиях, дематофитозах и демодекозах;
- установлено, что болезни кожи собак различного генеза всегда сопровождаются значительными изменениями в морфологическом, биохимическом и иммунологическом составе крови и сыворотки крови;
- впервые на основе клинических, бактериологических, микологических, арахнологических, гематологических и иммунологических исследований обоснована целесообразность применения препарата ронколейкина в комплексе терапии собак при пиодермиях, дерматофитозах и демодекозах для коррекции иммунного статуса организма.

**Практическая значимость работы.** Результаты гематологических и иммунологических исследований используются при диагностике и оказании лечебной помощи больным с кожной патологией собак.

Применение ронколейкина у собак с кожными заболеваниями различного генеза, сопровождающимися вторичными иммунодефицитными состояниями, повышает эффективность терапии и значительно сокращает сроки выздоровления.

Результаты исследований используются в учебном процессе при чтении лекций и проведения практических занятий на кафедрах эпизоотологии и инфекционных болезней и паразитологии и инвазионных болезней животных для студентов факультета ветеринарной медицины и ветеринарным врачам клиник на факультете повышения квалификации в МГАВМиБ.

Разработаны методические положения по определению иммунного статуса животных, утверждены академик-секретарем отделения ветеринарной медицины РАСХН 01.06.2011г. Разработаны «Методические рекомендации по применению препарата в комплексной терапии собак при кожных патологиях. Рекомендации утверждены директором ВНИТИПБ 27 сентября 2011г.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Клинический, иммунологический и гематологический статус собак, при кожных патологиях различного генеза.
2. Динамика гематологических и иммунологических показателей больных собак при применении ронколейкина в качестве иммунокорректирующего средства.
3. Терапевтическая эффективность ронколейкина при заболеваниях кожи собак различного генеза.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы отражены в итоговых отчетах ГНУ ВНИИТБП за 2010-2011гг. Материалы доложены и обсуждены на заседаниях ученого совета ГНУ ВНИИТБП (2010-2011гг), а также на конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины домашних животных», посвященной 100-летию со дня рождения бывшего ректора Казанской академии ветеринарной медицины профессора Х.Г.Гизатуллина, 26 ноября 2010г. (Казань,2010), на Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарии и животноводства», Самара, 2010, на Международной научно-практической конференции «Задачи ветеринарной науки в реализации докторины продовольственной безопасности Российской Федерации» 16-17марта 2011г. (Покров,2011г.), на конференции молодых ученых Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии (27апреля 2011г.) г. Москва.

**Публикации результатов исследований.** По материалам диссертации в трудах, сборниках и материалах научной конференции опубликовано 6 печатных работ, в том числе 2 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста и включает: Общая характеристика работы, обзор литературы, собственные исследования, обсуждения полученных результатов, выводы, практические предложения, список используемой литературы, включающего 169 источников, в том числе 75 иностранных, приложения. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 8 рисунками.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы**

Диссертационная работа выполнена в период 2009-2011 годы в отделе иммунологии Всероссийского научно-исследовательского и технологического института биологической промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук.

Для выполнения поставленных задач были выбраны клинические, бактериологические, микологические, арахнологические, гематологические и иммунологические методы исследования.

Особое внимание уделяли наличию признаков зуда, его интенсивность, время появления и характер экссудатов, наличие местной температуры. Всего клинически обследовано 2785 собак различных пород и возраста.

Бактериологическому исследованию подвергнут патологический материал от 328 собак, имевших характерные клинические признаки пиодермии. С целью подтверждения дерматофитозов при помощи люминесцентных ламп ПРК-4 и ОЛД-41 подвергнуты исследованиям 246 проб волос и корочек, взятых с мест поражений. Арахнологическим исследованиям подвергались 246 соскобов из пораженных участков кожи. Гематологически исследовано 286 проб крови, взятых от больных собак в начале болезни, в период курса лечения и по выздоровлению.

Определение иммуноглобулинов в сыворотке крови проводили методом осаждения сульфатом цинка (В.М.Холод, Г.Ф.Ермолаев, 1988). Бактерицидную активность сыворотки крови определяли фотоэлектроколориметрическим методом по Смирновой О.В., Кузьминой Т.А. (1979). Лизоцимную активность сыворотки крови определяли фотоэлектроколориметрическим методом по Дорофейгуку А.Г. (1968). Циркулирующие иммунные комплексы определяли методом преципитации с 3,5% раствором полиэтиленгликоля. Определение фагоцитарной активности гранулоцитов исследовали методом Колабской Л.С. (1987), с использованием агаровой тест-культуры *Staphilococcus aureus* и с использованием краски Романовского-Гимза.

Эффективность ронколейкина изучали в комплексе терапии собак, имевших клинические признаки кожных поражений. Препарат назначался в дозировке 10 000 МЕ/кг, для подкожного введения, через каждые сутки, в количестве 3-х инъекций. Помимо ронколейкина были применены средства лечения собак, различных кожных патологий.

Полученные цифровые данные подвергали статистической обработке с использованием стандартных прикладных программ, определяли средние величины (М) и критерий достоверности Стьюдента (И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев, 1963).

### **2.2. Результаты бактериологических и клинических исследований собак при пиодермиях**

Болезни кожи, вызываемые бактериями, принято называть пиодермиями. С целью определения видового состава бактерий с пораженных участков кожи собак брали

биологический материал (корочки экссудата, волосы) и отправляли в ветеринарную лабораторию. Всего бактериологически исследовано 328 проб соскобов из пораженных участков кожи. Результаты исследований приведены в таблице 1, из которой видно, что 63% случаев были выделены *Staphilococcus aureus*, в 34%- *St.saprophyticus*, в 19%- *Streptococcus puogenes*, в 16%- *Echerichia coli*, в 15% - *Pseudomonas aeruginosa* и в 9% случаев *Proteus Vulgaris*. Таким образом, из патологического материала изолировались различные бактерии (стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, синегнойная палочка, протей) во всех случаях в различных ассоциациях.

Таблица 1.

Результаты бактериологических исследований при пиодермитах собак.

<i>№ п/п</i>	<i>Породы собак</i>	<i>Колич.исслед.проб</i>	<i>Виды выделенных бактерий (%от исследованных проб)</i>
1.	Немецкая овчарка	64	1. <i>Staphilococcus auteus</i> -63%
2.	Ротвейлер	23	2. <i>St.epidermaticus</i> -34%
3.	Такса (жесткошерстая)	14	3. <i>St. saprophyticus</i> -27%
4.	Американский стаффордский терьер	20	4. <i>Streptococcus puogenes</i> -19%
5.	Пудель (малый)	40	5. <i>Echerichia coli</i> -16%
6.	Дог (немецкий)	11	6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -15%
7.	Пекинес	7	7. <i>Proteus vulgaris</i> -9%
8.	Шарпей	8	
9.	Собаки других пород и беспородные	57	

Результаты проведенных исследований показали, что поверхностные и глубокие пиодермии кожного покрова собак имеют широкое распространение, в развитии их этиопатогенеза участвуют различные микроорганизмы, в том числе патогенные стафилококки, а также факторы внешней и внутренней среды.

Пиодермию можно классифицировать в соответствии с клинической картиной и глубиной поражения дермы. В зависимости от этого при клиническом обследовании больных собак различали поверхностную, неглубокую и глубокую пиодермию.

У собак до одного года в основном регистрировали поверхностную пиодермию, для которой характерными признаками являлись поражения верхних слоев эпидермальной ткани и, как следствие, неглубокие эрозии, напластования грануляции, небольшие экссудативные процессы и периодический зуд. Пораженные области часто были болезненными. Различали две разновидности неглубокой пиодермии. У щенков наблюдали быстро развивающиеся поражения кожи в области паха, подгрудка, шеи и хвоста. В литературе такая пиодермия получила название «влажная экзема» или «мокнущий дерматит» или «летняя экзема», так как ее проявлению способствовала жаркая и влажная погода. Нередко к подобной пиодермии приводили небольшие травмы кожи и аллергия к блохам.

Генерализованная форма глубокой пиодермии была установлена у 17 собак старше 7 лет. При этом заболевание кожи сопровождалось фурункулезом, изъязвлением, увеличением региональных лимфатических узлов, обильным экссудативным процессом, интенсивным зудом и расчесами.

### 2.3. Результаты микологических и клинических исследований собак при дерматофитозах

При анализе статистических данных и собственных наблюдений установлено, что у более 20% собак различных пород и возрастных групп с кожной патологией регистрируются поверхностные микозы, основными возбудителями которых являются *Microsporum canis* и *Trichopyton mentagrophytes*.

Всего микологическим исследованиям подвергались 557 собак и 183 пробы волос с корочками, взятых с пораженными участками кожи (таблица 2).

Таблица 2.

Результаты люминесцентного метода исследований.

Объект исследования	Всего	Обнаружено свечение		Не обнаружено свечение	
		Всего	%	Всего	%
Собаки, пораженные участки кожи	557	226	40,8	331	59,2
Патматериал из пораженных участков кожи	183	64	35,0	119	65,0
Всего	740	280	37,8	440	62,2

При положительном результате люминесцентного метода исследования обнаружено ярко зеленоватое, точечное отсвечивание, что составило более 40% от 557 исследованных животных. Из 183 проб волос с корочками такое отсвечивание обнаружено в 64 случаях (35%).

Клинические признаки трихофитии больных собак характеризовались в основном образованием толстых корочек в области полости шей, головы, конечностей. Наблюдалось преимущественно фолликулярная форма, с резко выраженной воспалительной реакцией, экссудативными проявлениями. При микроспорозе поверхностная форма болезни характеризовалась обламыванием и выпадением волос, образованием безволосых и шелушащихся пятен округлой формы.

Таким образом, как видно из вышеприведенных данных дерматомикозы занимают важное место в кожной патологии собак. Нужно отметить, что так называемый «стригущий лишай», как зооантропоноз, представляет серьезную опасность для людей.

### 2.4. Результаты арахнологических исследований собак, имевших признаки поражения кожного покрова

В последние годы в ветеринарной медицине специалистами все чаще приходится сталкиваться с проблемами кожной патологии собак, вызванными эктопаразитами – клещами, блохами, власоедами и вшами. Наиболее часто встречаемыми заболеваниями по нашим наблюдениям является демодекоз, вызываемый подкожными клещом *Demodex canis*. При клиническом осмотре и микроскопии соскобов из пораженных участков кожи 65 случаев из 273 исследованных собак был установлен диагноз демодекоз (таблица 3). При клиническом осмотре у больных собак в основном отмечали локализованную форму демодекоза. Вначале болезни наблюдали аллопецию, шелушения кожи, зуд в области пораженных участков. Затем образовывались облысевшие участки кожи, покрытые мелкими чешуйками ороговевшего эпидермиса серого цвета, которые легко снимаются пинцетом. В дальнейшем на месте пораженных участков появлялись папулы – сыпь, в виде возвышенного на коже безполостного образования.

Таблица 3.

## Результаты микроскопии соскобов различных пород собак на демодекоз

№ п/п	Породы собак	Количество исследованных проб	Обнаружено Demodex canis	%
1	Английский бульдог	19	7	2,6
2	Бассет	14	3	1,1
3	Боксер	26	11	4,0
4	Колли	6	1	0,4
5	Мастино	9	3	1,1
6	Мопс	4	1	0,4
7	Немецкий дог	7	2	0,8
8	Немецкая овчарка	77	14	5,1
9	Такса	28	4	1,4
10	Сеттер	15	3	1,1
11	Беспородные собаки	68	16	8,5
	Всего	273	65	23,8

У 4 собак из 65 больных демодекозом нами установлена генерализованная форма болезни. При этом отмечали эрозийно-язвенные поражения кожи с участками, покрытыми грязно-желтыми струпами, появлениями сильного зуда и аллопеции.

### 2.5. Результаты гематологических и иммунологических исследований собак при пиодермиях

Для проведения гематологических и иммунологических исследований нами были отобраны 25 собак с поверхностной и 17 собак с глубокой пиодермией. Морфологические показатели крови собак при поверхностной и глубокой пиодермиях приведены в таблице 4. Установлено, что у собак с поверхностными и глубокими пиодермиями количество эритроцитов уменьшалось на 1 и 1,5 млн/мкл соответственно, по сравнению с показателями клинически здоровых собак. Отмечается также снижение гемоглобина более чем на 15% по сравнению со значением данного показателя у клинически здоровых животных (140,9 г/л).

Таблица 4.

## Морфологические показатели крови собак при поверхностных и глубоких пиодермиях

№ п/п	Показатели	Единицы измерения	Клинически здоровые собаки	Пиодермии	
				Поверхностная	Глубокая
1	Эритроциты	млк/мкл	6,55±0,19	5,45±0,24	5,06±0,1
2	Гемоглобин	г/л	140,9±3,37	104,69	102,0±0,18
3	Лейкоциты	тыс/мкл	8,70±0,20	8,03±0,88	7,43±0,64
4	Эозинофилы	%	5,92±0,46	4,24±0,7	4,15±0,49
5	Базофилы	%	0	0	0
6	Нейтрофилы п/я	%	2,55±0,48	4,16±0,07	5,05±0,51
7	Нейтрофилы с/я	%	55,61±0,18	62,18±0,2	66,3±0,25
8	Моноциты	%	3,36±0,18	3,37±0,4	4,04±0,11
9	Лимфоциты	%	30,06±0,58	21,4±0,63	20,09±0,13

У больных собак уменьшилось общее количество лейкоцитов на 5 и 14% соответственно при поверхностной и глубокой пиодермиях. В лейкоцитарной формуле отмечено уменьшение количества эозинофилов - 4,24 при поверхностной и 4,15 при глубокой пиодермиях. Относительно резкие изменения претерпевают процентное соотношение сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. Если количество первых увеличилось на 10-12%, то вторых уменьшилось настолько же, что характерно для острых воспалительных процессов.

Результаты иммунологического анализа крови собак, больных поверхностной и глубокой пиодермиях приведены в таблице 5, из которой видно что, почти все иммунологические показатели крови снижаются. Так, уровень IgA снизилась при поверхностной пиодермии до 1,2 г/л, а при глубоких составляла 1,3, при норме 2,4г/л, а уровень IgG - 6,0г/л при поверхностной и 5,7г/л при глубокой пиодермии, при норме 6,2 соответственно.

Таблица 5.

Иммунологические показатели крови собак при поверхностной и глубокой пиодермиях

№ п/п	Показатели	Ед. измерения	Клинически здоровые собаки	Пиодермии	
				Поверхностная	Глубокая
1	Ig A	г/л	2,4±0,11	1,2±0,18	1,3±0,42
2	Ig M	г/л	0,96±0,14	1,1±0,24	0,86±0,54
3	Ig G	г/л	6,2±0,98	6,0±0,91	5,7±0,72
4	Лизоцимная активность	%	11±0,92	10±2,25	9±1,26
5	Бактериальная активность	% лизиса E.coli	66,4±0,56	46,4±0,56	46,6±0,44
6	Циркулирующие иммунные компоненты	у.е.	22,4±1,2	18±0,62	18,2±0,66
7	Фагоцитарная активность	%	28,8±2,6	26,4±1,12	23,4±0,66
8	Фагоцитарное число	у.е	1,47±0,14	1,22±0,42	1,12±0,35
9	Фагоцитарный индекс	у.е	4,86±0,6	3,5±0,3	3,4±0,08

Снизилась также такие важные показатели иммунного статуса организма лизоцимная, бактериальная и фагоцитарная активности крови, примерна на 10 и 20 % при поверхностной и глубоких пиодермиях соответственно.

Таким образом, обобщая полученные нами результатов, иммунологических показателей, можно заключить, что у собак больных поверхностной и особенно глубокой пиодермией имеет место иммунодефицитное состояние.

## **2.6. Результаты гематологических и иммунологических исследований при дерматомикозах**

Для проведения гематологических и иммунологических исследований нами были отобраны 33 собак с установленными диагнозом микроспория (23 головы) и трихофития (10 голов). Возраст собак колебались от 1 до 3 лет.

Морфологическая картина крови собак при дерматомикозах резким изменениям не подвергается, за исключением уменьшения количества лимфоцитов на 7,3%, что предполагает иммунодефицитное состояние организма. Значимым фактором является увеличение количества нейтрофилов. Результаты иммунологических исследований проб

крови собак, больных дерматомикозами представлены в таблице 6. При анализе данных таблицы статистически достоверных разниц между иммунологическими показателями крови собак, больных трихофитией и микроспорией и клинически здоровыми животными не установлены, что предполагает иммуносупрессивное состояние организма.

Таблица 6

Иммунологические показатели крови собак при микроспории и трихофитии

Показатели	Ед. измерения	Клинически здоровые собаки	Дерматомикозы	
			Микроспория	Трихофития
Ig A	г/л	2,4±0,11	2,6±0,14	2,3±0,42
Ig M	г/л	0,96±0,14	0,89±0,12	0,91±0,63
Ig G	г/л	6,2±0,98	5,1±0,66	6,4±0,14
Лизоцимная активность	%	11±0,92	14,3±0,37	11,6±0,12
Бактериальная активность	% лизиса E.coli	66,4±0,56	67,09±0,36	64,2±0,44
Циркулирующие иммунные компоненты	у.е.	22,4±1,2	20,15±0,43	21,9±0,83
Фагоцитарная активность	%	28,8±2,6	32,8±4,89	32,3±1,2
Фагоцитарное число	у.е	1,47±0,14	1,56±0,33	2,1±0,4
Фагоцитарный индекс	у.е	4,86±0,6	4,87	4,66±0,3

**2.7. Результаты иммунологических исследований при демодекозе собак**

У больных локализованной формой демодекоза уровень IgG 33,73 мг/мл, что на 1,08% больше, а при генерализованной форме составляет 25,0 мг/мл, что на 8% ниже чем показателей клинически здоровых животных.

Средний уровень IgM при локализованной форме демодекоза на 7% ниже, а при генерализованной форме 6,8%. Уровень IgA была ниже на 5,68% при локализованной форме и на 26,4 при генерализованной форме демодекоза. Таким образом при генерализованной форме демодекоза у собак происходит нарушение иммунорегуляторных механизмов, приводящих к развитию селективной иммуносупрессии, обуславливающей низкий уровень IgM и IgA в сыворотке крови. В тоже время, повышение концентрации IgG напрямую связано с гуморальным иммунным ответом организма на воздействие антигенов клеща. А при более «легкой» форме проявления болезни (локализованная форма демодекоза) уровень всех классов иммуноглобулинов снижаются, что приводит к иммунодефицитному состоянию организма.

**2.8. Влияние ронколейкина на гематологические и иммунологические показатели собак при пиодермиях**

Для определения лечебной эффективности ронколейкина при пиодермии собак и влияние его на гематологические и иммунологические показатели крови, было сформировано 4 группы животных.

1 группа – 20 больных поверхностной формой пиодермии. Лечебная помощь больным была оказана с применением антисептических препаратов (3%-ный раствор перекиси водорода, 0,05%-ный раствор хлоргексидин), наложением антибактериальных мазей (линкомициновая, эритромициновая) и комплексного препарата «Тридерм». 2 группа - 30 больных собак с поверхностной формой пиодермии, для лечения которых кроме выше указанных лекарственных препаратов назначали раствор ронколейкина 3 инъекции через

24 часа, подкожно. 3 группа - 6 больных собак с диагнозом глубокая пиодермия. Лечебные процедуры осуществляли так же, как животным 1 группы. 4 группа - 7 больных с диагнозом глубокая пиодермия, лечение которых осуществляли так же, во 2 группе.

Клиническими исследованиями установлено, что у собак 1 групп и 3 группы процесс заживления поражённых участков кожи в основном протекало медленнее, чем у больных 2 и 4 групп. Хотя признаки зуда, расчёсов и экссудации у животных всех групп постепенно ослаблялись и к концу курса лечения практически исчезли. У 2-х животных из 20 1 группы и 3-х 3 группы и 1-го животного 4 группы через 20 дней (по окончании курса лечения) была установлена незначительная экссудация серозного характера. Морфологическая картина крови у животных опытных групп после курса лечения значительно улучшилась. В частности, увеличились количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов, а в лейкоцитарной формуле лимфоцитов. Однако при сравнительном анализе данных по опытным группам имеют существенные различия. Так животным, которым лечебная помощь оказана с применением ронколейкина (2 и 4 группы) практически вышеуказанные показатели крови на порядок выше, чем у животных 1 и 3 группы.

Наиболее статистически достоверным изменениям претерпевала уровень общего белка во всех опытных группах. Так, если у животных 1 и 3 групп, подвергнутых лечению без применения ронколейкина, снизилась на 8 и 15% соответственно, то 2 и 4 группах на 20 и 25%, что предполагает о положительном влиянии данного препарата на протеиновый обмен в организме. Проследивая динамику уровней IgA, отмечено что в 1 группе происходит его увеличение в 2 раза, во 2 группе 2,5 раза, в 3 – 1,4 и 4 в 2,5 раза. Аналогичные данные получены и по IgG.

Уровень циркулирующих иммунных комплексов в 1 группе составляла 18,0 у.е, во 2 – 19,3, в 3 - 20,0 и в 4 – 21,8, при норме 22,4 у.е., что так же свидетельствует о положительном влиянии ронколейкина на иммунную систему организма больных пиодермией собак.

Анализируя показатели неспецифической резистентности, нами выявлено, что в 1 и 3 группах лизоцимная активность была значительно ниже 10% и 9,0% соответственно, чем у животных 2 и 4 групп (13,4 и 12,6% лизиса), где при лечении больных пиодермией собак, кроме антисептических, антибактериальных препаратов, применяли ронколейкин. Аналогичские результаты были получены при расчете бактериальной и фагоцитарной активности. Так в 1 группе бактериальная активность до лечения составляла 46,4 % лизиса *E.coli*, после курса лечения 55,2, во 2 группе – 46,4 и 65,4, в 3ей - 46,6 и 60,5. Этот показатель у клинически здоровых животных был равен 66,4 % лизиса *E.coli*. Фагоцитарная активность нейтрофилов в 2 и 4 группах была значительно выше (в среднем 7%) чем, в 1 и 3 группах.

Клиническое обследование животных показало, что при применении ронколейкина (2 и 4 группы) у 90% животных с поверхностной пиодермией и 77% с глубокой, наблюдалось более интенсивное заживление поражённых участков кожного покрова, чем у животных 1 и 3 групп.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективности препарата ронколейкина в комплексной терапии собак больных пиодермией.

## **2.9. Влияние ронколейкина на гематологические и иммунологические показатели собак, больных дерматофитозом**

С целью определения лечебной эффективности ронколейкина в комплексной терапии и влияния его на гематологические и иммунологические показатели собак при дерматомикозах были сформулированы 2 группы больных животных по 26 голов в каждой. В первой группе лечения больных животных проводили противогрибковыми препаратами (миконам, вакдерм, микосал, нитрофунгин, бакмикосептин), а во второй – кроме указанных препаратов использовали ронколейкин схеме, как при пиодермиях собак.

Из результатов опыта следует, что у 17 из 26 больных животных первой группы без обострения клинических признаков дерматофитоза в течение 10-12ти дней с начала курса лечения отмечали заживление поражённых очагов кожи, рост новых волос, отсутствие новых дерматофитозных очагов и нормализации гематологических и иммунологических показателей (таблица 8). Однако у 9 больных собак заживление поражённых участков происходило медленно (в среднем на 7-15 дней больше) и у них же на коже были обнаружены скрытые дерматофитозные очаги. Средняя продолжительность выздоровления больных собак по этой группе составляла 23 дня.

Во второй группе, где для лечения собак, кроме препаратов назначенных животным первой группы, применяли ронколейкин отмечены следующие клинические, иммуногематологические изменения: у 23-х из 26-ти больных собак на 7-8 дней после начала курса лечения произошли заживления очагов поражения кожи, рост новых волос и отсутствие появления новых очагов инфекции; у 3-х больных животных клинические признаки болезни постепенно исчезали на 12-15 дней после начала курса лечения; морфологический состав крови характеризовался увеличением общего количества лейкоцитов на 7% и лимфоцитов на 16,8%; при биохимическом исследовании отмечено уменьшении общего белка до уровня этого показателя у клинически здоровых собак 64,7 г/л; из иммунологически показателей наиболее статистически достоверными были уровень гаммаглобулинов класса G, которая составила 6,7 г/л(+0,34),это даже больше на 0,5 г/л, чем у клинически здоровых животных; средняя продолжительность выздоровления собак составила 18 дней.

Таблица 7

Основные гематологические и иммунологические показатели собак, больных дерматомикозами (до и после лечения), (M±m(n=0,7))

Показатели	Клинически здоровых животных	1 группа лечения без ронколейкина	2 группа лечения с применением ронколейкина
Эритроциты (млн/мкл)	6,55	6,43	6,67
Лейкоциты (МНС/мкл)	8,70	7,94	8,84
Лимфоциты (%)	30,06	22,1	30,20
Общий белок (г/л)	64,6	62,8	64,7
Ig A (г/л)	2,4	2,3	2,6
Ig G (г/л)	6,2	5,5	6,7
Лизоцимная Активность (% лизиса)	11,62	12,7	13,2
Бактериальная активность (% лизиса E.coli)	66,4	64,2	65,8
Циркулирующие иммунные комплексы (у.е.)	22,4	21,8	25,6
Фагоцитарная активность (%)	28,8	32,9	32,4

Отмечено также незначительное увеличение уровня IgA (на 0,2 г/л) по сравнению этого показателя у клинически здоровых животных (таблица 7).

Необходимо отметить, что показатели неспецифической резистентности (лизоцимная, бактериальная и фагоцитарная активность) у больных собак и первой и второй группы особых изменений не претерпевали до и после оказания им лечебной помощи.

## **2.10. Влияние ронколейкина на гематологические и иммунологические показатели собак, больных демодекозом**

С целью изучения лечебной эффективности ронколейкина в комплексе терапии больных демодекозом собак и влияния его на иммуно-гематологические показатели, нами было проанализированы результаты лечения 20 собак с локализованной и 13 с генерализованной формой. Контролем служила группа больных животных в количестве 16 голов, которым были назначены только антипаразитарные препараты. За животными всех опытных групп проводили ежедневные наблюдения в течение 30 дней, а до и после курса лечения брали кровь для гематологических и гистологических исследований. На 10-й и 25 дни с начала лечения брали пробы соскобов кожи для арахнологических исследований. Больным собакам всех групп в качестве акарацидного препарата назначали ивермек, ивермек-гель, отодектин и баймек. Животным 2 группы, кроме антипаразитарных препаратов назначали мазь левомеколь.

Клиническими исследованиями установлено, что у 20-ти животных с диагнозом локализованная форма демодекоза на 10-20 дни после начала курса лечения поражённые участки кожи полностью исчезали, постепенно уменьшались и затем отсутствовали экссудация, расчёсы и зуды, на месте очагов поражения появились волосы. Средняя продолжительность полного выздоровления равнялась 18 дням. При контрольных арахнологических исследованиях соскобов, взятых из бывших поражённых участков кожи клещей *Demodex* не были обнаружены.

Во второй опытной группе собак (диагноз генерализованная форма демодекоза) заживления поражённых участков кожи происходило вяло, медленно снижались и признаки расчёса и экссудации. У 3-х собак из 13 до конца курса лечения эти признаки так и не исчезали. У остальных полное выздоровление было зарегистрировано на 30-35 дни после начала курса лечения. При контрольных исследованиях соскобов кожи на 10-й день, клещи были обнаружены в 3-х пробах, а на 25 день только в одном случае. Продолжительность полного выздоровления 10 собак этой группы составила 32 дня.

В контрольной группе (3 группа) где 16 больным демодекозом (из них 12 локализованной и 4 генерализованной формой) как отмечено выше, лечебная помощь была оказана только с использованием антипаразитарных препаратов, отмечено следующее: у животных локализованной формой поражённые участки кожи полностью разрослись волоски при отсутствии расчёсов, экссудации, корочек и клещей. На 22-28 дни: у животных с генерализованной формой признаки поражения кожи в том числе расчёсы, корочки и экссудация продолжались (хотя по интенсивности значительно меньшей степени) в сроки наблюдения - 35 дней.

Результаты гематологических и иммунологических анализов до и после лечения собак, больных демодекозом представлены в таблице 9, из которой можно заключить: во всех опытных группах наблюдались увеличение (после курса лечения) лейкоцитов процентного соотношения лимфоцитов в лейкоформуле. Так же нормализовался уровень общего белка в крови. Так у животных 1 группы этот показатель до лечения был 76,4, 2ой группы – 79,8 и 3ей – 72,8 г\л, а после курса лечения снизилась до значения 66,8, 63,7. И 60,2 при норме 64,6 г\л; в 1 и 2 группах после лечения резко, на 24-40% увеличился уровень Ig A, Ig G и Ig M, что свидетельствует о положительном влиянии ронколейкина на иммунную систему организма больных демодекозом собак. В третьей группе, где лечение больных осуществлялись без применения ронколейкина, показатели иммуноглобулинов практически оказались на том же уровне, что и до лечения; отмечено увеличение циркулирующих иммунных комплексов в 1 и 2 группах после лечения на 7 и 12% соответственно и всего на 3% у животных третьей группы.

Таблица 8.

Основные гематологические и иммунологические показатели собак, больных демодекозом (до и после лечения)

Показатели	Клинически здоровых собак	1 группа. Локализованная форма демодекоза (с ронколейкином)		2 группа. Генерализованная форма демодекоза (с ронколейкином)		3 группа. Демодекоз. Лечение без ронколейкина	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Эритроциты(млн/мкл)	6,55	5,8	6,47	5,9	6,7	6,9	6,43
Лейкоциты (МНС/мкл)	8,70	6,5	7,76	12,2	9,18	10,0	9,5
Лимфоциты (%)	30,06	24,2	31,0	35	28	34	30
Общий белок (г/л)	64,6	76,4	66,8	79,8	63,7	72,8	60,2
Ig A (г/л)	2,5	1,42	2,3	0,66	2,6	0,78	1,2
Ig G (г/л)	31,26	33,73	31,8	25	30	26,8	28,4
Ig M (г/л)	3,74	2,28	4,2	2,5	3,6	2,83	3,0
Лизоцимная активность лизиса (%)	11,62	10,3	14,3	9,2	11,6	9,4	10,0
Бактериальная активность лизиса E.coli (%)	66,4	56,9	67,7	53,8	60,6	61,7	61,8
ЦИК (у.е.)	22,4	20,4	23,7	19,0	22,0	20,6	21,2
Фагоцитарная активность (%)	28,8	22,5	27,7	21,8	28,3	24,3	25,6

Таким образом, применение ронколейкина в комплексе с антипаразитарными препаратами локализованной и особенно генерализированной формах демодекоза собак, положительно влияет на клинико-гематологические и иммунологические показатели больных животных.

### 3. ВЫВОДЫ

1. При клиническом осмотре 328 собак с признаками поражения кожного покрова в 102 случаях установлена поверхностная, в 62 – локальная и в 17 случаях – генерализованная формы пиодермии. Типичными местами локализации кожных поражения - брюшная стенка, паховая область, у основания ушных раковин и внутри уха, спинки носа и между пальцами.
2. При бактериологических исследованиях соскобов кожи, взятых из пораженных очагов, были изолированы различные бактерии (стафилококки, стрептококки, кишечная и синегнойная палочки, протей) в чистых культурах и в различных ассоциациях. Ведущее место (более 70% случаев) в этих ассоциациях, судя по частоте выделения, занимали стафилококки.

3. В результате микологических исследований проб волос с корочками, взятых с пораженных участков кожи 483 собак, в 132 случаях установлена микроспория и в 163 – трихофития.

4. В результате клинических и арахноэнтомологических исследований соскобов кожи у 165 собак из 1264-х был установлен демодекоз, что составил 13%. Характерными признаками болезни являлись: аллопеция, зуд в области пораженных участков, облысевшие очаги, покрытые мелкими чешуйками, папулы и экссудативное воспаление с образованием пузырьков.

5. Гематологическими и иммунологическими исследованиями крови, взятых от больных пиодермией, установлены снижение общего количества эритроцитов на более чем 1 млн/мкл, уменьшение уровня гемоглобина на 15% и лейкоцитов в среднем на 10%. Отмечено также увеличение показателя общего белка – более 85 г/л при норме 40-73 г/л, что свидетельствует о высокой интенсивности и динамичности инфекционного процесса при пиодермиях. Установлено снижение уровня IgA на 1,2 г/л, лизоцимной, бактерицидной и фагоцитарной активности крови в среднем на 15%, что характерно для гнойных воспалительных процессов и иммунодефицитных состояний.

6. Статистически достоверных разниц между иммунологическими показателями крови собак, больных трихофитией и микроспорией и клинически здоровых животных не установлены, что предполагает иммуносупрессивное состояние организма.

7. При демодекозе в крови собак установлено снижение уровня гемоглобина на 17%, увеличение количества эозинофилов на 20% и лимфоцитов на 14% на фоне резко выраженного лейкоцитоза. Отмечено также динамическое повышение уровня общего белка в среднем на 20%, глюкозы – на 4%, билирубина и холестерина, что предполагает нарушения функциональной деятельности печени. Уровень иммуноглобулинов А и М в 2 раза ниже, чем у здоровых животных, а уровень IgG в пределах нормы или незначительно повышен, что характерно для иммуносупрессивных и иммунодефицитных состояний организма.

8. В условиях проведенных экспериментов установлено, что трёхкратное подкожное введение ронколейкина в дозе 10000 МЕ собакам способствует:

- у больных пиодермией в комплексе с антибактериальными препаратами повышению количества лимфоцитов и моноцитов, снижению уровня палочкоядерных нейтрофилов и общего белка, увеличению уровней IgA, IgC и циркулирующих иммунных комплексов, повышению лизоцимной, бактериальной и фагоцитарной активности крови, более интенсивному заживлению пораженных участков кожи и сокращению сроков выздоровления на 3-5 дней.

- у больных дерматофитозами в комплексе с противогрибковыми препаратами увеличению общего количества лейкоцитов на 7%, уменьшению содержания общего белка до уровня этого показателя у клинически здоровых животных, стабилизации уровня IgA и иммуноциркулирующих комплексов, более интенсивному заживлению очагов поражения кожи, росту новых волос и отсутствию новых очагов поражения, что свидетельствует об иммунокорректирующем свойстве ронколейкина.

- у больных демодекозом в комплексе с антипаразитарными препаратами увеличению количества лейкоцитов и стабилизации процентного соотношения лимфоцитов в лейкоформуле, снижению уровня общего белка на 17% и увеличению на 25-40% уровней иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов, что предполагает о положительном влиянии препарата на иммунную систему организма.

#### **4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Материалы научных исследований включены в методический разработку:

-методические положения по определению иммунного статуса животных, утверждена академик-секретарем отделения ветеринарной медицины РАСХН 01.06.2011г.  
- методические рекомендации по применению препарата ронколейкина в комплексной терапии собак при кожных патологиях разного генеза, утвержденных директором ВНИТИБП академиком РАСХН, профессором А.Я.Самуйленко 27 сентября 2011 года;  
- теоретические и практические результаты диссертации используются в учебном процессе при изучении студентами дисциплин «Эпизоотология и инфекционные болезни» и «Паразитология и инвазионные болезни животных» в МГАВМиБ;  
- метод лечения собак, больных пиодермией, дерматомикозами и демадекозом с использованием препаратов ронколейкина и гипохлорита натрия внедрен в практику ветеринарных клиник «Лебеди», «Оберег», и «Юниор» города Москвы.

### **5.Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. Масимов Э.Н. Эффективность ронколейкина в комплексной терапии собак при пиодермии /Масимов Э.Н.// «Ветеринария и кормление». – 2011, №3, с.-39-40
2. Масимов Э.Н. Эффективность препарата ронколейкин в комплексной терапии собак при демодекозе/Масимов Э.Н.// «Российский паразитологический журнал», №3, с. – 62-64
3. Масимов Э.Н. Анализ применения гипохлорита натрия и препарата ронколейкин при гнойных дерматитах собак/Масимов Э.Н.// Ветеринарная медицина домашних животных: Сборник статей. Выпуск 7, Казань, 2010, с.184-186
4. Федоров Ю.Н. Иммунодефициты собак: характеристика, диагностика, иммунокоррекция/Федоров Ю.Н., Клюкина В.И., Масимов Э.Н.//Актуальные проблемы ветеринарии и животноводства: Материалы Межрегиональной научно-практической конференции. – Самара, 2010. – с.321-331
5. Федоров Ю.Н. Алгоритмы в диагностике иммунодефицитов животных / Федоров Ю.Н., Клюкина В.И., Богомолова О.А., Масимов Э.Н. // Задачи ветеринарной науки в реализации доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации. Материалы международной научной научно-практической конференции 16-17 марта 2011г. – Покров, 2011. – С. 154-156.
6. Масимов Э.Н. Гематологические изменения при кожных патологиях собак/Масимов Э.Н.// Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии - Сборник научных трудов МГАВМиБ. – 2011, с.75-78