

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

На правах рукописи

ВУСАЛЯ ВАХИД КЫЗЫ САРДАРЛЫ

СТИМУЛЯЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ
ОРГАНИЗМА ЯГНЯТ ПРИ СТРЕПТОКОККОЗЕ

**3109.01 – ветеринарная микробиология, вирусология ,
эпизоотология, микотоксикология с микологией и
иммунология**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по ветеринарии**

БАКУ -2013

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии и паразитологии Азербайджанского Аграрного Университета.

Научный руководитель: **док .вет.н.,проф. Э. М. Агаева.**

Официальные оппоненты: **д.вет.н.,проф. Д. Г. Годердзишвили**
д.ф.вет. Ф.М.Кулибеков

Ведущая организация: **Аз.НИ Ветеринарный Институт,
лаборатория ветеринарных препаратов и
биохимия**

Защита состоится «_31_»_05_2013 в _____ часов на заседании FD 01.222 Диссертационного Совета при институте Микробиологии НАН Азербайджана.

Адрес: Az1073,г.Баку, Патамдартское шоссе 40

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке институте Микробиологии НАН Азербайджана.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2013г.

Ученый секретарь
FD 01.222 Диссертационного Совета,
д.ф.п.б.,, доц.

Ф.Х.Гахраманова

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Овцеводство является рентабельной отраслью сельского хозяйства, направленной на удовлетворение потребностей населения в продуктах питания и сельскохозяйственном сырье.

Однако успешному развитию овцеводства препятствует высокий уровень заболеваемости и гибели молодняка в раннем возрасте, что детерминировано физиологической незрелостью иммунной системы ягнят [Бондаренко Т.Ч., 1993].

Установлено, что в возникновении, развитии и исходе заболевания реактивность организма играет первостепенную роль [Блинов Н.И., 1982; Беляев В.И., 1992; Плященко С.И., 1991; Агаева Э.М., 1998; Жофан Н.С., 2006].

Стрептококкоз - инфекционная болезнь молодняка разных видов животных, характеризующаяся явлениями сепсиса, поражением суставов, воспалением легких и пищеварительного тракта.

Болезнь зарегистрирована во многих странах мира и наносит значительный экономический ущерб, который складывается из стоимости погибших и вынужденно убитых животных, а также расходов на лечебно - профилактические мероприятия [Краснова Е.И., 2000].

В связи с этим проблема сокращения потерь от стрептококкозов все еще остается актуальной задачей ветеринарной медицины.

В комплексе задач по профилактике и лечению стрептококкоза, важное место занимает специфическая иммунологическая реактивность и ее коррекция посредством различных иммуномодуляторов [Манько В.М., 2002].

К иммуномодуляторам относят препараты химической или биологической природы, способные модулировать реакции иммунитета в результате воздействия на иммунокомпетентные клетки, на процессы их миграции или на взаимодействие таких клеток, или их продуктов соответствующими мишенями [Воронин Е.С. и др., 1994].

Проблема поиска и правильного использования иммуномодулирующих препаратов при лечении и профилактике инфекционных болезней животных остается крайне актуальной. Это связано с тем, что, во-первых, применение средств специфической антимикробной тера-

пии (антибиотики и противовирусные препараты), как правило, недостаточно эффективны у особей с исходно пониженной функциональной активностью иммунной системы, во-вторых, сами эти средства зачастую оказывают иммуносупрессивное воздействие. Поэтому применение иммуномодуляторов, стимулирующих иммунореактивность организма, в большинстве случаев повышает эффективность антимикробной терапии [Воробьев А.А.,2002].

Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности разработки новых, более простых в применении профилактических и лечебных препаратов, не оказывающих отрицательного влияния на организм и обеспечивающих комплексное профилактическое и фармакологическое действие.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований являлось изучение распространения стрептококкоза ягнят в Азербайджане (Гянджа-Газахский регион), различных клинических формы его проявления, этиологической структуры, а также изучение стимулирующего действия иммунофана на организм ягнят при лечении и профилактике стрептококкоза.

Для достижения указанной цели перед нами поставлены следующие задачи:

- 1.Изучить некоторые особенности эпизоотологического процесса и этиологическую структуру стрептококкоза ягнят в Азербайджане.
- 2.Провести серотипизацию выделенных эпизоотических культур стрептококков.
- 3.Определить клинические формы проявления стрептококкоза ягнят.
- 4.Изучить иммунологические показатели у больных стрептококкозом ягнят.
- 4.1.Определить значимость показателей Т- и В- лимфоцитов, уровень иммуноглобулинов, а также неспецифические показатели клеточного и гуморального иммунитета в сыворотке крови больных стрептококкозом ягнят.
- 5.Изучить терапевтическую эффективность иммунофана в комплексе с сульфаниламидным препаратом.
6. Изучить профилактическую эффективность иммунофана в сочетании с вакциной.

Научная новизна. В Азербайджанской Республике впервые изучена этиологическая структура стрептококкоза ягнят, выявлены клинические формы течения болезни, проведено серотипирование выделенных эпизоотических культур и установлена их принадлежность к *Str. dysagalactiae* и *St. zooepidemicus* серотипа «С».

Изучены иммунобиологические показатели у больных стрептококкозом ягнят и установлен их иммунодефицит.

Для коррекции иммунодефицита, предложен иммунофан. Дано обоснованное заключение об эффективности применения иммуностимулятора иммунофана с лечебной и профилактической целью при стрептококкозе ягнят

Практическая значимость работы. Полученные результаты о этиологической структуре стрептококкоза ягнят, установление серотиповой принадлежности выделенных культур стрептококков позволят сократить сроки диагностики клинических форм стрептококкоза ягнят (полиартрит и септицемия).

На основании клинико-лабораторных исследований сделано обоснованное заключение об эффективности сочетанного применения иммуностимулятора с химиотерапевтическим препаратом и с вакциной для стимуляции иммунологической реактивности организма ягнят.

Нами рекомендован иммунофан, обладающий высоким лечебно – профилактическим действием при стрептококкозе и подготовлены методические рекомендации по применению иммунофана для стимуляции иммунологической реактивности организма при стрептококкозе.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры микробиологии факультета ветеринарной медицины и зооинженерии Азербайджанского Государственного Аграрного Университета, а также рекомендованы практическим ветеринарным врачам.

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены на: научных конференциях профессорско-преподавательского состава Азербайджанского Государственного Аграрного Университета, на заседании кафедры эпизоотологии, микробиологии и паразитологии Азербайджанского Государственного Аграрного Университета, на международной конференции « Борьба с наиболее опасными заболеваниями передающими человеку от животных, на международных конференциях молодых ученых.

Диссертация апробирована на совместном заседании кафедры эпизоотологии, микробиологии и паразитологии Азербайджанского Государственного Аграрного Университета.

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 8 научных статей, в том числе 2 за рубежом и 4 тезиса.

Основные положения, выносимые на защиту.

Изучение этиологической структуры стрептококкоза ягнят в фермерских хозяйствах Гянджа-Газахского региона.

Изучение иммунологических показателей больных стрептококкозом ягнят.

Влияние иммунофана на иммунный статус, гематологические и биохимические показатели ягнят при лечении в комплексе с сульфаниламидным препаратом тримероксином при стрептококкозе.

Влияние иммунофана в сочетании с вакциной на иммунный статус при профилактике стрептококкоза ягнят.

Экономическая эффективность от внедрения рекомендованных схем и средств, против стрептококкоза ягнят.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложений. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 таблицами и 39 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Работы выполнены в период с 2002 – 2012 гг. на кафедре эпизоотологии, микробиологии и паразитологии Азербайджанского Государственного Аграрного Университета, в Республиканской Ветеринарной лаборатории, на фермерских хозяйствах Гянджа-Газахского региона, а также на частных овцеводческих хозяйствах.

В ходе изучения стрептококкоза ягнят, применялись различные методы, включая выявление неблагополучных хозяйств, сбор статистических данных, а также проводились клинические, бактериологические, серологические и патологоанатомические исследования. За подопытными животными вели клиническое наблюдение, учитывали их заболеваемость, сроки выздоровления и гибели.

Диагноз на стрептококковую инфекцию, проводили бактериологическим и серологическим методами.

Идентифицировали выделенную культуру стрептококков по фенотипическим и альтернативным методами.

Серогрупповую принадлежность выделенных культур определяли в реакции преципитации в жидкой среде по Lancefield.

С целью изучения состояния неспецифической и специфической иммунологической реактивности ягнят при стрептококкозе, а также коррекции иммунодефицитного состояния, обусловленного болезнью, были проведены гематологические, биохимические и иммунологические исследования, также была изучена эффективность иммунофана при сочетанном применении с вакциной и с терапевтическим препаратом.

В крови определяли: число эритроцитов, лейкоцитов на автоматическом счетчике «Coulter Counter» (модуль LH) фирмы Coultronics France (Франция) по прилагаемой к прибору инструкции, гемоглобин - определяли на специальном фотометре фирмы Лундберг (Швеция), лейкоцитарную формулу выводили по способу Филипченко. В сыворотке крови определяли: общий белок методом рефрактометрии, белковые фракции методом электрофореза.

Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли методом О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966) в модификации И.А. Саладина (1983), опсоно – фагоцитарную реакцию проводили по В. Я. Мозгису (1982), лизоцимную активность методом Бухарина О.В. (1971), уровень иммуноглобулинов определяли методом простой радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965), содержания Т – лимфоцитов методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Е- РОК), содержания В – лимфоцитов методом комплементарного розеткообразования (ЕАС-РОК).

В первой серии больных стрептококкозом животных, разделили на три возрастные группы. В первую группу входили новорожденные ягнята 1-5-тидневного возраста, во вторую группу - больные ягнята 10 - 15-тидневного возраста, а в третью группу - ягнята 30 – 60 - дневного возраста. Контролем служили клинически здоровые ягнята. Проводили исследования клинических показателей опытных и контрольных групп.

Во второй серии опытов изучали терапевтическую эффективность иммунофана. Подопытных животных разделили на 3 группы по 3 ягнят в каждой и заражали внутримышечно бульонной

культурой стрептококка в объеме 2 мл, с содержанием 2 млрд. микробных тел по оптическому стандарту мутности. 3. Лечение проводили сразу после воспроизведения клинических признаков.

В этот период с терапевтической целью ягнятам первой группы внутрь назначали тримероксин в дозе 1г/5кг один раз в день, и дополнительно в мышцы внутренней поверхности бедра вводили иммунофан, в дозе 1мл/ 100кг курс лечения длился 7 дней. Животным второй группы внутрь назначали тримероксин в дозе 1г /5кг один раз в день, без применения иммунофана. Третью группу лечили традиционным для хозяйства методом, т.е. антибиотиком стрептомицином в дозе 20000 ед / кг три раза в день, эта группа была контрольной.

В третьей серии опыта изучали профилактическую эффективность иммунофана.

Ягнят 30-тидневного возраста разделили на три группы по шесть ягнят в каждой группе, ягнят первой группы вакцинировали вакциной «Стрептовак» в сочетании с иммунофаном, ягнят второй группы только вакцинировали. Третья группа служила контролем. Ягнятам первой группы вводили внутримышечно в область бедра 1мл иммунофана и 1мл вакцины. Ревакцинацию проводили через 14 дней после первой вакцинации. Ягнятам второй группы вакцину вводили двукратно с интервалом 14 дней в дозе 1мл без иммунофана. Ягнятам контрольной группы вводили физиологический раствор в том же объеме и с той же кратностью.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Некоторые особенности эпизоотологического процесса и этиологическая структура стрептококкоза ягнят в Гянджа-Газахском регионе Азербайджанской республики.

Изучение эпизоотологии стрептококкоза ягнят в Азербайджане (Гянджа – Газахском регионе) проводилось с 2002 по 2012 гг. путём статистических данных и эпизоотологического обследования Самухского, Шамкирского, Геранбойского, Товузского, Гек – Гельского и Газахского районов. Нами была составлена эпизоотическая карта - схема, с указанием неблагополучных пунктов по различным инфекционным болезням, в том числе и стрептококкоз.

При анализе сезонной динамики стрептококковых инфекции в Гянджа - Газахском регионе было выявлено, что пик инфекции приходится в основном на январь - апрель и октябрь – декабрь месяцы это связано с факторами окружающей среды (повышением влажности в весенний период, переохлаждением в зимний период).

При бактериологическом исследовании нами были выделены стрептококковые культуры, которые идентифицировали до вида согласно «Определителю бактерий по Берджи»(по фенотипическим и альтернативным методом идентификации).

Из выделенных штаммов 100% были каталазаотрицательными, ферментировали: арабинозу, трегалазу, глюкозу, мальтозу. Не ферментируют манит, инулин, глицерин, раффинозу. 37% - выделенных штаммов ферментировали сорбит, 8,5% - салицин, тест на бензидин был отрицательным. Штаммы не росли на желчно-щелочном агаре, при 10⁰ С, 45⁰ С, в среде с 6,5 % NaCl, на агаре с 40% желчью и при pH 9,6.

Установлена их принадлежность к виду *Str. dysagalactiae* и *Str. zooepidemicus* серогруппы «С». При стрептококковой септицемии новорожденных ягнят с поражениями в области пупочного канатика выделяли *Str. zooepidemicus*, а при артритax *Str. dysagalactiae*

2. Изучение терапевтической эффективности иммунофана на больных стрептококкозом ягнят

Терапевтическую эффективность иммунофана изучали на больных стрептококкозом ягнят 1 - 60 суточного возраста.

Животные были разделены на 3 группы по 5 ягнят, каждую группу заражали бульонной культурой стрептококка в объеме 2 мл, с содержанием 2 млрд. микробных тел по оптическому стандарту мутности.

Лечение проводили сразу после воспроизведения клинических признаков болезни. С терапевтической целью ягнятам первой группы внутрь назначали тримероксин в дозе 1г/5кг, один раз в день и дополнительно в мышцы внутренней поверхности бедра вводили иммунофан в дозе 1мл/100кг. Животным второй группы внутрь назначали тримероксин в дозе 1г/5кг один раз в день без применения иммунофана. Третью группу лечили традиционным в хозяйстве методом, т.е антибиотиком, стрептомицином в дозе 20.000ед/кг три раза в день, это группа считалась контрольной.

Оценку действия препаратов проводили по срокам течения заболевания и количеству отходов ягнят.

При применении терапевтического препарата в комплексе с иммунофаном отход ягнят не наблюдался. Все ягнята этой группы за короткий срок лечения выздоравливали, во-второй группе ягнят получивших препарат без иммунофана, отход составлял 40%, в третьей группе ягнят получивших антибиотик отход составил 60%.

После применения препаратов в комплексе с иммунофаном, без иммунофана и антибиотика, количество эритроцитов у ягнят первой группы колебалось в пределах физиологической нормы и составляло на 3-й день- $7,56 \pm 0,38$ мкл; на 5-й день- $7,57 \pm 0,29$ мкл; на 7-й день- $7,46 \pm 0,30$ мкл ($p < 0,05$), у ягнят второй группы на 5-й день- $7,60 \pm 0,16$ мкл; на 5-й день- $7,65 \pm 0,45$ мкл; на 7-й день- $7,91 \pm 0,28$ мкл ($p < 0,05$); у ягнят третьей группы на 3-й день- $7,77 \pm 0,35$ мкл; на 5-й день- $7,80 \pm 0,31$ мкл; на 7-й день- $8,00 \pm 0,49$ мкл ($p < 0,01$); количество гемоглобина в крови ягнят первой группы было в пределах физиологической нормы и составляло: на 3-й день - $9,92 \pm 0,62$ %; 5-й день $10,1 \pm 0,30$ %; на 7-й день- $10,0 \pm 0,21$ % ($p < 0,01$); у второй группы этот показатель был несколько выше 1-ой группы, и составлял: на 3-й день- $10,2 \pm 0,23$ %; на 5-й день $10,3 \pm 0,37$ %; на 7-й день- $10,5 \pm 0,21$ %; у ягнят третьей группы гемоглобин составлял: на 3-й день- $10,2 \pm 0,26$ %; на 5-й день- $10,6 \pm 0,31$ %; на 7-й день- $10,7 \pm 0,33$ % ($p < 0,05$); количество лейкоцитов крови у ягнят первой группы в период лечения постепенно уменьшалось, и составляло: на 3-й день- $3,75 \pm 0,20$ тыс / мкл.; на 5-й день- $3,82 \pm 0,25$ тыс / мкл; на 7-й день- $4,05 \pm 0,38$ тыс / мкл ($p < 0,05$); у ягнят второй группы этот показатель все еще был выше нормы и составлял: на 3-й день- $6,60 \pm 0,59$ тыс / мкл; на 5-й день- $6,97 \pm 0,37$ тыс / мкл; на 7-й день $7,05 \pm 0,72$ тыс / мкл ($p < 0,01$); у ягнят третьей группы, также количество лейкоцитов было выше нормы и составляло: на 3-й день- $6,67 \pm 0,65$ тыс / мкл; на 5-й день- $7,43 \pm 0,43$ тыс / мкл; на 7-й день- $7,54 \pm 0,72$ тыс / мкл, ($p < 0,05$).

Из полученных данных следует заключение, что предложенный нами химиопрепарат в комплексе с иммунофаном в короткий срок нормализует гематологические показатели крови, что не наблюдается у групп ягнят получивших препарат без иммунофана.

Уровень общего белка у ягнят первой группы составлял: на 3-й день- $7,14 \pm 0,15$ %, на 5-й день- $7,24 \pm 0,22$ %, на 7-й день- $7,42 \pm 0,16$ %($p < 0,01$), у ягнят второй группы на 3-й день- $6,74 \pm 0,35$ %, на 5-й день-

6,80±0,54%, на 7-й день-7,10±0,55 %, ($p < 0,05$), а у ягнят третьей группы - на 3-й день-5,11±0,21%, на 5-й день-5,86±0,29%, на 7-й день - 6,11±0,02% ($p < 0,05$); количество альбуминов у ягнят первой группы составлял: на 3-й день-24,37±1,14%, на 5-й день-27,62±2,61%, на 7-й день - 28,1±2,3% ($p < 0,01$), у второй группы на 3-й день-36,7±0,6%, на 5-й день - 37,55±1,05%, на 7-й день - 38,6±0,8%, а у третьей группы на 3-й день - 39,2±3,25%, на 5-й день- 40,11±1,63%, на 7-й день - 40,95±0,97% ($p < 0,05$); содержание альфа - глобулинов у ягнят первой группы было в пределах нормы и составляло на 3-й день-16,08±1,55%, на 5-й день-17,7±1,34%, на 7-й день - 18,78±0,32%, у ягнят второй и третьей группы эти показатели были несколько выше нормы и соответственно составляли: на 3-й день - 19,86±1,42%, на 5-й день- 20,11±1,63%, на 7-й день - 20,18±1,54 % и на 3-й день - 21,31±1,35%, на 5-й день - 22,11±1,86%, 7-й день- 22,54±1,23% ($p < 0,05$); изменения наблюдались и в содержании бета – глобулинов. Так, у ягнят первой группы они составляли на 3-й день-28,52±1,74%, на 5-й день- 29,12±3,91%, на 7-й день-30,65±1,31%., у второй группы на 3-й день - 25,94±1,51%, на 5-й день-26,10±1,18%, на 7-й день-27,13±2,15%, у третьей группы на 3-й день- 23,02±2,97%, на 5-й день-24,0±0,71%, на 7-й день- 25,27±1,63% ($p < 0,01$); гамма глобулины у ягнят первой группы составляли: 3-й день- 24,96±0,82%, на 5-й день-27,00±1,74%, на 7-й день-28,30±1,36%, у второй группы на 3-й день- 21,92±1,87%, на 5-й день-22,16±0,97%, на 7-й день- 24,54±2,70%, у третьей группы на 3-й день-17,25±2,14%, на 5-й день-17,29±1,53%, на 7-й день-18,34±0,52 % ($p < 0,05$).

Таким образом, у ягнят первой группы, получившей препарат в комплексе с иммунофаном, содержание общего белка и белковых фракций, были в пределах нормы, и это достигалось за более короткий срок лечения, чем у остальных групп.

Бактерицидная активность сыворотки крови после лечения была наиболее высокой, у ягнят первой группы и составляла: на 3-й день лечения 51,0 ± 0,83 %; на 5-й день-52,4 ± 0,50 %; на 7-й день-52,5 ± 0,52 % ($p < 0,05$), у ягнят второй группы соответственно на 3-й день лечения - 45,8 ± 0,20 % ; на 5-й день-47,3 ± 0,35 %; на 7-й день лечения - 48,2±0,22 % ($p < 0,001$), а у третьей группы этот показатель составлял на 3-й день лечения-36,1 ± 0,63%; на 5-й день - 37,3 ± 0,42 %; на 7-й день- 35,8 ± 1,26 % ($p < 0,05$).

Лизоцимная активность у ягнят первой группы после применения терапевтического препарата в сочетании с иммунофаном была выше, чем у ягнят второй и третьей групп и составляла: на 3-й день лечения $44,6 \pm 0,28$ %; на 5-й день- $46,8 \pm 0,28$ % ;на 7-й день- $47,9 \pm 0,64$ % ($p < 0,05$), у второй группы соответственно на 3-й день- $40,9 \pm 0,82$ %; на 5-й день- $41,0 \pm 0,44$ %; на 7-й день лечения $-41,3 \pm 0,46$ % ($p < 0,05$); третьей группы на 3-й день- $37,0 \pm 0,91$ %; на 5-й день $-38,0 \pm 0,51$ %; на 7-й день лечения- $39,1 \pm 0,62$ % ($p < 0,05$).

Фагоцитарная активность лейкоцитов у ягнят получивших тримероксин в комплексе с иммунофаном, была выше показателей других опытных групп и соответственно составляла; у ягнят первой группы на 3-й день лечения – $41,0 \pm 1,61$ %,на 5-й день- $42,8 \pm 1,01$ %,на 7-й день- $44,2 \pm 1,06$ % ($p < 0,05$), у ягнят второй группы на 3-й день лечения - $35,0 \pm 1,31$ %, на 5-й день $-36,0 \pm 1,41$ %, на 7 день $-37,4 \pm 1,30$ % ($p < 0,01$), а у ягнят третьей группы на 3-й день - $28,7 \pm 0,71$ %,на 5-й день $33,4 \pm 1,39$ %, на 7 день - $34,0 \pm 1,30$ % ($p < 0,05$).

Содержание иммуноглобулина класса G составляло: у ягнят первой группы на 3-й день лечения – $19,06 \pm 0,65$ мг/мл, на 5-й день- $20,00 \pm 0,53$ мг/мл, на 7-й день- $20,84 \pm 0,57$ мг/мл ($p < 0,05$), у второй группы на 3-й день- $17,31 \pm 0,64$ мг/мл, на 5-й день- $17,40 \pm 0,03$ мг/мл, на 7-й день- $18,79 \pm 1,65$ мг/мл ($p < 0,05$), у третьей группы на 3-й день- $16,75 \pm 2,07$ мг/мл, на 5-й день - $16,81 \pm 1,58$ мг/мл, на 7 -й день - $17,35 \pm 1,97$ мг/мл ($p < 0,05$). Уровень иммуноглобулина M составлял: у ягнят первой группы на 3-й день лечения - $1,52 \pm 0,38$ мг/мл, на 5-й день- $1,62 \pm 0,27$ мг/мл, на 7-й день- $1,71 \pm 0,20$ мг/мл ($p < 0,05$), у второй группы на 3-й день лечения – $1,23 \pm 0,13$ мг/мл, на 5-й день лечения $-1,39 \pm 0,16$ мг/мл, на 7-й день лечения- $1,42 \pm 0,36$ мг/мл ($p < 0,05$), у третьей группы на 3-й день лечения - $1,52 \pm 0,22$ мг/мл, на 5-й день лечения $1,18 \pm 0,16$ мг/мл, на 7-й день лечения- $1,19 \pm 0,19$ мг/мл ($p < 0,05$).

У больных стрептококкозом ягнят наблюдалось Т-иммунодефицит, что послужило к применению иммунофана. После применения иммунофана в комплексе с химиопрепаратом содержание Т- и В- лимфоцитов было несколько выше у ягнят первой группы и соответственно составляло : Т – лимфоциты на 3-й день лечения - $32,25 \pm 2,31$ %; на 5-й день лечения $-34,8 \pm 1,06$ %;на 7-й день лечения $35,23 \pm 1,38$ % ($p < 0,05$), у ягнят второй группы на 3-й день лечения - $30,09 \pm 0,02$ %; на 5-й день лечения $-30,1 \pm 1,9$ %; на 7-й день лечения - $31,45 \pm 1,25$ % ($p < 0,05$); у ягнят третьей группы на 3-й день лечения -

29,7 ± 1,6%; на 5-й день -29,03 ± 2,1%; на 7-й день лечения- 30,1 ± 2,8 % (p < 0,05). В – лимфоциты составляли: у ягнят первой группы на 3-й день лечения - 22,5 ± 0,99 %; на 5-й день лечения -23,1 ± 0,32 % ; на 7-й день лечения -23,82 ± 1,57 % (p < 0,05), у ягнят второй группы на 3-й день лечения - 20,8 ± 0,92 %; на 5-й день лечения -21,50 ± 1,71 % ; на 7-й день лечения -21,82 ± 1,57 % (p < 0,05); у ягнят третьей группы на 3-й день лечения - 19,78 ± 1,43 % ; на 5-й день лечения -20,8 ± 0,92 %; на 7-й день лечения 20,92 ± 1,55 % (p < 0,05).

Таким образом, иммунологические показатели ягнят первой группы получивший химиопрепарат в комплексе с иммунофаном были выше, чем у ягнят остальных групп. И повышение этих показателей достигается за короткий день лечения.

3.Изучение профилактической эффективности иммунофана

С целью изучения профилактической эффективности иммунофана ягнята 30-тидневного возраста были разделены на три группы 6 ягнят в каждой группе; первую группу вакцинировали двукратно вакциной «Стрептовак» в сочетании с иммунофаном. вторую группу вакцинировали вакциной «Стрептовак» в дозе 1 мл, двукратно без иммунофана. Контролем служили невакцинированные ягнята.

За животными вели постоянные клинические наблюдения.

Ягнята опытных и контрольных групп, подвергались исследованию иммунобиологических показателей крови на 5-е, 10-е, 20-е, 30-е, 60-е, 90-е, и 120-е сутки после вакцинации.

Бактерицидная активность сыворотки крови контрольных ягнят на протяжении всего периода наблюдений незначительно изменилась и оставалась на уровне физиологической нормы (50,5± 2,06% - 54,6 ± 4,33%).

После вакцинации в сочетании с иммунофаном на 5-е дни бактерицидная активность увеличилась и составляла 87,0±1,64% (p < 0,001), на 10-й ,20-й и 30-е дни наблюдался подъем показателей на 88,3±3,40%, 94,4±3,40%, 97,1±3,50%. В последующие дни наблюдалось незначительное снижение бактерицидной активности до показателей, превышающих показателей контрольных групп и составляли на 90-й день 84,2±1,10%, на 120- день после вакцинации 82,0±2,31% (p<0,05).

Бактерицидная активность ягнят второй группы вакцинированных без иммунофана на 5-й и 10-й дни вакцинации увеличилась и составляла $7,88 \pm 1,74\%$, $83,1 \pm 2,40\%$ ($p < 0,01$), этот показатель удерживалась до 20-го дня после вакцинации. На 30-й и в последующие 60-е, 90-е и 120 – е дни исследований наблюдалось снижение бактерицидной активности сыворотки крови от $77,2 \pm 0,50\%$ до $61,0 \pm 1,19\%$ ($p < 0,05$).

У ягнят вакцинированных в сочетании с иммунофаном показатели лизоцимной активности на 5-е и 10-е дни после вакцинации повышались на $80,0 \pm 1,72\%$ - $91,1 \pm 1,12\%$.

На 20-й день после вакцинации лизоцимная активность сыворотки крови ягнят была несколько понижена и составляла $65,4 \pm 2,45\%$. В последующие дни показатель продолжал нарастать и на 90-й и 120-е дни после вакцинации уровень лизоцима превышала и составляла $67,3 \pm 7,50\%$ и $78,0 \pm 5,7\%$ ($p < 0,05$).

Лизоцимная активность сыворотки крови ягнят вакцинированных без иммунофана на 5-й наблюдался подъем на 10-й день после вакцинации сопровождалась понижением показателей до $24,0 \pm 1,20\%$, почти в два раза по сравнению с контрольными ($50,0 \pm 1,11\%$), на 20-й день после вакцинации лизоцимная активность повышалась и составляла $41,08 \pm 0,42\%$ ($p < 0,01$), а максимума он достиг лишь на 120-й день после вакцинации и составлял $56,06 \pm 2,52\%$ ($p < 0,05$).

Фагоцитарная активность лейкоцитов крови ягнят вакцинированных в сочетании с иммунофаном на 5-е и 10-е сутки после вакцинации увеличилась и составляли $47,0 \pm 1,20\%$ и $56,0 \pm 1,91\%$ ($p < 0,05$), на 20-й, 30-й, 60-й, 90-й и 120 – е дни эти показатели составляли $68,5 \pm 2,07\%$, $68,1 \pm 2,30\%$, $58,9 \pm 2,50\%$, $60,0 \pm 2,51\%$ ($p < 0,005$).

Фагоцитарная активность сыворотки крови ягнят второй группы вакцинированных без иммунофана на 5-е и 10-е сутки после вакцинации составляли $33,1 \pm 1,70$ и $42,0 \pm 2,15\%$ ($p < 0,05$), на 20-й день показатель увеличивался до $57,0 \pm 3,05\%$, в последующие дни эти показатели снижались и составляли на 30-й, 60-й, 90-й и 120-е дни $54,0 \pm 3,09$ – $50,0 \pm 1,01\%$ ($p < 0,05$).

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови у ягнят первой и второй группы в начале опыта была на одной уровне и составляло по группа: М иммуноглобулин – составлял: у ягнят первой группы на 5-е, 10-е и 20-е дни $1,65 \pm 0,27$ мг/мл, $1,71 \pm 0,20$ мг/мл, $1,75 \pm 0,21$ мг/мл; у второй группы в эти же дни составляли $1,42 \pm 0,36$ мг/мл, $1,44 \pm 0,08$

мг/мл $1,46 \pm 0,27$ мг/мл к концу срока у ягнят первой группы она была ниже первичных показателей и составляло $1,50 \pm 0,20$ мг/мл, $1,49 \pm 0,19$ мг/мл, второй группы $1,33 \pm 0,01$ мг/мл и $1,30 \pm 0,24$ мг/мл.

G – иммуноглобулины у ягнят первой группы на 5-е, 10-е и 20-е дни после вакцинации была выше фонового показателя и составляла $21,80 \pm 0,64$ мг/мл, $22,0 \pm 0,42$ мг/мл, $22,96 \pm 0,61$ мг/мл ($p < 0,05$), у второй группы этот показатель был несколько ниже первой группы и составлял – $19,20 \pm 0,46$ мг/мл, $20,0 \pm 0,63$ мг/мл, $20,29 \pm 1,08$ мг/мл ($p < 0,05$), в последующие дни наблюдалось снижение показателей второй группы на $19,12 \pm 0,46$ мг/мл, $20,0 \pm 0,63$ мг/мл и к концу срока они составляли $19,09 \pm 0,22$ мг/мл, $19,19 \pm 0,22$ мг/мл, $19,46 \pm 0,41$ мг/мл. У ягнят первой группы содержание мг/мл иммуноглобулинов G была выше, чем у ягнят второй группы и в последующие дни составляла: $22,33 \pm 0,85$ мг/мл, $22,05 \pm 0,10$ мг/мл, $22,29 \pm 1,08$ мг/мл и $22,64 \pm 0,35$ мг/мл.

Количество T- и B- лимфоцитов в сыворотке крови ягнят первой группы после вакцинации в сочетании с иммунофаном, было значительно выше и составляло: T-лимфоциты на 5-е и 10-е дни $40,7 \pm 4,1\%$ и $41,9 \pm 4,7$, на 20-е день наблюдалось снижения на $39,1 \pm 4,7\%$, а в последующие дни показатель был выше по сравнению со второй группой и составлял $40,5 \pm 3,9\%$, $41,2 \pm 2,5\%$, $41,8 \pm 3,4\%$ и $45,1 \pm 4,2\%$ ($p < 0,05$). У ягнят второй группы на 5-е и 10-е сутки после вакцинации без иммунофана T – лимфоциты составляли $39,45 \pm 1,25\%$, $38,47 \pm 1,31\%$, на 20-й день $36,75 \pm 2,34\%$, а 30-е, 60-е, 90-е и 120-е дни $38,40 \pm 2,4\%$, $39,80 \pm 2,13\%$, $40,80 \pm 2,24\%$ и $45,90 \pm 2,34\%$ ($p < 0,05$). B - лимфоциты составляли: у ягнят первой группы на 5-е и 10-е сутки $23,10 \pm 0,30\%$, $23,82 \pm 1,61\%$, в последующие дни эти показатели превышали показатели второй группы и составляли – $30,45 \pm 1,54\%$ - на 30-й день, $23,81 \pm 1,55\%$ - на 60-й день, $24,10 \pm 2,51\%$ - на 90-й день и $24,9 \pm 5,43$ на 120-й день опыта. У второй группы показатель B – лимфоцитов был ниже и на 5-е и 10-е сутки он составлял $21,1 \pm 1,2\%$, $21,50 \pm 1,71\%$ ($p < 0,001$), а в последующие дни эти показатели оставались на одном уровне и составляли $21,9 \pm 2,4\%$ на 20-е сутки, $21,0 \pm 1,62\%$ - на 30-й день, $21,1 \pm 2,2\%$ - на 60 – й день, $20,6 \pm 1,74\%$ - на 90-й день и $20,5 \pm 1,37\%$ - на 120 –й день.

Таким образом, при применении иммунофана в сочетании с вакциной обеспечивала высокую профилактическую эффективность.

4.Изучение титров стрептококковых антител в сыворотке крови

Установление уровня поствакцинального иммунитета к стрептококкозу определяли РА (реакцией агглюцинации).

Титр агглютининов у ягнят вакцинированных только лишь вакциной составлял $1: 95 \pm 53,02$ на 5-е сутки после вакцинации, $1:512 \pm 92,19$ на 60-е сутки вакцинации, на 120-е сутки происходило снижение титра до $1: 256 \pm 50,9$ ($p < 0,001$) (рис. 1).

У ягнят вакцинированных в сочетании с иммунофаном титр антител на 5-е сутки после вакцинации составлял $1:112 \pm 25,3$ на 60-е сутки вакцинации $1:576 \pm 82,62$ в последующие дни происходило незначительное снижение и на 120-е сутки он был достаточно выраженным и составлял $1:384 \pm 82,62$ ($p < 0,05$).

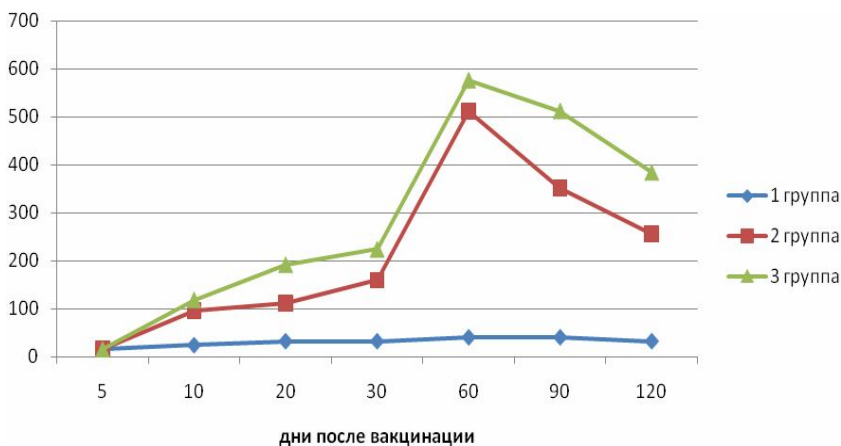


Рисунок 1. Титр агглютининов к стрептококкам у ягнят после вакцинации.

Примечание: 1- контроль.

2- группа ягнят, вакцинированных без иммунофана;

3- группа ягнят, вакцинированных в сочетании с иммунофаном;

Анализ полученных данных показывает, что при применении вакцины в сочетании с иммунофаном динамика атителообразования по срокам их максимального накопления была выше, чем у привитых только вакциной животных.

ВЫВОДЫ

1. В овцеводческих хозяйствах Гянджа-Газахского региона Азербайджанской Республики стрептококкоз ягнят имеет широкое распространение.
2. Проведена фенотипическая и альтернативная идентификация выделенных эпизоотических культур стрептококков.
3. Изучена этиологическая структура стрептококкоза ягнят и установлено, что возбудителем болезни является *Str. dysagalactiae* и *Str. zooepidemicus*.
4. Выявлены основные клинические формы течения стрептококкоза ягнят:
 - Стрептококковая септицемия ягнят возбудитель *Str. zooepidemicus*
 - Стрептококковый полиартрит ягнят возбудитель *Str. dysagalactiae*
5. Стрептококкоз ягнят сопровождается Т- иммунодефицитным состоянием. Т лимфоциты у больных ягнят снижается в 2 раза и составляли $17,3 \pm 2,14$ против $34,0 \pm 0,02$ здоровых. В- лимфоциты понижаются и составляют $19,78 \pm 1,43$ против $22,7 \pm 0,05$
6. Предложен иммунокорректирующий препарат иммунофан, применяемый для лечения стрептококкоза ягнят положительно влияющий на гуморальный и клеточный иммунитет.
7. Изучены иммунобиологические показатели у больных стрептококкозом ягнят и выявлено их иммунодефицитное состояние.
8. Установлена высокая лечебная эффективность применение сульфаниламидного препарата тримероксина в комплексе с иммунофаном
9. Предложена схема иммунизации животных вакцинированных против стрептококкоза в сочетании с иммунофаном

10. Установлена высокая профилактическая эффективность применения вакцины «Стрептовак» в сочетании с иммунофаном, в результате которого повышается напряженность иммунитета

Список трудов опубликованных по теме диссертации

1. Агаева Э.М., Джафарова А.Г., Сардарлы В.В. Экологическая роль микробных ассоциаций стрептококка при стрептококковых инфекциях. /Gənc Təbib Alimlərin III beynalxalq konqresi. Bakı, 2003. s. 95-97.
2. Сардарлы В.В., Агаева Э.М., Джафарова А.Г., Намазова Н.Г. Значение смешанных инфекций при стрептококкозе ягнят./ Gənc Təbib Alimlərin III beynalxalq konqresi Bakı 2003. s. 94-95.
3. Агаева Э.М., Сардарлы В.В. Изучение резистентности чувствительности стрептококков к антимикробным препаратам.// Aqrnomluq və zoobaytarlıq fakultəsi Elmi əsərlərin toplusu. Bakı, 2003, s.122-127.
4. Сардарлы В.В., Агаева Э.М. Стрептококки на стыке медицины и ветеринарии./“Heyvanlar,quşlar, balıqlar və onların məhsullarından insana keçən təhlükəli yoluxucu xəstəliklərlə mübarizə” yə həsr olunmuş beynalxalq konfrans. Gəncə, 2009, s.103-106.
5. Сардарлы В.В., Агаева Э.М. Стрептококкоз ягнят. “Heyvanlar,quşlar, balıqlar və onların məhsullarından insana keçən təhlükəli yoluxucu xəstəliklərlə mübarizə” yə həsr olunmuş beynalxalq konfrans. Gəncə, 2009, s.112-117.
6. Сардарлы В.В. Спектр патогенности стрептококков выделенных от ягнят.//Azərbaycan aqrar elmi, 2011, №3, s.145-147.
7. Сардарлы В.В. Работа с выделенными культурами стрептококков полученных от больных ягнят. ADAU-nun Elmi əsərləri.Gəncə 2011 №2.s.70-71.
8. Сардарлы В.В., Агаева Э.М. Иммунофан для стимуляции иммунологической реактивности макроорганизма при

- стрептококкозе.// Гигиена,эпидимиология и иммунобиология(Казахыстан), 2011, № 1 (47), с.112-115.
9. Сардарлы В.В., Агаева Э.М. Иммунобиологическая терапия ягнят при стрептококкозе.//Весник Московского Государственного областного университета серия «Естественные науки», 2011, №5, с.20-24.
 10. Сардарлы В.В., Агаева Э.М. Изучение терапевтической эффективности иммунофана на больных стрептококкозом ягнят.// АМЕА- nin Mikrobiologiya institunun Elmi əsərləri. Bakı: “Elm” nəşriyyatı, 2012, №1, s.10-13.
 11. Сардарлы В.В. Особенности проявления инфекционного процесса при стрептококкозе ягнят.// ADAU-nun Elmi əsərləri, 2012, №1, s.64-65.
 12. Сардарлы В.В. Новый подход к проблеме стрептококкоза ягнят.// ADAU-nun Elmi əsərləri, 2012, №2, s.91-94.

Sərdarlı Vüsalə Vahid qızı

“QUZULARIN STREPTOKOKKOZU ZAMANI IMMUNOBİOLOJİ REAKTİVLİYİNİN STİMULYASIYASI”

Təqdim olunan işin məqsədi Azərbaycanın Gəncə - Qazax regionunda quzuların streptokokkozunun epizootik vəziyyətinin öyrənilməsi, xəstəliyin etioloji strukturunu təyin etməsi və təklif edilmiş immunostimulyator immunofanın terapevtik və profilaktik effektivliyinin öyrənilməsidir.

İlk dəfə Azərbaycan Respublikasında quzuların streptokokkozunun epizootologiyasının öyrənilməsi və immunofanın terapevtik və profilaktik preparatı “Streptoevakla” birgə istifadəsi öyrənilmişdir.

Aydın olmuşdur ki, streptokokkoz quzular arasında geniş yayılmış xəstəlik olub, organizmin immun-reaktivliyinin aşağı düşməsi nəticəsində baş verir. Xəstəlik əsasən yanvar-aprel və oktyabr – dekabr aylarında daha çox müşahidə olunur, buda havanın bu aylarda dəyişkən, rütübətli və soyuq olması ilə izah olunur.

Fenotipik identifikasiya və serotipizasiya nəticəsində məlum oldu ki, xəstəliyin törədicisi “C” seroqrupuna aid olan *Str.dysagalaktiya* və *Str.zooepidemicus*dur.

Xəstəliyin mənbəyi xəstə və xəstəlikdən sağalmış bakteriya daşıyıcıları olmaqla, xəstəlik alimentar, aerogen və kontakt yolu ilə baş verir.

Patogen streptokokklar bir sıra antibiotiklərin təsirinə davamlı olduğuna görə, xəstəlik zamanı antibiotika terapiya bəzi hallarda səmərəli olmur.

Aydın olmuşdur ki, quzuların müalicəsi məqsədilə sulfanilamid preparat trimeroksini immunofanla birgə tətbiq etdirilməsi effektiv nəticə verir. Bu zaman törədiciyə ikili zərbə vurulur, sulfanilamid preparatı törədicinin funksional fəallığını dayandırır, immunofan isə faqositlərin funksional aktivliyini yüksəldərək bakteriosid effekti artırır.

Spesifik profilaktika məqsədilə anatoksin vaksini “Streptoevak” immunofanla birgə işlədikdə qanda antitellərin miqdarını artırır və immunitetin gərginliyini yüksəldir.

Sardarli Vusala Vahid

STIMULATION OF IMMUNE REACTIVITY LAMBS AT STREPTOCOCCOSIS

The aim of the presented work was studying and analyze the epizootic situation and etiological structure streptococcus lambs, as well as studying of the stimulating effect on the body immunofane lambs in the treatment and prevention of streptococcus.

In the Republic of Azerbaijan for the first time studied the epizootic situation and etiological structure streptococcus lambs studied immune biological parameters in patients streptococcus lambs and set them immunodeficiency.

In order to correct immunodeficiency proposed immunofane, was made an informed opinion on the effectiveness of immunostimulant immunofane with therapeutic and prophylactic purposes in streptococcus lambs.

In the the analysis of seasonal dynamics streptococcus lambs found that the peak of infection is mainly in january - april and ortober - december of that is associated with increased humidity of in spring and overcooling in the winter.

By the method of identification and phenotypic serotipizatsii established that pathogen streptococcus lambs according with a key the determinant of Bergey relates *Str. dysagalactiae* and *Str. zooepidemicus*.

The appointment immunofane in combination with chemotherapeutic agent trimeroksine can improve the overall condition of the animals and normalize clinically indicators.

Assigning immunofane in combination vaccine allows to increase the titer of specific antibodies and increase transit times being in blood circulation of.

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI

MİROBİOLOGİYA İNSTİTUTU

Əlyazması hüququnda

VÜSALƏ VAHİD QIZI SƏRDARLI

**“QUZULARIN STREPTOKOKKOZU ZAMANI İMMUNOBİOLOJİ
REAKTİVLİYİNİN STİMULYASIYASI”**

**3109.01- Baytarlıq mikrobiologiyası, virusologiyası,
epizootologiyası, mikotoksikologiya ilə
mikologiyası və immunologiyası**

**Baytarlıq üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim olunmuş dissertasiyanın**

A V T O R E F E R A T I

BAKI-2013