

На правах рукописи

ИСКАНДАРОВА

Салмиханум Самурхановна

**ЗАЩИТНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ
НА ОСНОВЕ АЗОТНОКИСЛОГО ЛАНТАНА**

4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и
биобезопасность

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук,
Ездакова Ирина Юрьевна

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель: **Ездакова Ирина Юрьевна** - доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

Официальные оппоненты: **Абдуллаева Асият Мухтаровна**, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы и биологической безопасности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет» (ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ»)

Бачинская Валентина Михайловна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)

Защита диссертации состоится «01» февраля 2024 г. в 11-00 ч. на заседании диссертационного совета 24.1.249.03, созданного при ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» по адресу: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5. Телефон: 8 (499) 256-35-81, E-mail: vniivshe@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИВСГЭ - филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН по адресу: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5, и на сайтах: <https://viev.ru>; <https://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук


_____ Е.А. Денисова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. Поиск лекарственных средств и создание на их основе новых эффективных препаратов для профилактики и лечения различных заболеваний является одной из важных задач медицины и ветеринарии. Для профилактики и лечения патологических состояний, связанных с повреждением и поражением кожных покровов (ожогов, ран, порезов, воспалений, нагноений травматической или инфекционной этиологии и т.д.), осложненных гноеродной микрофлорой, используется широкая номенклатура препаратов, включающая антибиотики, антисептические, ферментные и витаминные лекарственные средства. В последнее время, на фоне все большего распространения микроорганизмов, устойчивых к различным антибиотикам, альтернативные антибактериальные средства приобретают особую актуальность.

Среди патологий, наносящих существенный ущерб животноводству, мастит коров занимает лидирующее положение. Это широко распространённое инфекционное заболевание молочной железы, вызываемое в основном стафилококками и стрептококками и сопровождающееся воспалением, приводящим к гипогалактии, с последующей атрофией поражённой четверти вымени и выбраковкой животного (Акназаров Б.К. с соавт., 2009; Батраков А.Я. 2001; Карташова В.М., с соавт., 1988; Fox L.K. et al. 1994, 1996; Guo Y.F., et al., 2017; Haltia L. et al., 2006; Hamid S, et al. 2017).

Учитывая повсеместное распространение стафилококков и стрептококков во внешней среде, их выраженный тропизм к тканям молочной железы, проведение профилактических мероприятий, с использованием новых фармакологических средств в общем комплексе мер борьбы с этим заболеванием, имеет первостепенное значение.

Для профилактики маститов у коров широко используется интрацистернальная обработка вымени антимикробными средствами – антибиотиками, сульфаниламидными, нитрофурановыми и другими средствами (Жилайтис В. с соавт., 2009; Климов Н.Т. с соавт., 2006). Длительно используемые антибиотики для интрацистернального введения (пенициллин,

стрептомицин, эритромицин, левомецетин, тетрациклин цефкином и др.) формирует у возбудителей мастита резистентность, т.е. их адаптацию к применяемым антибиотикам (Баркова А.С., 2009; Брюхова И.В., 2004; Новикова С.Н., 2004; Шапошников И.Т., 2001; Isobe N., 2017). Кроме того, значительная часть антибиотиков попадает в молоко, что снижает его диетические и потребительские свойства, а у сенсibilизированных людей могут вызывать аллергические реакции (Барбашина И.В., 2001; Бояковская Т.Г., 2006; Гончаров В.П., с соавт., 1980).

1.2. Степень разработанности темы. Особое место в арсенале известных ранозаживляющих, противовоспалительных, бактерицидных, подсушивающих и вяжущих средств занимают неорганические и органические соединения, содержащие биологически активные металлы различных групп. Например – основная висмутовая соль галловой кислоты, основной ацетат алюминия, алюмокалиевые квасцы, ацетат свинца, дихлорид, оксицианид, амидохлорид и окись ртути, сульфат и нитрат меди, нитрат и хлорид серебра, протаргол, колларгол и др. (Биркина А.И., 2006; Глущенко Н.Н., 2002).

Для лечения патологических состояний, связанных с повреждающим действием избытка ионов кальция, представляют большой интерес соединения редкоземельных элементов (РЗЭ) или лантаноидов (Верхова О.А., с соавт. 1980; Джулай М.А., с соавт., 1988; Зимаков Ю.А., 1971).

Обусловлено это наличием у них таких свойств, как антикоагулянтная активность, способность к замещению ионов кальция, способность образовывать комплексы с анионами, содержащими кислород, стимулирующее действие на синтез ДНК и РНК, антибактериальное, противовоспалительное, антиоксидантное действие, мембраностабилизирующий эффект (Доржиев Ж.П., 2005-2007; Трошин А.Н., 1996; Cheng Y.H., et al., 2017; Perone PA, et al., 2009).

Таким образом, изучение возможности использования солей редкоземельных элементов для профилактики и лечения различных заболеваний является актуальной задачей.

1.3. Цели и задачи исследования. Целью исследования являлось изучение биологических и бактерицидных свойств азотнокислого лантана (АКЛ) и разработка на его основе защитно-профилактических средств для профилактики мастита коров и защиты кожных покровов у мелких домашних животных.

Для достижения указанной цели в работе были поставлены следующие задачи:

1. Изучить бактерицидные свойства азотнокислого лантана
2. Определить влияние лантаноидов на иммунореактивность организма
3. Дать характеристику действию азотнокислого лантана на гиперчувствительность немедленного и замедленного типа
4. Провести оценку протективной активности защитно-профилактического средства с АКЛ при маститах у коров
5. Изучить возможность использования средства на основе АКЛ при профилактике кожных патологий у животных

1.4. Научная новизна. Экспериментально обоснован защитный эффект АКЛ при бактериальных поражениях кожных покровов у сельскохозяйственных и домашних животных.

Изучены биологические свойства АКЛ и разработаны на его основе для ветеринарной практики новые средства для профилактики маститов, а также кожной патологии мелких домашних и сельскохозяйственных животных.

Подобрана оптимальная схема использования АКЛ для профилактики мастита у сельскохозяйственных животных и защиты кожных покровов у мелких домашних животных.

Разработаны патенты на изобретение: 1. Средство для профилактики мастита у крупного рогатого скота. Патент на изобретение RUS 2605631 28.10.2015. 2. Средство для защиты лап собак от агрессивных факторов. Патент на изобретение RUS 2589698 31.10. 2014.

1.5. Теоретическая и практическая значимость работы. Показано, что лантаноиды обладают иммуностимулирующим действием. Установлено

повышение функциональной активности нейтрофилов в крови животных, зараженных ВЛКРС.

Изучено и предложено для ветеринарной практики защитно-профилактическое средство на основе АКЛ в форме мази для профилактики мастита у сельскохозяйственных животных и защиты кожных покровов у мелких домашних животных.

Разработано методическое пособие «Разработка лекарственной формы препарата на основе редкоземельных металлов для защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов внешней среды», утвержденное Заместителем академика–секретаря Отделения сельскохозяйственных наук РАН – руководителем секции зоотехнии и ветеринарии, академиком РАН В.В. Калашниковым.

Разработана нормативная документация: Стандарт организации (СТО); инструкция по применению и, регламент по лабораторному изготовлению комплексного средства для профилактики мастита у сельскохозяйственных животных и защиты кожных покровов у мелких домашних животных.

1.6. Методология и методы исследования. Методология диссертационной работы спланирована и логически выстроена в соответствии с целью и задачами исследования. Основными направлениями научно-исследовательской работы стали вопросы изучения свойств солей лантаноидов в плане использования их в качестве действующего вещества в профилактических средствах, обладающих противовоспалительными и восстанавливающими свойствами с целью использования для профилактики и лечения кожной патологии и маститов у сельскохозяйственных и домашних животных. Для достижения цели диссертационной работы и обоснования применения полученных результатов использованы адекватные методологические приемы.

В работе использованы клинические, патологоанатомические, микробиологические, серологические и иммунологические методы исследования.

1.7. Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Результаты выполненной работы вошли в ежегодные отчеты Экспериментально-производственной лаборатории ФГБНУ ВИЭВ по НИР по теме 0578-2014-0022 за 2013-2018 гг. Материалы диссертации были представлены на различных научных конференциях: - на Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России», посвященной 115-летию со дня основания института, (научная электронная библиотека eLIBRARY. RU, 3-4 октября 2013 г.); на объединенной сессии: Координационного совещания по инфекционной патологии сельскохозяйственных животных и Международной научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных», посвященной 110-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора, академика ВАСХНИЛ Якова Романовича Коваленко, (научная электронная библиотека eLIBRARY. RU, 17 мая 2016 г.), а также на заседаниях НМК и Ученых советах ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в 2019-2021 гг.

1.8. Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 8 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ, получено 2 патента, разработано методическое пособие.

1.9. Личный вклад автора. Все этапы работы были выполнены при непосредственном участии автора диссертационной работы.

В работе использованы материалы, полученные лично автором. Участие соавторов отражено в совместно изданных научных публикациях.

1.11. Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 144 листах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, собственные исследования, выводы, обсуждения, практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 17 таблицами, 11 рисунками. Список литературы включает 225 источников, из них 108 зарубежных авторов.

1.12. Основные положения, выносимые на защиту:

- Изучение бактерицидных и иммуностимулирующих свойств азотнокислого лантана.
- Разработка и изготовление защитно-профилактических средств для животных на основе редкоземельных металлов
- Результаты исследования влияния защитно-профилактического средства с азотнокислым лантаном на организм лабораторных животных.
- Результаты изучения профилактической эффективности средства на основе азотнокислого лантана при маститах у коров и кожной патологии у собак.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Материалы и методы исследований

Работа выполнена в течение 2012-2022 гг. в ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и на опытной базе ВИЭВ. В опытах было использовано 550 беспородных белых мышей массой 15-18 г., 25 кроликов, 50 морских свинок, 50 собак, 40 гол. крупного рогатого скота.

Определение чувствительности эшерихий, бруцелл, стрептококков, стафилококков к солям лантаноидов проводили на плотной питательной среде методом серийных разведений. Для сравнения определяли чувствительность этих же микроорганизмов к антибиотикам тетрациклинового ряда, хлорамфениколу, макролидам и фторхинолонам.

В качестве тест-микроорганизмов использовали культуры стафилококков и стрептококков, полученные в Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л. А. Тарасевича, а также вакцинный и вирулентный штаммы *B. abortus 19* и *54*.

Имуностимулирующую эффективность АКЛ изучали по титру антител, кожной гиперчувствительности замедленного типа, коэффициенту массы селезенки у мышей, которым вводили убитую культуру бруцелл вакцинного штамма и раствор азотнокислого лантана в разной концентрации и по разной схеме. Определяли относительную массу (коэффициент) селезенки по формуле: $A/B \times 100$: где, А – вес селезенки, Б – вес мыши. При этом учитывали, что

селезенка – самый крупный лимфоидный орган иммунной системы у позвоночных и изменение массы органа, как правило, связано с изменением его функциональных способностей (Гацура В.В., 1974).

Кожную чувствительность определяли на белых беспородных мышах и морских свинках по реакции ГЗТ и ГНТ согласно руководству по экспериментальному изучению новых фармакологических средств (Хабриев Р.У., 2005). Вычисление аллергической реакции у мышей проводили по формуле $(A-B)/B \times 100$: где А – вес левой лапки, В – вес правой лапки.

Определение пирогенности АКЛ проводили на кроликах массой 2,5 кг.

Для изучения влияния АКЛ на показатели фагоцитарной реакции в системе *in vitro* исследовали материал (пробы крови, обработанных ЭДТА) от больных лейкозом (1-2 группы) и здоровых коров (3 группа). В качестве объекта фагоцитоза использовали частицы латекса. Азотнокислый лантан вводили в количестве 50 и 100 мкг/мл.

Изучение стимулирующего эффекта азотнокислого лантана на продукцию антител, при введении живой вакцины из штамма *B. abortus 19* проводили на мышах линии BALB.

Определение параметров острой токсичности на белых беспородных мышах проводили на основании методических рекомендаций по изучению общетоксического действия фармакологических средств (Хабриев Р.У., 2005).

Для выявления гепатотоксического действия АКЛ проводили определение детоксицирующей функции печени, которую оценивали по продолжительности гексеналового сна. Азотнокислый лантан в дозе 2500 мкг/кг и 5000 мкг/кг массы тела мышей вводили перорально индивидуально с помощью зонда в виде взвеси в 2%-ном крахмальном клейстере. Раствор гексенала подопытным и контрольным мышам вводили внутрибрюшинно в форме 0,2% раствора в дозе 80 мг/кг массы тела, через 1, 3 и 24 часа после дачи АКЛ. Учет времени сна начинали с момента принятия мышами бокового положения и заканчивали при появлении координированных движений (переворачивании).

Для изучения защитных свойств профилактического средства на основе азотнокислого лантана (Вилпран-вет) от трансдермального заражения бруцеллами, на обработанную препаратом «Вилпран-вет» кожу морских свинок (5гол.) делали аппликацию суспензии бруцелл. Контрольной группе морских свинок (5 гол.) аппликацию суспензии бруцелл делали без предварительной обработки кожи. Через 8-10 часов повязку снимали. Через месяц, в течение которого дважды брали пробы крови для серологического исследования, животных после эвтаназии исследовали патологоанатомически и бактериологически.

Используя пакет прикладных программ *Excel*, был проведен анализ цифровых данных с помощью соответствующих сводных таблиц и диаграмм. Для создания организационных диаграмм использовали программу Microsoft Visio 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение биологических свойств азотнокислого лантана

При исследовании на безвредность, однократное запаивание мышей 1% раствором азотнокислого лантана в дозе 0,5 мл не вызвало гибели мышей в течение 10 суток наблюдения. Подкожное введение такой же дозы АКЛ, так же не вызвало отклонений от физиологической нормы.

По результатам опыта на пирогенность установлено, что подопытные животные (кролики) практически не реагировали существенным повышением температуры тела на введение АКЛ. Отсутствовала пирогенность также после внутривенного, подкожного и внутримышечного введения раствора соли лантана на монопропиленгликоле из расчета 100 мкг/мл по действующему веществу в дозе 1мл/кг массы тела.

Определение острой токсичности азотнокислого лантана на лабораторных животных

В результате определения параметров острой токсичности на мышах при пероральном введении установлено, что в зависимости от дозы АКЛ клиническая картина была разной. На диаграмме (рис. 1), представлены результаты опыта по

пероральному введению АКЛ в дозах от 20 до 120 мг/гол.

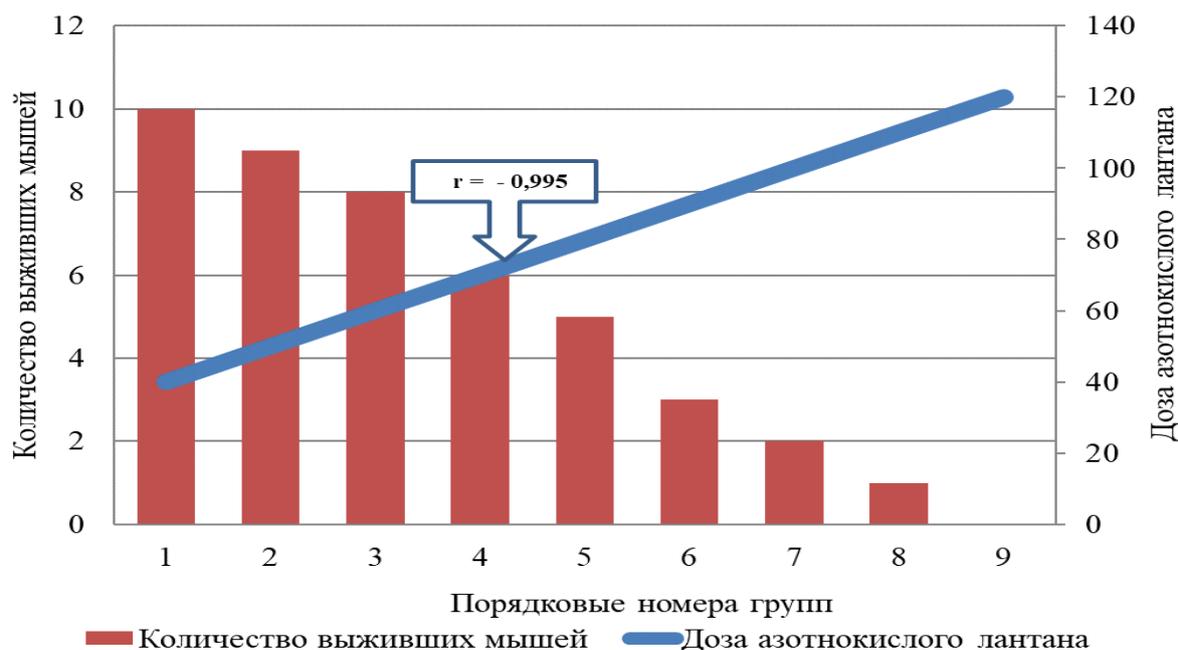


Рисунок 1 – Токсичность разных доз азотнокислого лантана на подопытных мышах

Диаграмма наглядно демонстрирует обратную корреляцию ($r = - 0,995$) зависимости показателей токсичности от дозы азотнокислого лантана при пероральном введении подопытным мышам.

Результаты изучения острой токсичности азотнокислого лантана при подкожном введении мышам представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения острой токсичности азотнокислого лантана при подкожном введении мышам (n=90)

№ гр.	Доза азотнокислого лантана		Количество мышей			Время гибели:	
	мг/кг	мг/мышь	всего	выжило	пало	мин.	процент
1	750	15	10	10	0	0	0
2	1500	30	10	10	0	0	0
3	2000	40	10	9	1	60	10
4	2500	50	10	8	2	40-60	20
5	3250	65	10	5	5	30-55	50
6	4000	80	10	3	7	520	70
7	4500	90	10	1	9	1025	90
8	5000	100	10	0	10	520	100
9	контроль		10	10	0	0	0

Как видно из таблицы, при однократном подкожном введении азотнокислого

лантана мышам ЛД₀ составила 1500 мг/кг; ЛД₅₀ – 3250 мг/кг; ЛД₁₀₀ – 5000 мг/кг.

Таким образом, ЛД₅₀ при введении в желудок АКЛ белым мышам составляет 4000 мг/кг массы животного, при однократном подкожном введении ЛД₅₀ составила 3250 мг/кг.

Результаты исследования лантаноидов на гепатотоксичность

В опыте по изучению влияния АКЛ на антитоксическую функцию печени использовали 70 белых беспородных мышей, массой 18-20 г, которых разделили на 3 группы. Контрольных и подопытных животных подбирали парами по весу, гексенал им вводили одновременно. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние азотнокислого лантана на функциональное состояние печени мышей

Группа		Количество животных в группе	Доза АКЛ (мкг/мл)	Время сна мышей (мин)
1 опытная	1 час	10	50	23,2±0,12
	3 часа	10		22,8±0,20
	24 часа	10		21,2±0,20
2 опытная	1 час	10	100	26,3±0,30
	3 часа	10		23,8±0,32
	24 часа	10		22,0±0,75
Контроль		10		22,0±0,33

Как показали исследования, АКЛ в испытуемых дозах достоверного увеличения времени сна у мышей не вызывал. Следовательно, азотнокислый лантан в данных дозах не обладает гепатотропным действием и не приводит к нарушению антитоксической функции печени.

Результаты исследования бактерицидных свойств лантаноидов

В результате изучения бактерицидных свойств лантаноидов установлено, что соли лантана обладают угнетающим действием на рост стафилококков, стрептококков, сальмонелл и бруцелл.

Вместе с тем, бактерицидность лантаноидов относительно по сравнению со многими химическими препаратами, обладающими антибиотическими и антисептическими свойствами (рис. 2, 3).

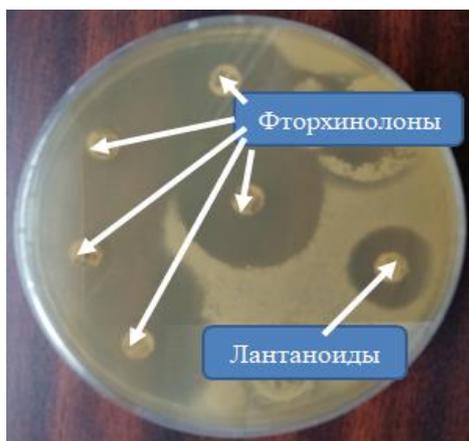


Рисунок 2 – Бактерицидный эффект



Рисунок 3 – Бактерицидный эффект

На рисунках 2 и 3 представлены зоны лизиса, вызываемые антибиотиками группы фторхинолонов и макролидов, которые при сравнимых дозировках, в 2 и более раза превышают аналогичные показатели азотнокислого лантана.

По-видимому, эффективность лантаноидов надо рассматривать не по бактерицидным свойствам, а в контексте комплексообразующих его свойств, учитывая выраженную способность лантаноидов связываться с различными лигандами и образовывать из органических элементов координационные (комплексные) соединения, которые, собственно, и обуславливают защитный эффект.

Влияние азотнокислого лантана на антителогенез

В таблице 3 приведены результаты опыта по изучению влияния АКЛ на антителогенез.

Таблица 3 – Влияние АКЛ на титр антител у мышей при иммунизации вакциной из штамма 19 В. abortus

№ пп	Титр антител в РА						
	Опыт (n=10)						
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
	2	3	4	5	6	7	8
1	+++	++++	++++	++++	++++	++	–
2	++	++++	++++	++++	++++	+++	++
3	++++	++++	++++	++++	++	–	–
4	++	++++	++++	++++	++++	++	–
5	++	++++	++++	++++	++++	++	–
6	–	++++	++++	++++	++++	++++	+++
7	++	++++	++++	++++	+++	–	–
8	+	++++	++++	++++	+++	+	–
9	+++	++++	++++	++++	++++	++	–
10	+++	++++	++++	++++	+++	–	–

1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль (n=10)							
1	++++	+++	++	—	—	—	—
2	+++	++	—	—	—	—	—
3	+++	++	+	—	—	—	—
4	++++	++++	++++	+++	+	—	—
5	++++	+++	++	—	—	—	—
6	+++	++	—	—	—	—	—
7	+++	+	—	—	—	—	—
8	+++	—	—	—	—	—	—
9	++++	++++	++++	+++	+	—	—
10	++++	++++	++++	+++	—	—	—

Как видно из таблицы, в опытной группе титр антител у отдельных животных доходил до 320 МЕ, тогда как в контрольной – до 40 МЕ.

Влияние азотнокислого лантана на коэффициент массы селезенки

В опытах на мышах определяли относительную массу (коэффициент) селезенки, учитывая, что изменение массы органа, как правило, связано с изменением его функциональных способностей при антигенной нагрузке. В таблице 4 представлены результаты опыта по изучению влияния различных доз АКЛ на коэффициент массы селезенки у белых беспородных мышей, сенсibilизированных бруцеллезным антигеном.

Таблица 4 – Результаты исследования «коэффициента селезенки» на различные дозы АКЛ

№ пп	Вес (мг)		Коэффициент
	мыши	селезенки	
антиген 100 млн м.к. (0,1 мл) + АКЛ 200 мкг/мл (0,1 мл)			
1 гр. (n=10)	27857,1±2241	233,3±42	0,83±0,1
антиген 100 млн м.к. (0,1 мл) + АКЛ 400 мкг/мл (0,1 мл)			
2 гр. (n=10)	24142,9±1033	240,7±45	0,98±0,2
антиген 100 млн м.к. (0,1 мл) + АКЛ 800 мкг/мл (0,1 мл)			
3 гр. (n=10)	24714,3±1304	276,6±39	1,12±0,2
антиген 100 млн м.к. (контроль)			
4 гр. (n=10)	32142,9±1010	101,4±6	0,31±0,0

Судя по таблице, коэффициенты массы селезенок во 2-й группе в 3, и в 3-й группе в 4 раза превышают контрольные показатели (рис. 4.).

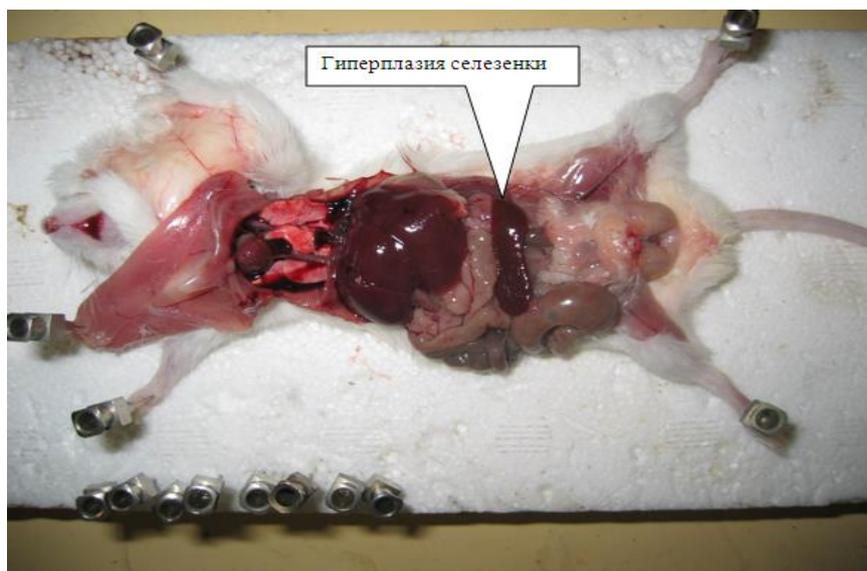


Рисунок 5 – Увеличенная селезенка у мыши

На рисунке 5 представлена фотография подопытной мыши с увеличенной под воздействием антигенной нагрузки селезенкой.

Таким образом, АКЛ в дозе 800 мкг/мл существенно увеличивает функциональную активность селезенки, сопровождаемую гиперплазией под воздействием бруцеллезного антигена.

Влияние азотнокислого лантана на показатели фагоцитоза

В нагрузочном тесте по изучению влияния азотнокислого лантана на показатели фагоцитарной реакции использовали пробы крови крупного рогатого скота больных лейкозом и здоровых животных

Перед проведением реакции определения фагоцитарной активности (ФА) образцы крови инкубировали с АКЛ в течение 30 мин. при 37⁰С. Определение ФА проводили по стандартной методике с частицами латекса (1,0x10⁶). Учет результатов проводили по формуле:

$$I_c = P_n / P_0,$$

где I_c – индекс стимуляции; P_n – параметры реакции с АКЛ;

P_0 – параметры реакции без АКЛ.

Как видно из данных таблицы 5, азотнокислый лантан повышает фагоцитарную активность нейтрофилов *in vitro* ($I_c=2,1\pm 0,2$), причем более выраженная реакция при дозе АКЛ 50 мкг/мл.

Таблица 5 – Влияние азотнокислого лантана на показатели фагоцитоза у больных лейкозом и здоровых бычков (n = 11)

Группа животных	n = 11	Контроль без АКЛ	Доза АКЛ (мкг/мл)		
			100	50	Ис
Опытная группа	1	24	23	39	1,6
	2	22	28	41	1,9
	3	25	33	52	2,1
	4	24	64	62	2,6
	5	21	20	31	1,5
	6	26	39	54	2,1
	7	20	42	54	2,7
	8	22	52	60	2,7
	M±m	23±0,8	38±6	49±4	2,1±0,2
Контрольная группа	1	23	16	26	1,1
	2	20	28	41	2,1
	3	26	33	41	1,6
	M±m	23±2	26, ±6	36±5	1,6±0,3

Примечание * - достоверность разницы показателей фагоцитарной реакции с азотнокислым лантаном и без него ($P \leq 0,05$)

Таким образом, по нашим данным, азотнокислый лантан влияет на иммунобиологическую реактивность лабораторных животных, причем это воздействие зависит от метода, дозы и схемы введения.

Комплексное средство на основе азотнокислого лантана для профилактики маститов у крупного рогатого скота

С целью получения комплексного профилактического средства, имеющего оптимальные показатели качества, нами была выбрана композиция, имеющая следующий ингредиентный состав в мас %: - глицерин – 7,0; АКЛ – 2,5; триэтиленгликоль – 55,0; полиэтиленгликоль – 18; масло расторопши – 2,0; масло облепихи – 2,0; этиловый спирт – 5,0; гидроокись калия - 0,6; вода до 100 процентов.

Определение бактерицидных свойств защитно-профилактического средства в отношении тест-культуры микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus aagalactia* ATCC 12386), установлено, что профилактическое средство на основе АКЛ в концентрации 0,1 % обладало плохо выраженными

бактерицидными свойствами, концентрация 2% вызывала гибель 80% бактерий, а 4% вызывала 100% гибель стафилококков и стрептококков в жидкой питательной среде.

При изучении защитно-профилактического средства с АКЛ в производственных условиях установлено, что он хорошо впитывается в поверхность, не реактогенен, кожа молочной железы становится упругой и эластичной, не вызывает раздражающего действия, мелкие царапины, микротрещины и ссадины, являющиеся воротами инфекции, заживают в течение 3-4 дней. После недели применения, КОЕ в 1 мл смыва у коров, обработанных средством, снизилось с 1850 ± 156 до 97 ± 10 , в то же время у животных, не подвергавшихся обработке данным средством КОЕ в 1 мл, колебалось от 1600 до 2100.

В период шестимесячного применения защитно-профилактического средства с АКЛ у коров не было выявлено случаев заболевания маститом. В контрольной группе из 80 голов у 6 коров было отмечено начало развития серозного воспаления вымени. У одного животного, несмотря на лечение, серозное воспаление перешло в катаральную стадию.

В результате исследований установлено, что комплексное профилактическое средство на основе АКЛ может применяться не только для профилактики маститов, но и для лечения начальных стадий развития заболевания в фазе серозного воспаления.

По результатам проведенных исследований подана заявка на изобретение и получен патент на Средство для профилактики маститов у крупного рогатого скота №2605631.

Защитно-профилактического средства с АКЛ для защиты кожных покровов домашних животных от неблагоприятных факторов внешней среды

На основе АКЛ, было разработано средство для защиты кожных покровов мелких домашних животных от неблагоприятных факторов внешней среды. В состав данного средства входили следующие ингредиенты: азотнокислый лантан

1,0%; триэтиленгликоль 60%; полиэтиленгликоль-400 35%; 1% водный раствор хитозана 1,0%; ланолин 1%; глицерин 2%. В отличие от профилактического средства против маститов, в состав средства «Вилпран-вет» дополнительно входили: ланолин, способствующий удержанию влаги и образованию защитной пленки на поверхности кожи, предохраняющей от воздействия холода и кислоторастворимый хитозан для повышения регенерирующей и бактерицидной способности тканей.

Изучение возможности профилактики трансдермального заражения бруцеллами

При серологическом исследовании в РА и РСК все животные, подвергнутые трансдермальному заражению бруцеллами, реагировали на бруцеллез положительно, в то же время титр антител в РА у контрольных животных был на порядок выше, чем у опытных морских свинок, соответственно 288 ± 64 МЕ и 144 ± 16 МЕ (табл. 6).

При бактериологическом исследовании установлено, что животные заразились как в опытной (рис. 5), так и в контрольной (рис. 6) группах, однако индекс инфицированности у морских свинок, обработанных защитным средством на основе АКЛ был почти в 2 раза меньше, чем у контрольных, соответственно $32 \pm 5\%$ и $60 \pm 3\%$.

Таблица 6 – Серологические реакции и индекс инфицированности у морских свинок, зараженных бруцеллезом трансдермально после обработки профилактическим средством на основе АКЛ (n=10)

В среднем	Серологические исследования			Заразилось:		Индекс инфицированности
	РБП	титр антител в:		Регионально	Генерализованно	
		РСК	РА			
морские свинки, обработанные защитным средством на основе АКЛ (n = 5)						
M±m	+	1:6±1	144±16	4	1	32±5*
контрольные животные (n = 5)						
M±m	+	1:9±1	288±64	1	4	60±3*

*P ≤ 0,05

На рисунках 5 и 6 показана характерная патологоанатомическая картина у опытной и контрольной морской свинки.

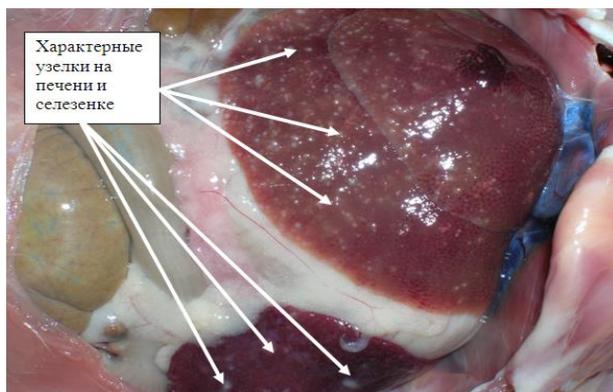


Рисунок 5 – Характерные узелки на печени и селезенке

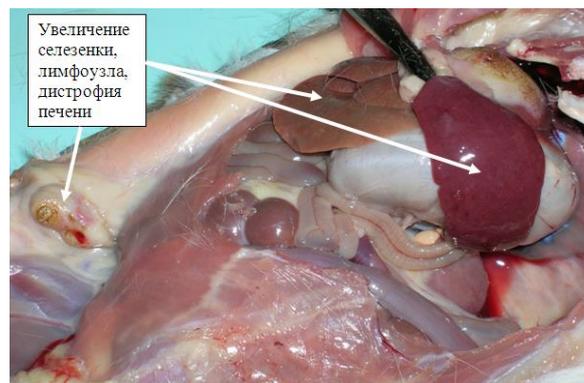


Рисунок 6 – Увеличение селезенки, правого пахового лимфатического узла, дистрофия печени

Испытание профилактического средства на основе азотнокислого лантана на мелких домашних животных

Свойства защитно-профилактического средства на основе лантанидов изучали на 50 собаках массой тела от 5 до 40 кг, разного пола и возраста.

Установлено, что применение данного средства при лечении лабораторных животных и собак с повреждениями кожи травматического характера различного происхождения, а также с не идентифицированными воспалительными реакциями кожи, ускоряет регенерацию ран поврежденных участков кожи, профилактирует инфицирование кожного покрова, снимает аллергические и воспалительные реакции.

При использовании данного средства заживление ран, ушибов, ссадин, язв и других повреждений кожи происходило на 3-5 дней быстрее, чем в контрольной группе. Кроме того, данное средство испытывали с положительным эффектом для предохранения лап собак от вредного воздействия окружающей среды, а также как средство от зуда.

Изучение защитно-профилактического средства на основе АКЛ для профилактики и лечения кожной патологии сельскохозяйственных животных

В связи с большой эффективностью профилактического средства при

лечения воспалений, травм, ушибов, отеков, ожогов, пролежней и др., были изучены его свойства на сельскохозяйственных животных.

В Раменской городской станции по борьбе с болезнями животных (РГ СББЖ) и в хозяйстве племзавода «Раменское» при испытании средства на лошадях с рваными ранами в области предплечья и на холке было установлено его положительное действие, которое выразилось в ускоренной грануляции и эпителизации кожи. На 7-8 день после начала лечения раны затянулись, и кожа постепенно стала обрастать шерстью.

В опыте на подсвинках и свиноматках (30 гол.) с положительным эффектом изучали разработанное средства для лечения ран, ссадин на коже в разных областях тела животных. Особенно была выражена эффективность средства при лечении супоросных и подсосных свиноматок с поражениями кожи в области молочных желез. Заживление ран и исчезновение воспаления кожи происходило после трех-пяти аппликаций средства на пораженную область.

Таким образом, сфера применения лантаноидов в ветеринарии очень обширна. Их уникальные свойства находят все новые области применения. Использование редкоземельных элементов, в частности, лантаноидов в качестве естественных регуляторов биохимических процессов, протекающих в живом организме, имеет широкие перспективы, как в научных исследованиях, так и в разработке новых лекарственных средств для ветеринарии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов исследований были сделаны выводы:

1. Установлено, что азотнокислый лантан, в концентрации 2-3% обладает угнетающим действием на рост стафилококков, стрептококков и бруцелл. При этом наибольшее угнетающее действие соли лантана оказывали на бруцелл вакцинного штамма *B. abortus 19*.

2. В эксперименте на лабораторных животных установлено, что обработка кожи животных двухпроцентным азотнокислым лантаном, в 1,5-2 раза снижает кожную реакцию гиперчувствительности немедленного типа.

3. Азотнокислый лантан в дозе 800 мкг/мл стимулирует антителогенез у лабораторных животных, в 2 раза повышая по сравнению с контролем титры антител к бруцеллам вакцинного штамма.

4. Азотнокислый лантан существенно, ($I_c=2,1$) повышает фагоцитарную активность нейтрофилов здорового и больного лейкозом крупного рогатого скота *in vitro*, причем более выраженная реакция при дозе АКЛ 50 мкг/мл.

5. Разработан состав, (глицерин; азотнокислый лантан; триэтиленгликоль; полиэтиленгликоль; масло расторопши; масло облепихи; этиловый спирт; гидроокись калия; вода очищенная) и исследована жидкая и мазевая форма комплексного препарата на основе АКЛ для профилактики и лечения маститов у дойного поголовья крупного рогатого скота, эффективность которого подтверждена результатами производственных испытаний.

6. Разработан комплексный препарат в составе азотнокислого лантана; триэтиленгликоля; полиэтиленгликоля; ланолина; глицерина, который обладает профилактическими и регенерирующими свойствами при кожной патологии у мелких домашних и сельскохозяйственных животных.

7. Защитно-профилактическое средство на основе АКЛ в 2 раза ускоряет сроки регенерации ран у лабораторных животных и собак.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработанная нормативная документация, утвержденная в установленном порядке на Секции Зоотехния и ветеринария, отделения сельскохозяйственных наук РАН: Разработка, изучение и применение защитно-профилактического средства на основе солей лантаноидов для профилактики мастита и защиты кожных покровов животных от неблагоприятных факторов внешней среды /Искандарова С.С., Федоров А.И., Искандаров М.И., Гулюкин М.И.// Научно-обоснованная система противоэпизоотических мероприятий, и современные способы диагностики, специфической профилактики и лечения инфекционных болезней домашних животных (Практическое руководство). - Новосибирск: Изд-во: АНС "СибАК", 2019. – С. 206-226; могут быть рекомендованы для внедрения в производство и применения в ветеринарной практике.

2. Разработанная лекарственная форма препарата на основе редкоземельных металлов предложена для защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов внешней среды /Искандарова С.С., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., Федоров А.И., Искандаров М.И., Слепцов Е.С.,

Винокуров Н.В., Федоров В.И., Бочкарев И.И., Захарова О.И.// Новосибирск: Изд-во: АНС "СибАК", 2019. – 68 с.

3. «Технический регламент на Средство для профилактики маститов. Утвержден Ученым Советом ФГБНУ ВИЭВ 28.10.2015 г. Протокол №5;

4. Стандарт организации «Средство для профилактики маститов и защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов окружающей среды. Утвержден Ученым Советом ФНЦ ФГБНУ ВИЭВ РАН в 2018 г.;

5. Инструкция по применению «Средства для профилактики маститов и защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов внешней среды. Утвержден Ученым Советом ФНЦ ФГБНУ ВИЭВ РАН в 2018 г.

6. Получены патенты на изобретение:

- Средство для профилактики мастита у крупного рогатого скота /Искандарова С.С., Бондаренко В.З., Федоров А.И., Искандаров М.И., Горбатов А.В., Юмашева М.А., Альбертян М.П., Гулюкин М.И.//патент на изобретение RUS 2605631 28.10.2015;

- Средство для защиты лап собак от агрессивных факторов внешней среды /Гулюкин М.И., Федоров А.И., Искандарова С.С., Бондаренко В.З., Искандаров М.И., Имашева М.А. //патент на изобретение RUS 2589698 31.10.2014

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК

Министерства науки и высшего образования РФ

1. Искандарова, С.С. Средство на основе редкоземельных элементов для профилактики мастита у коров /Искандарова С.С., Федоров А.И., Искандаров М.И., Альбертян М.П.// Ветеринария, 2018. – № 12. – С. 9-12.
2. Искандарова, С.С. Новое направление в борьбе с маститами дойных животных /Искандарова С.С., Федоров А.И., Искандаров М.И., Ездакова И.Ю., Альбертян М.П. // Ветеринария и кормление, 2018. – № 4. – С. 16-18.
3. Искандарова, С.С. Влияние азотнокислого лантана на некоторые показатели специфического и неспецифического иммунитета /С.С. Искандарова// Ветеринария и кормление, 2018. – № 7. – С. 6-7.
4. Применение препарата, изготовленного на основе редкоземельных элементов, для профилактики и лечения маститов у коров /Бондаренко В.З., Скляр О.Д.,

Игнатова С.В., Фёдоров А.И., **Искандарова С.С.** и др.// Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2017. – № 69. – С. 213-219.

5. Влияние защитно-профилактического средства на основе лантаноидов на микрофлору кожных покровов /**Искандарова С.С.**, Федоров А.И., Бондаренко В.З., и др. // Ветеринария и кормление. 2017. № 4. С. 16-18.

6. Биологические свойства препаратов на основе редкоземельных элементов /Искандаров М.И., Федоров А.И., **Искандарова С.С.** и др. // Ветеринария и кормление, 2016. – № 3. – С. 13-15.

7. Лантаноиды: биологические свойства и применение /Федоров А.И., Искандаров М.И., **Искандарова С.С.** и др. // Ветеринария и кормление, 2014. – № 5. – С. 80-82.

8. Изучение защитно-профилактического крема "Вилпран" на лабораторных и сельскохозяйственных животных /**Искандарова С.С.**, Бондаренко В.З., Федоров А.И. и др. // Ветеринария и кормление, 2013. – № 4. – С. 43-45.

Патенты

9. Средство для профилактики мастита у крупного рогатого скота /**Искандарова С.С.**, Бондаренко В.З., Федоров А.И., и др. // Патент на изобретение RU 2605631 С1, 27.12.2016. –Заявка № 2015146409/10 от 28.10.2015.

10. Средство для защиты лап собак от агрессивных факторов внешней среды /Гулюкин М.И., Федоров А.И., **Искандарова С.С.** и др. // Патент на изобретение RU 2589698 С2, 10.07.2016. – Заявка № 2014144128/15 от 31.10.2014.

Публикации в материалах конференций и других научно-практических изданиях

11.Разработка лекарственной формы препарата на основе редкоземельных металлов для защиты кожных покровов от воздействия патогенной микрофлоры и неблагоприятных факторов внешней среды /**Искандарова С.С.**, Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., и др.// Методические указания. – Новосибирск: Изд-во: АНС "СибАК", 2019. – 68 с.

12.Искандарова, С.С. Разработка, изучение и применение защитно-профилактического средства на основе лантаноидов для профилактики мастита и защиты кожных покровов животных от неблагоприятных факторов внешней среды / **С.С. Искандарова**, А.И. Федоров, М.И. Искандаров, М.И. Гулюкин// Научно-обоснованная система противозооотических мероприятий, и современные способы диагностики, специфической профилактики и лечения

инфекционных болезней домашних животных (Практическое руководство). - Новосибирск: Изд-во: АНС "СибАК", 2019. – С. 206-226

13. Применение препарата, изготовленного на основе редкоземельных элементов для профилактики и лечения маститов у коров /Бондаренко В.З., Складов О.Д., Игнатова С.В., Фёдоров А.И., **Искандарова С.С.** и др. // Ветеринария Кубани, 2018. – № 4. – С. 8-11.

14. Средство для профилактики мастита у крупного рогатого скота /**Искандарова С.С.**, Бондаренко В.З., Федоров А.И. и др. // Изобретения. Полезные модели. – Официальный бюллетень Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам, 2016. – № 36. – С. 1-10.

15. Средство для защиты лап собак от агрессивных факторов внешней среды /Гулюкин М.И., Федоров А.И., **Искандарова С.С.** и др. // Изобретения. Полезные модели. – Официальный бюллетень Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам, 2016. – № 19. – С. 1-9.

16. Определение острой токсичности и кумулятивных свойств азотнокислого лантана /**Искандарова С.С.**, Федоров А.И., Искандаров М.И. и др. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2015. – Т. 78. – С. 234-240.

17. Оценка способности церия индуцировать доминантные летальные мутации /**Искандарова С.С.**, Бондаренко В.З., Искандаров М.И. и др. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2015. – Т. 78. – С. 241-245.

18. Изучение канцерогенной активности защитного средства Вилпран-вет /Федоров А.И., Искандаров М.И., **Искандарова С.С.** и др. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2015. – Т. 78.– С. 400-404.

19. Изучение безвредности и фармакологических свойств средства "Вилпран" на лабораторных и сельскохозяйственных животных /Бондаренко В.З., **Искандарова С.С.**, Федоров А.И. и др. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2013. – Т. 77. – С. 304-307.

20. Перспективы использования защитно-профилактического средства "Вилпран" в ветеринарной практике /Бондаренко В.З., Федоров А.И., **Искандарова С.С.** и др. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2013. – Т. 77. – С. 308-310.