

ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 619:615.33+619:616-07

doi: 10.30766/2072-9081.2018.65.4.93-97

Изучение цитокинотерапевтического действия диальдерона в схеме лечения крупного рогатого скота при заболевании, вызванном *Pseudomonas aeruginosa*

М.А. Азямов, Т.В. Агалакова

ФГБНУ "Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого", г. Киров, Российская Федерация

В статье представлены материалы по изучению цитокинотерапевтического действия диальдерона на показатели некоторых интерлейкинов и других факторов неспецифического иммунитета крупного рогатого скота при заболевании, вызванном *Pseudomonas aeruginosa*. Исследования выполняли на телятах в возрасте 2-2,5 месяцев. Животные были разделены на 3 группы по 20 голов в каждой, по принципу аналогов. В первую контрольную группу подобрали клинически здоровых животных. Телят 2-й подопытной группы, больных псевдомонозом (синегнойной инфекцией), лечили с применением антибиотиков и симптоматических средств по схеме: через день вводили антибиотик тобрамицина сульфат 0,5 мг/кг в сутки в течение недели, на следующий день – азитромицин (Азитромицин) по 2,0 мл внутримышечно в течение недели, кроме этого – триивит по 2,0 мл внутримышечно, по 450 мл 5%-й глюкозы на физрастворе внутривенно. Телятам 3-й подопытной группы, больным псевдомонозом, кроме антибиотикотерапии, дополнительно вводили диальдерон в дозе 200 мг на голову внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней. У животных 3-й подопытной группы на 5-е сутки наблюдали отсутствие симптомов ларинготрахеита и бронхита в отличие от телят 2-й подопытной группы. На 18-е сутки у телят 3-й подопытной группы отмечали нормализацию количества лейкоцитов, лимфоцитов и эритроцитов, снижение СОЭ с 27,8±0,04 до 9,2±0,52 мм/ч ($P<0,05$), повышение в сыворотке крови уровня неспецифических факторов иммунитета: интерлейкина-2, интерлейкина-4 (с 1,6±0,02 до 5,4±0,18 пг/мл) и интерлейкина-6 (с 9,2±0,08 до 30,4±0,02 пг/мл) до нормальных физиологических значений здоровых животных, что подтверждалось усилением синтеза в организме телят гамма-глобулинов (54,8±0,5 мг/дл), повышением цитолитической и фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и лейкоцитов и подавлением синтеза токсинов *Pseudomonas aeruginosa*, что приводило к гибели синегнойной палочки в организме телят после комплексного лечения антибиотиками и диальдероном. Из биоматериала от животных 3-й подопытной группы культур *Pseudomonas aeruginosa* не выделяли в отличие от телят 2-й подопытной группы.

Ключевые слова: декагидроксипролина-2деценогидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат, интерлейкины, лейкоциты, липоксигеназа, маркеры, синегнойная инфекция, телята

Псевдомоноз (синегнойная инфекция) – распространенное инфекционное заболевание насекомых, рыб, птиц, животных и человека. Псевдомоноз вызывается *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойной палочкой) и проявляется у молодняка сельскохозяйственных животных в виде бронхитов, пневмоний, артритов и энтеритов.

Благодаря широкому и не всегда оправданному применению антибиотиков и гормональных препаратов в условиях сельскохозяйственных предприятий наблюдается селекция резистентных штаммов синегнойной палочки. Высокая устойчивость, широкое распространение в окружающей среде, многообразие продуцируемых токсинов создает предпосылку для усиления этиологической роли *Pseudomonas aeruginosa* в возникновении бронхитов, пневмоний, маститов, эндометритов и сальпингитов у животных.

Учитывая устойчивость возбудителя к антибиотикам и химическим дезсредствам, псевдомоноз сложно купировать и полностью эlimинировать возбудителя в организме.

Кроме высокой устойчивости, синегнойная палочка продуцирует большое количество токсинов. Факторы патогенности *Pseudomonas aeruginosa*, такие как экзотоксин A, экзоэнзим S и эластаза подавляют синтез антител, вызывают иммунодефицитные состояния и снижают продолжительность поствакцинального иммунитета. Нейротоксин и гемолизины вызывают биохимическую деградацию иммуноглобулинов A, G1, G2, гаммаинтерферонов и значительно снижают фагоцитоз и гемопоэз [1, 2].

Несмотря на значительные успехи в области специфической профилактики и терапии псевдомоноза, многие исследователи склоняются к мнению, что в лечении животных при данном заболевании основная роль принадлежит неспециальному клеточному иммунитету. Поэтому важная роль в лечении и профилактике псевдомоноза отводится цитокинотерапии. Многие авторы отмечают усиление компенсирующего действия интерлейкинов при воспалительной реакции в организме [3, 4]. Липополи-

сахариды и муцин синегнойной палочки являются одними из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов. Интерлейкины не только способны стимулировать антигензависимые процессы в иммунной системе, но и оказывать плеiotропное действие на многие типы клеток-мишеней, активируя их пролиферацию и функциональную активность [5]. В частности, интерлейкин-2 не только активирует пролиферацию Т-хеллеров, усиливает биосинтез гаммаинтерферона и иммуноглобулинов, но и повышает цитолитическую активность NK-клеток и нормализует уровень гормона дегидроэпиандростерона в организме, улучшая элиминацию возбудителя в организме животных [6].

Интерлейкин-4 не только усиливает продукцию иммуноглобулина Е, но и резко повышает активность альвеолярных макрофагов, что чрезвычайно важно при лечении респираторных форм псевдомоноза.

При выработке интерлейкина-6, кроме усиления дифференциации В-лимфоцитов резко подавляется выработка гемолизинов и эластаз *Pseudomonas aeruginosa* (активируется гемопоэз) и усиливается завершенный фагоцитоз за счет внутриклеточных пирогенных свойств интерлейкина-6 [7, 8].

Таким образом, определение вышеуказанных лимфокинов при цитокинотерапии от псевдомоноза имеет научный и практический интерес в ветеринарии.

Сотрудниками лаборатории ветеринарной иммунологии ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока был синтезирован диальдерон (декагидрокапролина-2деценогидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат) – новый комплексный иммунокорректирующий препарат [9]. На модели состояния иммуносупрессии у белых мышей препарат активировал клеточный иммунитет по ТН1 типу с преобладанием субпопуляции Т-хеллеров (CD^4) и зрелых Т-лимфоцитов (CD^{3+25}), стимулировал синтез гаммаинтерферона, фактора некроза опухоли и интерлейкинов 2 и 6. Способность диальдерона к быстрой регенерации тканей и устранению этиопатогенетических факторов (гнойного воспаления, микробных клеток и некротических детритов) объясняется активацией ТН1 субпопуляции лимфоцитов, которые стимулируют выработку противовоспалительных цитокинов.

Цель исследования – изучить цитокинотерапевтическое действие диальдерона на показатели некоторых интерлейкинов и популя-

ций иммунокомpetентных клеток крови при лечении крупного рогатого скота от заболевания, вызванного *Pseudomonas aeruginosa*.

Материал и методы.

Научно-хозяйственные опыты проводили на телятах в возрасте 2-2,5 месяцев, больных псевдомонозом. Животные были разделены на 3 группы по 20 голов в каждой, по принципу аналогов. В первую контрольную группу подобрали клинически здоровых телят. Животных 2-й подопытной группы, больных псевдомонозом, лечили по схеме: через день вводили антибиотик тобрамицин сульфат 0,5 мг/кг в сутки в течение недели, на следующий день – азитромицин (Азитронит) по 2,0 мл внутримышечно в течение недели, кроме этого – тривит по 2,0 мл внутримышечно, глюкозу по 450 мл (в виде 5%-го раствора) внутривенно. Телятам 3-й подопытной группы, кроме антибиотикотерапии, дополнительно вводили диальдерон в дозе 200 мг на голову внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней.

Количество лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов и уровень СОЭ определяли в соответствии с утвержденными методиками [10].

Уровень интерлейкина-2, интерлейкина-4, интерлейкина-6 определяли методом иммуноферментного анализа диагностиками «Cusabio Biotech Co» (Китай) на микропланшетниках Zenyth 340 (Anthos), CM-22 SOLOR (Беларусь). Липоксигеназу и количество иммуноглобулинов в крови телят определяли методом ИФА диагностиками «Cusabio Biotech Co» (Китай). Действие диальдерона на организм исследовали по показателям крови и маркерам воспаления у телят, больных псевдомонозом, на 18-й день после курса лечения.

Статистическую обработку данных проводили в программе «Statistica 5,0» [11].

Результаты и их обсуждение.

Псевдомоноз у телят проявлялся в форме ларинготрахеитов и бронхитов с сильным истечением из носовой полости, кашлем, одышкой, истощением. Температура не повышалась выше 40⁰С. Из истечений из носовой полости и бронхиального лаважа выделялась патогенная для белых мышей культура *Pseudomonas aeruginosa* (серотип ОЗ по Habs). Выделенная культура образовывала β-гемолизин, эластазу и экзотоксин А.

У больных животных второй и третьей групп наблюдались невысокая лейкопения, лимфоцитоз и сильное снижение эритроцитов ввиду продукции токсинов культурами синегнойной палочки (табл.).

Таблица
Влияние диальдерона на показатели неспецифического иммунитета у крупного рогатого скота при синегнойной инфекции (n = 20)

Показатели иммунитета	1-е сутки			18-е сутки		
	1 контрольная здоровые	2 подопытная антибиотико-терапия	3 подопытная антибиотико-терапия + диальдерон	1 контрольная здоровые	2 подопытная антибиотико-терапия	3 подопытная антибиотико-терапия + диальдерон
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	9,58±0,06	5,8±0,04*	5,6±0,08*	9,24±0,08	6,2±0,05*	9,64±0,05*
Лимфоциты, %	51,4±0,11	68,8±0,25*	69,5±0,25*	52,2±0,04	72,1±0,14*	52,2±0,24*
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	7,6±0,05	3,4±0,12*	3,2±0,08*	7,5±0,04	4,6±0,05*	7,8±0,08*
СОЭ, мм/ч	8,0±1,2	29,4±0,08*	27,8±0,04*	8,1±0,8	18,5±0,12*	9,2±0,52*
Гамма глобулины, мг/дл	56,5±0,2	21,4±0,1*	22,6±0,5*	57,2±0,4	26,4±0,2*	54,8±0,5*
Липоксигеназа, пг/мл	0,82±0,02	1,9±0,05*	2,1±0,01*	0,78±0,05	2,2±0,04*	0,76±0,01*
Интерлейкин-2, пг/мл	7,8±0,11	3,6±0,05*	3,5±0,04*	7,9±0,14	3,8±0,12*	8,1±0,04*
Интерлейкин-4, пг/мл	5,6±0,15	1,7±0,15*	1,6±0,02*	6,2±0,12	2,2±0,08*	5,4±0,18*
Интерлейкин-6, пг/мл	28,24±0,05	9,5±0,04*	9,2±0,08*	31,25±0,08	8,9±0,11*	30,4±0,02*

* достоверно при $P<0,05$

У больных телят были повышенены СОЭ (до $29,4\pm0,08$ мм/ч), маркер воспаления липоксигеназа ($2,1\pm0,01$ пг/мл), снижены интерлейкин-2, интерлейкин-4, интерлейкин-6 и количество гамма-глобулинов в сыворотке крови.

На 5-е сутки лечения у животных 3-й подопытной группы (с применением диальдерона) купировались симптомы ларинготрахеита и бронхита: не отмечали напряженного дыхания, кашля, истечений из носовой полости. У телят 2-й подопытной группы сохранялась одышка и кашель, животные были угнетены, иногда отказывались от корма.

Через 18 суток от начала проведения лечения у телят 2-й подопытной группы сохранилось напряженное дыхание и кашель. Были исследованы некоторые показатели популяций иммунокомпетентных клеток и ряд маркеров иммунитета в сыворотке крови (табл.). Антибиотикотерапия у телят 2-й подопытной группы не устранила лимфоцитоз ($72,1\pm0,14\%$), разрушения эритроцитов ($4,6\pm0,05\times10^{12}/\text{л}$), не снижала воспаления (липоксигеназа $2,2\pm0,04$ пг/мл) и не вызывала повышения интерлейкинов 2, 4, 6 (с $9,5\pm0,04$ до $8,9\pm0,11$ пг/мл), незначительно снижала СОЭ. У животных 2-й подопытной группы из истечений носовой полости и бронхиального лаважа продолжали выделяться патогенные для белых мышей культуры *Pseudomonas aeruginosa* О3 серотипа.

У животных 3-й подопытной группы уже на 5-е сутки наблюдали отсутствие симптомов ларинготрахеита и бронхита, а на 18-е сутки отмечали нормализацию количества лейкоцитов, лимфоцитов и эритроцитов, а также снижение СОЭ с $27,8\pm0,04$ до $9,2\pm0,52$ мм/ч ($P<0,05$). При исследовании сыворотки крови подопытных телят увеличивался уровень неспецифических факторов иммунитета: маркеров интерлейкина-2, интерлейкина-4 (с $1,6\pm0,02$ до $5,4\pm0,18$ пг/мл) и интерлейкина-6 (с $9,2\pm0,08$ до $30,4\pm0,02$ пг/мл) до нормальных физиологических значений здоровых животных (табл.), что подтверждалось усилением синтеза в организме телят гамма-глобулинов ($54,8\pm0,5$ мг/дл), повышением цитолитической и фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и лейкоцитов, подавлением синтеза токсинов *Pseudomonas aeruginosa*, приводящего к гибели синегнойной палочки в организме телят после комплексного лечения антибиотиками и диальдероном. Увеличение уровня противовоспалительного интерлейкина-6 в сыворотке крови не вызывало повышения маркера воспаления

липоксигеназы ($0,76 \pm 0,01$ пг/мл), что указывало на элиминацию возбудителя. Действительно, из биоматериала от животных 3-й подопытной группы культур *Pseudomonas aeruginosa* не выделяли, в отличие от телят 2-й подопытной группы, контаминированных синегнойной палочкой.

Выходы. Применение курса диальдерона в дозе 200 мг на голову при псевдомонозе у телят на 5-е сутки купировало симптомы заболевания, на 18-е сутки нормализовало количество иммунокомпетентных клеток крови и уровень маркеров воспаления, повышало выработку неспецифических факторов иммунитета: интерлейкина-2, интерлейкина-4, интерлейкина-6 (с $9,2 \pm 0,08$ до $30,4 \pm 0,02$ пг/мл) в крови и вызывало полную элиминацию *Pseudomonas aeruginosa* в организме животных.

Полученные при исследовании данные подтверждают целесообразность применения цитокинотерапии при псевдомонозе молодняка крупного рогатого скота.

Список литературы

- Лазарева А.В., Чеботарь О.А., Крыжановская О.А., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015. Т. 17. №3. С. 170-186.
- Kang C.I., Kim S.H., Kim H.B., Park S.W., Choe Y.J., Oh M.D., Kim E.C., Choe K.W. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome // Clin Infect Dis. 2003. №37. P. 745-751.
- Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: ESKAPE // J Infect Dis. 2008. №197(8). P. 1079-1081.
- Pier G.B. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: A major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity // Int J Med Microbiol. 2007. №297(5). P. 277-295.
- Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. 2002. №1. С. 9-17.
- Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* // Clin Microbiol Infect. 2005. №11 (Suppl. 4). P. 17-31.
- Morlon-Guyot J., Mere J., Bonhoure A., Beaumelle B. Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication // Infection and immunity. 2009. №77(7). P. 3090-3099.
- Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии // Цитокины и воспаление. 2002. №1. С. 38-45.
- Азяров М.А., Агалакова Т.В. Иммунокорректирующие свойства нового препарата диальдерон // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы XIX Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию образования кафедр биотехнологии и ветеринарной медицины и кормления и разведения с.-х. животных УО «Белорусская ГСХА». г. Горки, 2-3 июня 2016 г. Горки: БГСХА, 2016. С. 19-23.
- Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А.Г. Шахов [и др.] Воронеж, 2005. 115 с.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002. 312 с.

Сведения об авторах:

Азяров Михаил Андреевич, кандидат вет. наук, зав. лабораторией,
Агалакова Татьяна Владимировна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник,
e-mail: agalakovatv@mail.ru

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail:priemnaya@fanc-sv.ru

Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka, 2018. Vol. 65, no. 4, pp. 93-97.

doi: 10.30766/2072-9081.2018.65.4.93-97

Study of cytokine therapeutic effect of dyalderon in the scheme of treatment of cattle for disease caused by *Pseudomonas aeruginosa*

М.А. Азяров, Т.В. Агалакова

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V.Rudnitsky, Kirov, Russian Federation

The article covers information on the study of cytokine therapeutic effect of dyalderon on some interleukin indices and other nonspecific immunity factors in *Pseudomonas aeruginosa*-infected cattle. The research was conducted on calves aged 2-2.5 months. They were divided into 3 groups 20 animals each, according to analogue principle. The first group included clinically healthy animals. The calves of the 2-nd experimental group ill with pseudomonosis were treated using antibiotics and symptomatic medications according to the following scheme: in a day they were administered tobramycin sulfate in a dose of 0.5 mg/kg per day during a week, the next day they were

given azithromycin (Azitronite) at a dose of 2.0 ml, intramuscularly, during a week, in addition, they were given trivitum at a dose of 2.0 ml intramuscularly, 450 ml of 5% glucose in normal saline intravenously. Pseudomonosis-infected calves of the 3-d experimental group in addition to antibiotic therapy were given dyalderon at a dose of 200 mg per 1 head intramuscularly, once a day during 7 days. On the fifth day animals of the 3-d experimental group showed absence of laryngotracheitis and bronchitis symptoms as opposed to the 2-nd experimental group calves. On the 18-th day calves of the 3-d experimental group showed normalization of white blood cells, lymphocytes and red blood cells count, ESR (blood sedimentation rate) decreased from 27.8 ± 0.04 to 9.2 ± 0.52 mm/h ($P < 0.05$), the level of non-specific immunity factors in blood serum increased: interleukin-2, interleukin-4 (from 1.6 ± 0.02 to 5.4 ± 0.18 pg/ml) and interleukin-6 (from 9.2 ± 0.08 to 30.4 ± 0.02 pg/ml) to normal physiological indices of healthy animals. It was proved by strengthening gammaglobulin synthesis in calves (54.8 ± 0.5 mg/dL), by rise in cytolytic and phagocytic activity of alveolar macrophages and leucocytes and by suppression of *Pseudomonas aeruginosa* toxin synthesis, that led to death of *Pseudomonas aeruginosa* in calves after combination therapy with antibiotics and dyalderon. *Pseudomonas aeruginosa* culture was not isolated from the biomaterial of 3-d experimental group animals as opposed to the calves of the 2-nd experimental group.

Key words: *dyalderon, interleukins, leucocytes, lipoxygenase, markers, Pseudomonas aeruginosa, calves*

References

1. Lazareva A.V., Chebotar' O.A., Kryzhanovskaya O.A., Mayanskiy N.A. *Pseudomonas aeruginosa: patogennost', patogenez i patologiya*. [Pseudomonas aeruginosa: pathogenicity, pathogenesis and pathology]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015. Vol. 17. no. 3. pp. 170-186.
2. Kang C.I., Kim S.H., Kim H.B., Park S.W., Choe Y.J., Oh M.D., Kim E.C., Choe K.W. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin Infect Dis*. 2003. no.37. pp. 745-751.
3. Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: ESKAPE. *J Infect Dis*. 2008. no.197(8). pp. 1079-1081.
4. Pier G.B. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: A major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. *Int J Med Microbiol*. 2007. no. 297(5). pp. 277-295.
5. Simbirtsev A.S. *Tsitokiny – novaya sistema reguljatsii zashchitnykh reaktsiy organizma*. [Cytokines – a new system of regulation of protective reactions of the organism] *Tsitokiny i vospalenie*. 2002. no.1. S. 9-17.
6. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect*. 2005. no.11 (Suppl. 4). pp. 17-31.
7. Morlon-Guyot J., Mere J., Bonhoure A., Beaumelle B. Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication. *Infection and immunity*. 2009. no. 77(7). pp. 3090-3099.
8. Ostanin A.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A. *Tsitokin-oposredovannye mehanizmy razvitiya systemnoy immunosupressii*. [Cytokine-mediated mechanisms of systemic immunosuppression development]. *Tsitokiny i vospalenie*. 2002. no. 1. pp. 38-45.
9. Azyamov M.A., Agalakova T.V. *Immunokorektiruyushchie svoystva novogo preparata dial'deron*. [Immunocorrective properties of new drug dyalderon]. *Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva: materialy XIX Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 90-letiyu obrazovaniya kafedr biotekhnologii i veterinarnoy meditsiny i kormleniya i razvedeniya s.-kh. zhivotnykh UO «Beloruskaya GSKhA»*. g. Gorki, 2-3 iyunya 2016 g. [Actual problems of intensive livestock development: Proceedings of the XIX International scientific-practical Conference dedicated to the 90th anniversary of the departments of biotechnology and veterinary medicine and feeding and breeding of agricultural animals chair of EE "Belarusian state agricultural Academy". G. Gorki, 2-3 June 2016]. Gorki: BGSKhA, 2016. pp. 19-23.
10. Shakhov A.G., Mas'yanov Yu.N., Retskiy M.I., Brigadirov Yu.N., Anufriev A.I., Belyaev V.I., Zolotarev A.I., Bliznetsova G.N., Buzlama V.S., Suleymannov S.A., Fedorov Yu.N., Borzenko E.V., Khanis A.Yu., Borzenko T.V., Artemov B.T., Efanova L.I., Manzhurina O.A., Panin A.N., Makarov Yu.A., Donnik I.M., Tatarchuk A.T., Gorlov I.F., Balakin N.A., Mayorov A.I., Emel'yanenko P.A., Kirillov A.K., Mayorov M.A., Goryachev A.A., Evdokimov V.V., Voronin E.S., Sisyagin P.N., Isaev V.V., Redzhepova G.R., Gorbunov A.P., Boyarintsev L.E., Klimenko V.V., Kaverin N.N., Artem'eva S.S., Topuriya G.M., Topuriya L.Yu., Zhukov A.P., Kalyuzhnyy I.I., Mamaev N.Kh., Dzhamuludinova I.N. *Metodicheskie rekomendatsii po otsenke i korrektsii immunnogo statusa zhivotnykh*. [Guidelines for the evaluation and correction of immune status of animals]. Voronezh, 2005. 115 p.
11. Rebrova O.Yu. *Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA*. [Statistical analysis of medical data. Application of STATISTICA applied software package]. Moscow: MediaSfera, 2002. 312 p.

Information about the authors:

M.A. Azyamov, PhD in Veterinary, head of the laboratory,
T.V. Agalakova, PhD in Biology, senior researcher, e-mail: agalakovatv@mail.ru

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Lenina str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru