

*На правах рукописи*

Иванов Дмитрий Валерьевич

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ХИТОЗАНА НА  
АКТИВНОСТЬ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ ОРГАНИЗМА  
У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

03.03.01 - физиология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Боровск - 2010

Диссертационная работа выполнена на кафедре нормальной и патологической морфологии и физиологии животных ФГОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия»

**Научный руководитель -** доктор биологических наук, профессор  
**Ващекин Егор Павлович**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Грушкин Александр Георгиевич**  
доктор биологических наук  
**Решетов Вадим Борисович**

**Ведущая организация:** ФГОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «30» июня 2010 года в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 006.030.01 во Всероссийском научно-исследовательском институте физиологии биохимии и питания сельскохозяйственных животных.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных».

Адрес института: 249013, Калужская область, г. Боровск, пос. Институт, ВНИИФБиП с.-х. животных. Телефон - 8(495)-996-3415, факс 8(48438)-42088

Автореферат диссертации разослан «\_»\_\_\_\_\_2010 года и размещен на официальном сайте института [www.bifip2006.narod.ru](http://www.bifip2006.narod.ru) -

«\_»\_\_\_\_\_2010 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

В.П. Лазаренко

# 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

## Актуальность темы.

Основой здоровья и возможности реализации продуктивного потенциала сельскохозяйственных животных является высокий уровень естественной резистентности и иммунного статуса их организма. Технологические стрессы, повышенный уровень облучения инкорпорированными радионуклидами и другие неблагоприятные факторы внешней среды вызывают у животных отставание в росте и развитии, снижение продуктивности и появление вторичных иммунодефицитов.

Недостаточность защитных механизмов организма приводит к повышению уровня заболеваемости животных, невозможности адекватного ответа на чужеродные антигены, в том числе, вводимые при иммунизациях (В.Г. Маренков, 2004; Ю.Н. Фёдоров, 2005, 2009; Н.В. Самбуров, 2006 и др.). Иммунизация дает возможность предотвратить появление энзоотий, разорвать энзоотическую цепь, что особенно важно в отношении таких часто встречающихся заболеваний, как пастереллёз и лептоспироз (Н.Б. Черных, 1981; В. Гневашев, В. Русалеев, О. Прунтова, 2007). Животные неоднородны по величине иммунного ответа на иммунизацию, вплоть до полного его отсутствия (Н.И. Землянская, 2005; П.А. Кузнецов, А.И. Албулов, В.И. Клюкина и др., 2007), в некоторых случаях обнаруживается иммуносупрессия (В.В. Шейбак и др., 1989), снижение естественной резистентности (А.В. Кривопушкин, 2009). В связи с этим актуально изыскание биологически активных веществ (БАВ), под влиянием которых возможна активация защитных сил организма животных. Установлено, что препараты на основе полисахаридов активизируют защитные силы организма (В.Н. Голубев, Н.П. Шелухина, 1995; D. Renn, 1993). Хитозан является природным полисахаридом, он для организма животного биосовместим и биоразрушаем до нетоксичных веществ (R.A.A. Muzzarelli, 1973, T. Chakraborty, S. Ghosh, S.P. Moulik, 2005). Препараты хитозана, использованные в качестве адъюванта, способствуют активному биосинтезу противовирусных и антибактериальных антител у крыс (П.А. Красочко, А.Я. Самуйленко, М.А. Фролова и др. 2009). Однако не ясно, на какую фазу антителогенеза влияют препараты хитозана и в какие сроки введения его относительно иммунизации достигается наибольший эффект по активации защитных сил организма у животных.

Применение новых БАВ возможно только после изучения влияния этих веществ на физиолого-биохимические процессы в организме животных. В связи с этим актуально изучение влияния различных препаратов хитозана на активность защитных механизмов организма.

**Цель и задачи исследований.** Целью исследований являлось изучение влияния препаратов хитозана на активность защитных механизмов организма молодняка крупного рогатого скота черно-пестрой породы. Были поставлены следующие задачи:

- сравнить влияние скармливания добавок хитозана и фитохитодеза на активность защитных механизмов организма телят;

- определить влияние инъекционной формы хитозана на активность защитных механизмов организма телочек и напряженность иммунного ответа при их иммунизации против пастерелллёза;

- выяснить влияние инъекционной формы низкомолекулярного хитозана на активность защитных механизмов организма телочек при их иммунизации против лептоспироза и установить эффективность введения хитозана в различные сроки относительно времени иммунизации.

#### **Научная новизна работы.**

Впервые изучено влияние скармливания хитозана и фитохитодеза телятам 1-1,5-месячного возраста на микробицидную активность нейтрофилов крови и иммунный статус организма. Показано, что оба препарата, без существенной разницы между ними, способны повышать уровень естественной резистентности и активность гуморального звена иммунной системы у телят. Впервые установлено, что одновременное введение хитозана при иммунизации телочек против пастерелллёза, кроме положительных эффектов, в частности повышения содержания в крови высокоспецифичных антител против пастерелллёза, вызывает через 14 суток дезактивацию оксидазных систем нейтрофилов крови и через 21 сутки - реакцию переактивации адаптационного синдрома организма. Введение хитозана одновременное с иммунизацией против лептоспироза или через 3 суток после нее наряду с положительным действием на гомеостаз телочек обусловило ряд негативных эффектов. Дано научное обоснование наибольшей эффективности применения препарата хитозана по повышению активности защитных механизмов организма телочек за 3 суток до их иммунизации.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Результаты комплексных исследований состояния защитных систем организма у молодняка крупного рогатого скота и их изменения под влиянием препаратов хитозана расширяют и углубляют положения о действии биологически активных веществ на гомеостаз животных. Важным в теоретическом аспекте является то, что установлено снижение уровня естественной резистентности у животных под влиянием иммунизации против пастерелллёза и лептоспироза. Это диктует необходимость их реабилитации с помощью БАВ. Полученные в экспериментах данные имеют большое прикладное значение. Установлено оптимальное время подкожного введения хитозана относительно иммунизации животных, при котором он активизирует наиболее широкий спектр защитных механизмов организма и повышает напряженность иммунитета.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Введение в рацион телятам хитозана и фитохитодеза оказывает антистрессорное действие, повышает микробицидную активность нейтрофилов крови, гуморальный иммунитет и живую массу, без существенной разницы в эффективности этих препаратов.

2. Подкожное введение хитозана при иммунизации телочек против пастереллёза обусловило ряд положительных эффектов, в частности повышение содержания в крови высокоспецифичных антител.

3. Инъекция хитозана за 3 суток до иммунизации против лептоспироза более эффективно повышает активность защитных механизмов организма телочек, чем его одновременное введение с иммунизацией или через 3 суток после нее.

#### **Апробация работы.**

Основные положения диссертационной работы были доложены на: XXI, XXII научной конференции студентов и аспирантов (Брянск, 2005, 2006); международной научно-практической конференции (Щёлково, 2005); международной научно-производственной конференции, посвященной 25-летию кафедры частной зоотехнии, технологии производства и переработки продукции животноводства Брянской ГСХА (Брянск, 2008); международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ВНИИТИБП (Щёлково, 2009), а также были оценены дипломами 3 и 2 степени в конкурсе на лучшую научную работу аспирантов и молодых ученых по естественным, техническим и гуманитарным наукам в вузах Брянской области «Современные научные достижения, Брянск - 2008» в номинации «Медицина. Ветеринария. Экология.» и «Современные научные достижения, Брянск - 2009» в номинации «Медицина. Ветеринария. Экология. Биология».

#### **Публикация результатов исследования.**

По материалам диссертационной работы опубликовано 10 статей, из них 5 - в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

#### **Структура и объем работы.**

Диссертация изложена на 220 страницах и состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов собственных исследований, их результатов и обсуждения, выводов, практических предложений. Содержит 22 таблицы, 1 рисунок и 7 приложений. Список литературы включает 496 литературных источника, в том числе 107 иностранных авторов.

## **2. Собственные исследования.**

### **2.1. Материалы и методы исследований**

Было проведено 3 научно-производственных опыта на молодняке крупного рогатого скота в хозяйствах Брянской области. Препараты хитозана были предоставлены ЗАО "Биопрогресс" ВНИТИ биологической промышленности (г. Щёлково, Московской области).

При формировании подопытных групп подбирали животных по принципу пар-аналогов (А.И. Овсянников, 1976) с учетом породности, возраста, живой массы. Животных контрольной и опытных групп содержали в одинаковых условиях, соответствующих ветеринарно-зоогигиеническим требованиям. Кормили подопытных животных согласно нормам (А.П. Калашников,

В.И. Фисинин, В.В. Щеглов и др., 2003). Исследуемые кормовые добавки препаратов хитозана вносились животным опытных групп дополнительно к основному рациону методом дробного разведения с молоком. Использованные инъекционные препараты хитозана и плацебо (физиологический раствор) вводили подкожно в область верхней трети шеи. Пробы крови брали утром до кормления из яремной вены.

В первом опыте изучали влияние скармливания добавок хитозана и фитохитодеза на активность защитных механизмов организма телят. На МТФ ФГУП Учхоз «Кокино» Брянской ГСХА сформировали 3 группы телят черно-пестрой породы 30-суточного возраста по 6 животных в группе со средней живой массой  $46,89 \pm 0,70$  кг. Животные 1 группы (контрольная) получали основной рацион (О.Р.), телятам 2 группы скармливали дополнительно к О.Р. двумя курсами по 5 дней с интервалом 16 дней хитозан (мол.м. ~80 кДа) в дозе 6 мг/кг живой массы дважды в день, телятам 3 группы - по такой же схеме фитохитодез из расчета 6 мг хитозана на кг живой массы. Фитохитодез, кроме хитозана, включал в себя экстракт листьев черники, берёзы, тысячелистника, крапивы, зверобоя и горца птичьего (состав - запатентован) в соотношении хитозан : экстракт = 1:0,8. Животных взвешивали индивидуально перед началом эксперимента, через 34 и 71 сутки. Пробы крови брали в начале опыта, после первого и второго периодов скармливания препаратов.

Во втором опыте изучали влияние инъекционной формы хитозана на активность защитных механизмов организма у телочек и напряженность иммунного ответа при их вакцинации против пастереллёза. На МТФ ОАО СПК Агрофирма "Культура" Брянского района сформировали 2 группы по 10 телочек черно-пестрой породы 4-месячного возраста (1 группа – контрольная, 2 – опытная) со средней живой массой  $95 \pm 5$  кг. Во время иммунизации телят 1 и 2 групп против пастереллёза (Инактивированная формол-вакцина против пастереллеза жвачных и свиней "Диавак") животным опытной группы вводили в дозе 1 мг/кг живой массы ещё и 0,7% водный раствор сукцината хитозана (мол.м. ~ 80 кДа), а животным контрольной группы - в той же дозе плацебо (физиологический раствор). Перед иммунизацией, а также через 14 и 21 сутки после неё у 5 телок из каждой группы брали пробы крови для анализа.

В третьем опыте изучали влияние инъекционной формы низкомолекулярного хитозана на активность защитных механизмов организма, напряженность иммунного ответа при иммунизации телочек против лептоспироза и выявляли эффективность введения хитозана в различные сроки относительно времени иммунизации. В учхозе «Кокино» Брянской ГСХА сформировали 4 группы 4,5-месячных телочек черно-пестрой породы со средней живой массой  $115,0 \pm 2,54$  кг по 6 голов в каждой. Животные 1 группы были контрольными, а 2, 3 и 4 – опытными. Телочки всех подопытных групп получали одинаковый хозяйственный рацион и были иммунизированы (внутримышечно) против лептоспироза (Вакцина поливалентная «ВГНКИ» против лептоспироза животных серогрупп: pomona, tarassovi, sejroe, grippotyphosa). Телочкам опытных групп инъекцировали в дозе 300 мг на голову (~ 2,6 мг/кг живой мас-

сы) 6% водный раствор сукцината хитозана (мол.м.жю 43 кДа): 2 группы – за 3 суток до иммунизации, 3 группы – одновременно с иммунизацией и 4 группы – через 3 суток после нее. Подопытным животным, которым не вводили в эти сроки хитозан, инъектировали плацебо. Перед иммунизацией, а также через 1 и 2 месяца после нее у всех подопытных телочек брали пробы крови. В качестве нормативных принимали референтные значения, приведенные в литературе (А.Г. Малахов, Р.Х. Кармолиев, А.Г. Савойский и др., 1986; В.Е. Чумаченко, А.М. Высоцкий, Н.А. Сердюк и др., 1990; I.R. Tizard, 1996; И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко и др., 2004).

Количество эритроцитов и лейкоцитов в крови подсчитывали в камере Горяева; уровень гемоглобина – по методу Сали; лейкоцитарную формулу – в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, СОЭ определяли микрометодом Панченкова, гематокрит – с помощью микроцентрифуги. Поглотительную способность нейтрофилов периферической крови оценивали по: фагоцитарному показателю (ФП, %), - проценту клеток, способных к поглощению частиц латекса; фагоцитарному индексу (ФИ, у.е.) – среднему числу частиц латекса, поглощенному одним активным нейтрофилом; абсолютному фагоцитозу крови (АФ,  $10^9$ /л) – общему количеству частиц латекса, поглощаемому нейтрофилами в литре крови; фагоцитарному числу (ФЧ, у.е.) – среднему количеству частиц латекса, приходящемуся на один нейтрофил (В.Е. Чумаченко, А.М. Высоцкий, Н.А. Сердюк и др., 1990). Кислородозависимую микробицидную активность нейтрофилов определяли с помощью НСТ-теста, учитывая количество НСТ-позитивных (+НСТ) нейтрофилов (М.Г. Шубич, В.Г. Медникова, 1978; М.Г. Шубич, И.В. Нестерова, В.М. Старченко, 1980). Индекс активации (ИАН) нейтрофилов периферической крови определяли согласно инструкции «Риакомплекс». Поглотительную способность нейтрофилов (ФП, %, ФИ, у.е., АФ,  $10^9$ /л, ФЧ, у.е.) и активность их оксидазных систем (+НСТ, %, ИАН) оценивали в двух состояниях: базальном (баз.) – в свежезятой крови, стабилизированной гепарином, и стимулированном (стим.) – после внесения в пробы крови зимозана, что моделирует условия бактериального заражения и характеризует адаптационные резервы поглотительной и микробицидной способности нейтрофилов (Р.Б. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов, 1995). Показатель резерва оксидазной способности нейтрофилов периферической крови (ПР), коэффициент метаболической активации нейтрофилов (К) рассчитывали по методу И.А. Пахмутова, М.С. Ульяновой (1984). Кислородонезависимую микробицидность нейтрофилов периферической крови оценивали по содержанию в них катионных белков по методу В.И. Жибинова (1983), рассчитывая средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле, предложенной Н.А. Макаревичем (1988). Содержание Т-лимфоцитов (Е-РОЛ, %) определяли с помощью реакции розеткообразования лимфоцитов с эритроцитами барана, В-лимфоцитов (М-РОЛ, %) – с эритроцитами мыши (И.Д. Понякина, К.А. Лебедев, М.И. Васенович и др., 1984). Субпопуляции иммунорегуляторных Т-лимфоцитов, обладающих преимущественно хелперной (Е-РОЛтр., %) и супрессорной (Е-РОЛтч., %) активно-

стью, определяли в тесте с теофиллином (Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин и др., 1989). Содержание иммуноглобулинов различных изотипов (IgM, IgG, IgA) определяли по Манчини (Э. Бэм, 1987), уровень специфических антител в сыворотке крови к антигенам лептоспир - в реакции микроагглютинации (РМА), пастерелл - методом иммуноферментного анализа (ИФА). Определяли также: содержание общего белка в сыворотке крови рефрактометрически; концентрацию белковых фракций в сыворотке крови - нефелометрическим методом; содержание мочевины по цветной реакции с диацетилмонооксимом; концентрацию креатинина по цветной реакции Яффе (метод Лоппера); уровень билирубина по диазореакции (метод Ендрассика-Клеггорна-Грофа), концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом; холестерина – энзиматическим колориметрическим методом, активность щелочной фосфатазы – по гидролизу п-нитрофенилфосфата, аспартатаминотрансферазы (АсАТ, К.Ф.2.6.1.1) и аланинаминотрансферазы (АлАТ, К.Ф.2.6.1.2) - динитрофенилгидразоновым методом (Рейтмана-Френкеля) согласно унифицированным методам (И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко и др., 2004). Определение активности селенозависимой глутатионпероксидазы (ГПО-1) и селенонезависимой (ГПО-2) в сыворотке крови проводили по методу, изложенному R.A. Lawrence, R.F. Burk (1976), уровень внеклеточного восстановленного и окисленного глутатиона – по T.W. Thannhauser, Y. Konishi, H.A. Scheraga (1984), тиолдисульфидное соотношение – отношение содержания восстановленного глутатиона к окисленному. Содержание в сыворотке крови малонового диальдегида определяли реакцией с тиобарбитуровой кислотой (Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун, 1997).

Для выявления статистически значимых различий использован критерий Стьюдента-Фишера по Н. А. Плохинскому (1961). Результаты рассматривались как достоверные, начиная со значения  $p \leq 0,05$ .

## **2.2. Результаты собственных исследований и их обсуждение**

### **2.2.1. Естественная резистентность и иммунный статус организма у телят черно-пестрой породы под влиянием хитозана и фитохитодеза**

В первом опыте при скармливании хитозана и фитохитодеза телятам опытных групп не отмечалось достоверно значимых изменений показателей гемограммы в сравнении с контрольными животными на протяжении опытного периода, хотя индивидуальные колебания были значительными. При этом у телят контрольной группы в конце опытного периода установлена тенденция к увеличению содержания нейтрофилов в крови на 29,61% по сравнению с начальным периодом ( $42,90 \pm 9,18$  против  $33,10 \pm 2,83\%$ ), главным образом, за счет увеличения палочкоядерных форм (на 614,53%,  $p \leq 0,05$ ). У телят 2 и 3 групп уровень нейтрофилов составлял  $23,13 \pm 2,73$  и  $27,05 \pm 2,76\%$  соответственно. Относительное количество лимфоцитов в крови у телят контрольной группы в этот период было ниже значений физиологической нормы



(49,41±8,88%), в то время как у опытных животных – соответствовало ей (69,56±3,27 и 62,29±2,82% у телят 2 и 3 групп соответственно). Это свидетельствует о развитии у животных контрольной группы стрессорной реакции адаптационного синдрома (Ю.И. Забудский, 2002; Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, Т.С. Кузьменко, 2006) и антистрессорных свойствах препаратов хитозана.

К концу 1 курса скармливания препаратов, по сравнению с начальным периодом, у телят 2 и 3 групп повышался (до нормативных значений) К на 64,71% и 56,86% ( $p \leq 0,05$ ) и ПР на 63,75% ( $p \leq 0,05$ ) и 52,07% ( $p > 0,05$ ) соответственно (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние хитозана и фитохитодеза на микробицидную способность нейтрофилов крови у телят

Показатели	Перед началом опыта, n=18, M±m	Группы	После первого курса скармливания препаратов, M±m	После второго курса скармливания препаратов, M±m
+НСТ баз., %	12,27±2,60	1 (n=6)	9,89±3,09	13,83±2,44
		2 (n=6)	4,58±0,76	26,00±5,57
		3 (n=6)	4,67±0,64	12,87±2,25
+НСТ стим., %	23,09±2,93	1 (n=6)	21,58±2,47	33,86±7,98
		2 (n=6)	28,58±3,92	42,82±3,72 <sup>■</sup>
		3 (n=6)	25,17±2,06	41,63±1,42 <sup>■</sup>
ИАН баз.	0,16±0,03	1 (n=6)	0,13±0,04	0,21±0,05
		2 (n=6)	0,05±0,01	0,44±0,11
		3 (n=6)	0,06±0,01	0,21±0,03
ИАН стим.	0,30±0,05	1 (n=6)	0,26±0,02	0,55±0,14
		2 (n=6)	0,34±0,06	0,66±0,08 <sup>■</sup>
		3 (n=6)	0,28±0,03	0,72±0,02 <sup>■</sup>
К	0,51±0,09	1 (n=6)	0,56±0,14	0,51±0,09
		2 (n=6)	0,84±0,02 <sup>■</sup>	0,40±0,11
		3 (n=6)	0,80±0,04 <sup>■</sup>	0,69±0,06
ПР	4,11±0,82	1 (n=6)	3,88±1,20	2,56±0,50
		2 (n=6)	6,73±0,93 <sup>■</sup>	2,82±1,37
		3 (n=6)	6,25±1,34	3,65±0,64
СЦК	1,52±0,10	1 (n=6)	1,05±0,09	0,95±0,15
		2 (n=6)	1,36±0,15	1,27±0,16
		3 (n=6)	1,44±0,15	1,35±0,09

Примечание: <sup>■</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к предыдущему исследованию.

После второго курса скармливания телятам хитозана и фитохитодеза у телят 2 и 3 групп установлено достоверное увеличение (в условиях стимуляции клеток крови хитозаном) числа +НСТ нейтрофилов на 49,82% и 65,40%, а также ИАН на 94,12% и 157,14% соответственно в сравнении с аналогичными показателями после первого курса применения препаратов. Приведенные данные свидетельствует об увеличении адаптационного резерва оксидаз-

ных механизмов микробицидности нейтрофилов крови под влиянием хитозана и фитохитодеза.

В конце опытного периода содержание катионных белков в нейтрофилах крови у телят контрольной группы снижалось на 37,50% ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении с начальным периодом и было ниже нормативных значений, приведенных в литературе (Н.А. Судаков, В.И. Береза, 1987; Н.А. Макаревич, 1988). У телят, которым скармливали хитозан и фитохитодез, подобного снижения СЦК не отмечено, что указывает на способность этих препаратов поддерживать уровень кислородонезависимой микробицидности нейтрофилов крови в пределах нормативных значений.

Препараты хитозана не оказали существенного влияния на клеточное звено иммунной системы организма, что может быть связано с недостаточно зрелой иммунной системой у 1,5-месячных телят. Однако к концу опыта они способствовали повышению ( $p \leq 0,05$ ) в сыворотке крови содержания IgM: на 38,66% при использовании хитозана и на 36,97% - фитохитодеза (таблица 2). Аналогичные процессы отмечены Л.Ю. Топурия, Г.М. Топурия, А.А. Шубина и др., (2006).

Таблица 2 - Влияние хитозана и фитохитодеза на гуморальный иммунитет у телят

Группы	IgG, мг/мл, M±m	IgM, мг/мл, M±m	IgA, мг/мл, M±m
Перед началом скармливания препаратов			
(n=18)	12,94±0,68	0,90±0,05	0,23±0,02
После первого курса скармливания препаратов			
1 (n=6)	14,30±0,94	1,12±0,05 <sup>■</sup>	0,14±0,01 <sup>■</sup>
2 (n=6)	14,63±1,18	1,00±0,06	0,15±0,01
3 (n=6)	16,15±2,30	1,10±0,14	0,13±0,01
После второго курса скармливания препаратов			
1 (n=6)	19,28±1,01	1,19±0,03	0,15±0,01
2 (n=6)	19,60±1,37	1,65±0,20*	0,15±0,01
3 (n=5)	18,86±0,89	1,63±0,17*	0,15±0,02

Примечание: - \* -  $p \leq 0,05$  по отношению к 1 группе; <sup>■</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к предыдущему исследованию.

После 1 курса скармливания хитозана и фитохитодеза у телят 2 и 3 групп произошло снижение уровня общего белка на 5,01% ( $p \leq 0,05$ ) и 1,97% ( $p > 0,05$ ) при повышении  $\gamma$ -глобулинов на 36,11% ( $p \leq 0,05$ ) и 42,24% ( $p > 0,05$ ) соответственно в сравнении с контрольными телятами. К концу опыта различия в уровне общего белка и его фракций в сыворотке крови между животными подопытных групп нивелировались. При использовании хитозана и фитохитодеза у телят 2 и 3 групп через 34 суток после начала опыта установлена тенденция к увеличению живой массы на 3,81% и 1,35%, а через 71 сутки после начала опыта - достоверное ее увеличение на 5,27% и 5,24% соответственно в сравнении с контролем.

Живая масса телят через 71 сутки после начала опыта составляла  $75,83 \pm 1,01$ ,  $79,83 \pm 1,30$  и  $79,80 \pm 0,58$  кг у животных 1, 2 и 3 групп соответственно.

Таким образом, скармливание с 30-суточного возраста телятам хитозана и фитохитодеза способствовало повышению уровня естественной резистентности и иммунного статуса организма без существенной разницы препаратов по эффективности действия. Расчёт экономической эффективности скармливания препаратов хитозана телятам показал, что учитывая более высокую стоимость фитохитодеза по сравнению с хитозаном (1,2 руб./г против 1,1 руб./г соответственно), дополнительный доход при использовании фитохитодеза составил 66,49 руб., а хитозана – 137,42 руб. Дополнительный доход от скармливания телятам хитозана был в 2,8 раза выше, чем при использовании фитохитодеза.

### **2.2.2. Влияние инъектирования хитозана при иммунизации против пастереллёза на уровень естественной резистентности и иммунный статус организма телочек**

Иммунизация против пастереллеза обусловила через 14 суток снижение в крови у телочек уровня гемоглобина на 7,49%, моноцитов на 42,72% ( $p \leq 0,05$ ), а также выраженную тенденцию к уменьшению числа нейтрофилов и увеличению количества лимфоцитов ( $22,85 \pm 3,83\%$  против  $26,46 \pm 2,07\%$  перед иммунизацией и  $73,05 \pm 3,73\%$  против  $66,45 \pm 2,30\%$  соответственно).

Подкожное введение хитозана одновременно с иммунизацией препятствовало заметному снижению уровня гемоглобина в крови у телочек, существенно не влияя в этот период на другие показатели гемограммы.

Через 21 сутки после иммунизации у телочек 2 группы установлено снижение числа нейтрофилов на 36,77% и эозинофилов на 74,36% ( $p \leq 0,05$ ) при тенденции к повышению уровня лимфоцитов на 14,72% по сравнению с началом опыта. Такое соотношение клеток в лейкограмме по данным Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакиной, М.А. Уколовой (1990) указывает на развитие реакции переактивации адаптационного синдрома организма.

Через 14 суток после иммунизации у животных подопытных групп отмечено снижение адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови (таблица 3), более выраженное у телочек, инъектированных хитозаном, о чем свидетельствует снижение на 55,58% ( $p \leq 0,05$ ) числа +НСТ нейтрофилов после стимуляции их хитозаном в крови в сравнении с началом опыта. Неспособность нейтрофилов крови адекватно реагировать на бактериальные стимулы рассматривается В.Н. Галанкиным, А.М. Токмаковым, К.В. Боцмановым (1989) как структурный элемент состояния сниженной неспецифической резистентности организма.

Таблица 3 - Влияние хитозана на микробицидную активность нейтрофилов крови телят при иммунизации их против пастереллёза

Показатели	Перед началом опыта (n=10), M±m	Через 14 суток после иммунизации		Через 21 сутки после иммунизации	
		1 группа (n=5), M±m	2 группа (n=5), M±m	1 группа (n=5), M±m	2 группа (n=5), M±m
+НСТ баз., %	10,32±2,32	27,43±5,89 <sup>■</sup>	15,27±6,66	22,60±6,86	20,10±4,96
+НСТ стим., %	24,20±5,23	22,60±5,27	10,75±3,21 <sup>■</sup>	49,00±7,24 <sup>■○</sup>	48,00±5,80 <sup>■○</sup>
ИАН баз.	0,16±0,04	0,48±0,13 <sup>■</sup>	0,26±0,11	0,31±0,10	0,25±0,06
ИАН стим.	0,33±0,08	0,36±0,08	0,15±0,05	0,73±0,10 <sup>■○</sup>	0,75±0,07 <sup>■○</sup>
К	0,54±0,08	0±0 <sup>■</sup>	0,16±0,08 <sup>■*</sup>	0,58±0,09 <sup>○</sup>	0,58±0,10 <sup>○</sup>
СЦК	1,96±0,03	1,70±0,17	1,90±0,07	1,67±0,24	1,27±0,16 <sup>■○</sup>

Примечание: - \* -  $p \leq 0,05$  по отношению к 1 группе; <sup>■</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к данным, полученным перед началом опыта; <sup>○</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к данным, полученным через 14 суток после иммунизации.

У животных обеих групп перед иммунизацией установлено низкое содержание в крови Т-лимфоцитов (6,54±1,63%), В-лимфоцитов (3,30±0,59%) и высокое – 0-лимфоцитов (90,16±1,55%), что, по мнению И.М. Донник, Е.Н. Шиловой, В.Б. Шилова (2000), указывает на иммунодефицит. Через 14 суток после иммунизации содержание Т-лимфоцитов в крови у телочек 1 и 2 групп существенно не изменилось, В-лимфоцитов увеличилось на 278,79 и 191,82%, а 0-лимфоцитов снизилось на 9,88 и 17,07% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно. При этом достоверно значимое снижение абсолютного количества 0-лимфоцитов отмечено только у животных 2 группы (5,26±0,18 против 6,59±0,39  $10^9$ /л). Через 21 сутки после иммунизации установлено значительное увеличение общего числа Т-лимфоцитов (45,23±6,81 и 36,02±4,89%), в том числе фракции Т-лимфоцитов, обогащенной хелперами/индукторами (44,93±7,44 и 53,37±2,84%).

Введение животным при иммунизации хитозана не оказало существенного влияния на содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов, уровень которых на протяжении опыта находился в следующих интервалах: IgG - 20,30±1,36...21,78±0,45 мг/мл; IgM - 2,73±0,28...3,35±0,30 мг/мл; IgA - 0,21±0,03...0,33±0,05 мг/мл. При этом через 14 суток уровень специфических антител к пастереллам в сыворотке крови у животных 1 и 2 групп существенно не различался (величина обратных титров составила 840,00±312,41 и 760,00±240,00), а через 21 сутки отмечена выраженная тенденция к повышению на 52,63% содержания этих антител у телочек 2 группы (1520,00±480,00 против 720,00±257,68 у 1 группы).

Таким образом, введение хитозана одновременно с иммунизацией телочек оказало положительное воздействие на уровень гемоглобина, степень дифференцировки лимфоцитов в крови и уровень специфических антител к пастереллам в сыворотке крови. Однако у этих животных через 14 суток отмечено снижение адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови, а через 21 сутки – реакция переактивации адапта-

ционного синдрома организма.

### **2.2.3. Влияние времени введения хитозана относительно иммунизации телочек против лептоспироза на активность защитных механизмов организма**

Анализ гематологических показателей подопытных животных (таблица 4) через 1 месяц после иммунизации против лептоспироза указывает на повышение ( $p \leq 0,05$ ) в крови по сравнению с телочками контрольной группы: содержания эритроцитов у животных 3 и 4 групп на 10,30 и 18,51%, палочкоядерных нейтрофилов у - 2 и 4 групп на 250,81 и 185,40%, сегментоядерных нейтрофилов у - 4 группы на 44,49%, суммы нейтрофилов всех ядерных форм у - 2 и 4 групп на 95,61 и 61,56% соответственно. При этом у телочек 2 и 4 групп уровень лимфоцитов соответствовал нормативным значениям и был ниже, чем у контрольных на 19,80 и 11,98%, а СОЭ (мм/24 часа) у телочек 2, 3 и 4 групп ниже на 38,37, 26,74 и 31,40% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно. Снижение СОЭ свидетельствует о более благополучном состоянии организма через 1 месяц после иммунизации у телочек, которым вводили хитозан, так как повышение СОЭ служит достоверным признаком наличия в организме воспалительных процессов (Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун, 2002). Через 2 месяца после иммунизации отмечено более высокое, по сравнению с контрольными животными, содержание гемоглобина в крови у телочек 2, 3 и 4 групп на 35,72, 39,90 и 35,62% соответственно. В этот период у всех животных, инъецированных хитозаном, отмечено снижение в сравнении с контрольными уровня базофилов в крови: на 44,26 % ( $p > 0,05$ ) – у животных 2 группы; на 67,21 и 73,77 % ( $p \leq 0,05$ ) у телочек 3 и 4 групп соответственно, что косвенно свидетельствует о повышении функциональной активности щитовидной железы (Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун, 2002).

Через 1 месяц после иммунизации у животных 1 группы отсутствовал адаптационный резерв поглотительной способности нейтрофилов крови, на что указывает более низкий ФП стим. по сравнению с ФП баз. (таблица 5). В этот период у телочек 2, 3 и 4 групп ФП стим. превышал ( $p \leq 0,05$ ) величину этого показателя у животных контрольной группы (на 80,64, 80,64 и 62,02 % соответственно). При этом ФИ стим. достоверно превышал аналогичный показатель у контрольных животных только у телочек 2 группы (на 14,66%). О более высоком адаптационном резерве поглотительной способности нейтрофилов крови, инъецированных хитозаном животных, свидетельствует также повышение ( $p > 0,05$ ) по сравнению с контролем ФЧ стим. у телочек 2, 3, и 4 групп на 103,66, 78,05 и 56,10%, а также АФ стим. у телочек 2 и 4 групп на 417,81 и 202,74% соответственно. Повышение через 1 месяц адаптационного резерва поглотительной способности нейтрофилов крови у животных, инъецированных хитозаном (интенсивное у телочек 2 группы и экстенсивное у – 3 и 4 групп), способствовало оптимизации гомеостаза.

Таблица 4 - Влияние времени введения хитозана на гематологические показатели у телочек

Показатели	Группы	Перед началом опыта, М±m	Через 1мес. после иммунизации, М±m	Через 2 мес. после иммунизации, М±m
Гемоглобин, г/л	1 (n=6)	123,00±3,13	126,10±7,32	83,75±4,92
	2 (n=6)	128,00±3,76	134,28±7,01	113,67±5,15*
	3 (n=6)	123,17±1,78	125,08±3,60	117,17±2,74*
	4 (n=6)	128,67±4,81	126,75±6,30	113,58±4,43*
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	1 (n=6)	8,28±0,27	7,67±0,18	7,42±0,33
	2 (n=6)	8,32±0,28	8,01±0,25	7,63±0,23
	3 (n=6)	8,76±0,19	8,46±0,25*	7,63±0,35
	4 (n=6)	8,63±0,32	9,09±0,53*	8,03±0,25
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	1 (n=6)	8,74±0,81	11,23±0,83	7,77±0,38
	2 (n=6)	8,56±0,84	12,64±1,89	8,73±0,47
	3 (n=6)	8,71±0,92	9,69±0,49	8,51±0,50
	4 (n=6)	12,62±1,26* <sup>Δ</sup>	14,06±0,88	10,87±1,48
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1 (n=6)	0,79±0,31	1,85±0,23	2,05±0,41
	2 (n=6)	0,90±0,14	6,49±1,75*	2,52±0,40
	3 (n=6)	1,26±0,12	2,95±1,03	1,89±0,53
	4 (n=6)	2,28±0,46*•	5,28±0,73*	2,86±1,02
Сегментоядерные нейтрофилы, %	1 (n=6)	17,33±3,40	15,02±1,31	10,29±1,24
	2 (n=6)	15,85±1,07	26,49±4,75	15,12±2,15
	3 (n=6)	20,41±2,83	15,33±3,53	14,4±3,08
	4 (n=6)	22,18±2,36	21,77±2,13*	13,60±3,11
Сумма нейтрофилов %	1 (n=6)	18,11±3,68	16,86±1,42	12,35±1,49
	2 (n=6)	17,31±2,05	32,98±6,30*	17,81±2,28
	3 (n=6)	21,67±2,87	18,28±4,50	16,26±3,51
	4 (n=6)	24,54±2,65	27,24±2,87*	16,38±4,13
Эозинофилы, %	1 (n=6)	1,98±0,55	3,52±1,04	1,60±0,27
	2 (n=6)	2,30±0,85	3,35±1,06	1,40±0,51
	3 (n=6)	1,62±0,58	2,16±0,73	1,88±0,84
	4 (n=6)	3,07±0,76	3,02±0,48	3,11±0,95
Базофилы, %	1 (n=6)	0,74±0,15	0,69±0,08	0,61±0,15
	2 (n=6)	0,54±0,10	0,60±0,18	0,34±0,11
	3 (n=6)	0,80±0,14	0,70±0,09	0,20±0,07*
	4 (n=6)	0,78±0,10	0,52±0,20	0,16±0,08*
Моноциты, %	1 (n=6)	1,28±0,24	1,57±0,35	1,40±0,32
	2 (n=6)	1,85±0,25	0,84±0,14	1,31±0,23
	3 (n=6)	2,01±0,34	1,16±0,14	1,07±0,21
	4 (n=6)	2,89±0,59*	1,07±0,12	0,95±0,09
Лимфоциты, %	1 (n=6)	78,10±3,86	77,61±1,00	84,00±1,52
	2 (n=6)	77,96±2,28	62,24±5,42*	78,76±2,05
	3 (n=6)	73,90±2,68	77,69±4,89	80,51±3,16
	4 (n=6)	68,51±2,85	68,31±2,58*	79,21±4,71
СОЭ, мм/24 часа	1 (n=6)	0,76±0,08	0,86±0,08	0,74±0,08
	2 (n=6)	0,76±0,08	0,53±0,11*	0,75±0,05
	3 (n=6)	0,75±0,06	0,63±0,04*	0,82±0,06
	4 (n=6)	0,65±0,07	0,59±0,07*	0,83±0,09

Примечание: \* -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 1 группы; • -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 2 группы; <sup>Δ</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 3 группы.

Таблица 5 - Влияние хитозана на поглотительную способность нейтрофилов крови телочек

Показатели	Группы	Перед началом опыта, М±m	Через 1мес. после иммунизации, М±m	Через 2 мес. после иммунизации, М±m
ФП баз., %	1 (n=6)	18,33±1,90	29,50±7,35	15,00±2,23
	2 (n=6)	19,50±2,63	26,33±5,13	8,00±1,79
	3 (n=6)	17,25±2,12	24,25±3,79	7,83±1,79*
	4 (n=6)	12,50±1,15*	29,75±5,20	7,08±0,93*
ФП баз., 10 <sup>9</sup> /л	1 (n=6)	0,29±0,07	0,59±0,21	0,15±0,03
	2 (n=6)	0,26±0,03	1,07±0,28	0,13±0,04
	3 (n=6)	0,29±0,03	0,38±0,08	0,10±0,03
	4 (n=6)	0,42±0,08	1,00±0,16 <sup>Δ</sup>	0,15±0,06
ФП стим., %	1 (n=6)	27,83±3,40	23,25±3,04	30,58±5,74
	2 (n=6)	19,67±1,69	42,00±5,59*	36,53±2,80
	3 (n=6)	20,42±2,95	42,00±1,44*	24,14±2,63•
	4 (n=6)	15,75±1,28*	37,67±2,28*	34,22±3,79
ФП стим., 10 <sup>9</sup> /л	1 (n=6)	0,43±0,11	0,42±0,04	0,30±0,07
	2 (n=6)	0,28±0,04	1,94±0,58*	0,56±0,10
	3 (n=6)	0,38±0,07	0,72±0,16	0,32±0,06
	4 (n=6)	0,48±0,09	1,30±0,13*	0,78±0,29
ФИ баз., у.е.	1 (n=6)	3,21±0,09	3,56±0,24	3,23±0,14
	2 (n=6)	3,26±0,16	3,33±0,12	3,04±0,04
	3 (n=6)	3,46±0,19	3,50±0,09	3,06±0,04
	4 (n=6)	3,06±0,04	3,41±0,14	3,05±0,05
ФИ стим., у.е.	1 (n=6)	3,14±0,07	3,48±0,14	4,75±0,50
	2 (n=6)	3,36±0,23	3,99±0,13*	5,05±0,57
	3 (n=6)	3,24±0,22	3,49±0,13•	3,99±0,15
	4 (n=6)	3,17±0,10	3,37±0,10•	5,53±0,53 <sup>Δ</sup>
АФ баз., 10 <sup>9</sup> /л	1 (n=6)	0,96±0,25	2,27±0,93	0,47±0,10
	2 (n=6)	0,88±0,13	3,55±0,94	0,41±0,13
	3 (n=6)	1,01±0,07	1,34±0,29	0,30±0,09
	4 (n=6)	1,30±0,27	3,45±0,57 <sup>Δ</sup>	0,47±0,17
АФ стим., 10 <sup>9</sup> /л	1 (n=6)	1,38±0,37	1,46±0,15	1,55±0,49
	2 (n=6)	0,93±0,10	7,56±2,15*	3,06±0,82
	3 (n=6)	1,26±0,27	2,55±0,59	1,26±0,23
	4 (n=6)	1,50±0,24	4,42±0,55*	4,64±1,82
ФЧ баз., у.е.	1 (n=6)	0,59±0,07	1,11±0,33	0,49±0,07
	2 (n=6)	0,72±0,11	0,87±0,18	0,25±0,06*
	3 (n=6)	0,60±0,07	0,84±0,12	0,24±0,06*
	4 (n=6)	0,42±0,05	1,03±0,19	0,22±0,03*
ФЧ стим., у.е.	1 (n=6)	0,88±0,12	0,82±0,14	1,58±0,44
	2 (n=6)	0,73±0,07	1,67±0,23*	1,86±0,38
	3 (n=6)	0,69±0,16	1,46±0,05*	0,96±0,11
	4 (n=6)	0,50±0,05*•	1,28±0,11*	1,96±0,33 <sup>Δ</sup>

Примечание: \* -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 1 группы; • -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 2 группы; <sup>Δ</sup> -  $p \leq 0,05$  по отношению к животным 3 группы.

Это проявилось в более выраженном, чем у контрольных животных снижении (до нормативных значений), ФП баз. у тёлочек 2, 3 и 4 групп на 46,67% ( $p > 0,05$ ), 47,80 и 52,80 % ( $p \leq 0,05$ ) и ФЧ баз. на 49,98, 51,02 и 55,10 %

( $p \leq 0,05$ ) соответственно, что свидетельствует о более благополучном состоянии их организма (М.Г. Шубич, И.В. Нестерова, В.М. Старченко, 1980).

Введение хитозана при иммунизации против лептоспироза привело через 1 месяц к увеличению ( $p \leq 0,05$ ) абсолютного количества +НСТ баз. у животных 4 группы на 100,00%, а также +НСТ стим. у телочек 2 и 4 групп на 215,62 и 109,38% по сравнению с контрольными соответственно. Однако через 2 месяца у животных 4 группы установлено еще большее увеличение абсолютного количества +НСТ баз. (на 142,86%), снижение относительного количества +НСТ стим. на 35,05% и К на 62,90% по сравнению с контрольными животными, что свидетельствует о снижении адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности у телочек 4 группы.

Через 1 месяц после иммунизации СЦК у животных 2 группы была выше ( $p \leq 0,05$ ), чем у 1 группы на 72,86%. Через 2 месяца уровень катионных белков в нейтрофилах крови телочек 1 группы несколько увеличился и СЦК составил  $1,02 \pm 0,09$ , а у животных 3 группы был ниже, чем у контрольных на 40,20 % ( $p \leq 0,05$ ).

Число Т-лимфоцитов через 1 месяц после иммунизации в крови у животных 2 и 3 групп повышалось по сравнению с контролем на 83,35 и 74,47 % ( $p \leq 0,05$ ) (как и в 3 опыте), и составляло  $25,78 \pm 2,83$  и  $24,53 \pm 2,72$ % против  $14,06 \pm 3,00$ % соответственно. При этом у животных 4 группы отмечено более низкое общее число Т-лимфоцитов в крови по сравнению с телочками 2 группы на 46,12% ( $p \leq 0,05$ ), теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов по сравнению с животными 1 и 2 групп на 47,06 и 43,12 % ( $p \leq 0,05$ ) соответственно, и на 27,27 % ( $p > 0,05$ ), чем у - 3 группы. Количество В-лимфоцитов в крови у телочек 1 и 2 групп в этот период существенно не различалось и составляло  $27,25 \pm 4,55$  и  $23,39 \pm 1,32$ % соответственно, у животных 3 группы было на 28,05% ниже, чем у - 2 группы, а у телочек 4 группы на 62,79, 56,65 и 39,75%, ( $p \leq 0,05$ ), чем у - 1, 2 и 3 групп соответственно.

Через 2 месяца после иммунизации отмечена тенденция к повышению в крови Т-лимфоцитов у животных 2, 3 и 4 групп по сравнению с контрольными (на 31,54, 30,88 и 31,79 % соответственно). Количество теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов в крови у животных 2 группы в этот период в сравнении с контролем было выше на 30,59 %, ( $p \leq 0,05$ ) и составляло  $33,17 \pm 2,54$  против  $22,89 \pm 2,26$ % соответственно.

Содержание в сыворотке крови животных подопытных групп IgG и IgM на протяжении опыта существенно не различалось. Наиболее высокий уровень IgA в сыворотке крови через 1 месяц после иммунизации отмечен у животных 2 и 4 групп ( $0,44 \pm 0,03$  и  $0,41 \pm 0,02$  мг/мл), что выше на 33,33 и 24,24 % соответственно, чем у 1 группы. Через 2 месяца содержание IgA в сыворотке крови подопытных животных существенно не различалось, за исключением телочек 3 группы, у которых оно было ниже по сравнению с животными 2 группы на 26,83 % ( $p \leq 0,05$ ).

Содержание общего белка и его фракций в сыворотке крови иммунизированных животных под влиянием введения хитозана на протяжении опыта



существенно не отличалось от аналогичных значений у телочек 1 группы, за исключением более высокого ( $p \leq 0,05$ ): у животных 4 группы - уровня общего белка (на 9,75% через 1 месяц и 4,50% через 2 месяца); у телочек 3 группы - количества белков  $\beta$ -фракции глобулинов на 30,94% через 1 месяц; у телочек 2 группы содержания  $\gamma$ -глобулинов на 29,10% через 2 месяца. Повышение уровня общего белка в сыворотке крови у животных после введения хитозана было также установлено Э.В. Гущиной (1990).

По уровню специфических антител к введенным при иммунизации серовариантам лептоспир подопытные животные имели значительные индивидуальные различия, вплоть до отсутствия иммунного ответа на отдельные сероварианты. Через 1 месяц после иммунизации обратный титр антител к антигенам лептоспир сероварианта *romona* у животных 1, 2, 3 и 4 групп составлял  $233,33 \pm 128,24$ ,  $233,33 \pm 128,24$ ,  $350,0 \pm 154,38$  и  $333,33 \pm 149,81$ , через 2 месяца его величина у телочек 2 группы не изменялась, а у 1, 3 и 4 – снижалась ( $p > 0,05$ ) на 78,57, 28,57 и 35,00% соответственно. Обратный титр антител к антигенам лептоспир сероварианта *tarassovi* у животных 1, 2, 3 и 4 групп через 1 месяц после иммунизации составлял  $116,67 \pm 65,40$ ,  $266,67 \pm 108,53$ ,  $166,67 \pm 128,24$  и  $133,33 \pm 60,09$ , через 2 месяца его величина у телочек 1 группы повышалась на 28,57% ( $p > 0,05$ ), а у 2, 3 и 4 – снижалась ( $p > 0,05$ ) на 43,75, 89,98 и 12,50% соответственно. Через 1 месяц после иммунизации обратный титр антител к антигенам лептоспир сероварианта *sejroe* у животных 1, 2, 3 и 4 групп составлял  $16,67 \pm 16,67$ ,  $250,00 \pm 125,83$ ,  $33,33 \pm 33,33$  и  $116,67 \pm 65,40$ , через 2 месяца его величина у телочек 1, 2 и 4 – снижалась ( $p > 0,05$ ) на 50,03, 63,33 и 85,72% соответственно, а у 3 группы антитела не обнаруживались. Обратный титр антител к антигенам лептоспир сероварианта *gripotyphosa* у животных 1, 2, 3 и 4 групп через 1 месяц после иммунизации составлял  $158,33 \pm 129,37$ ,  $241,67 \pm 125,44$ ,  $83,33 \pm 65,40$  и  $83,33 \pm 40,14$ , через 2 месяца его величина снижалась ( $p > 0,05$ ) на 73,68, 13,80, 70,00 и 60,00% соответственно. Следовательно, хитозан, введенный телочкам 2 группы за 3 суток до иммунизации, вызвал более выраженную стимуляцию иммунных механизмов организма, что обусловило тенденцию к более высокому, устойчивому и относительно однородному антителогенезу ко всем, введенным при иммунизации, серовариантам лептоспир.

Введение хитозана при иммунизации телочек против лептоспироза не оказало достоверно значимого влияния на содержание в плазме крови мочевины, глюкозы, холестерина, билирубина, малонового диальдегида, окисленного и восстановленного глутатиона, активность АЛАТ и щелочной фосфатазы. При этом через 1 месяц после иммунизации отмечено снижение содержания креатинина в сыворотке крови у телочек 2, 3 и 4 групп на 13,24, 18,91% ( $p \leq 0,05$ ) и 13,69% ( $p > 0,05$ ), а также активности АсАТ на 23,64, 36,56 и 31,18% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно в сравнении с животными 1 группы, у которых уровень этих метаболитов составил  $108,58 \pm 3,35$  мкмоль/л и  $0,93 \pm 0,05$  ммоль/ч $\times$ л. Это, по мнению Ф.И. Фурдуй, Е.И. Штирбу, Ф.А.Струтинского, и др. (1992), И.М.Рослого и М.Г. Водолажской (2007), свидетельствует о снижении актив-

ности катаболических и стрессорных процессов. Кроме этого, через 1 месяц после иммунизации у животных 1 группы по сравнению с начальным периодом отмечено повышение концентрации молочной кислоты в сыворотке крови на 56,74 % ( $p \leq 0,05$ ), что составляло  $1,41 \pm 0,09$  против  $2,21 \pm 0,27$  ммоль/л, а у тёлочек опытных групп её уровень существенно не изменялся. Видимо, инъекционный препарат при иммунизации телочкам 2, 3 и 4 групп, обусловив более высокий уровень эритроцитов в крови, препятствовал развитию гипоксических явлений в тканях и обеспечивал более полное аэробное окисление пирувата. Через 2 месяца после иммунизации в сыворотке крови тёлочек 3 группы уровень молочной кислоты был ниже на 37,85 % ( $p \leq 0,05$ ), чем у контрольных, что составляло  $1,56 \pm 0,10$  против  $2,73 \pm 0,32$  ммоль/л. В нагрузочном тесте с плаванием у крыс, которым внутрижелудочно вводили хитозан, уровень лактата в крови также снижался (Э.И. Хасина, М.Н. Сгребнева, И.М. Ермак, др. 2005). Живая масса телочек подопытных групп во все исследованные периоды существенно не различалась с тенденцией к более высокой массе у животных опытных групп.

Таким образом, иммунизация телочек против лептоспироза обусловила снижение уровня естественной резистентности, иммунного статуса и вызвала недостаточность гомеостатических процессов. Введение хитозана по каждой из использованных схем оказало в большей или меньшей степени положительное влияние на организм вакцинированных животных. При этом введение хитозана телочкам за 3 суток до иммунизации активизировало наиболее широкий спектр защитных механизмов организма.

## Выводы

1. Комплексными исследованиями по оценке влияния препаратов хитозана на активность защитных механизмов организма у молодняка крупного рогатого скота установлена различная их эффективность в отношении отдельных механизмов защиты в зависимости от формы (кормовая, инъекционная) и условий применения.

2. Скармливание телятам хитозана и фитохитодеза двумя курсами по 5 дней с 16-дневным интервалом, не оказало значительного влияния на клеточное звено иммунной системы, активизировало гуморальный иммунитет, обусловив повышение IgM после второго курса скармливания (на 38,66% и на 36,97% соответственно), и механизмы неспецифической резистентности (без существенной разницы в эффективности препаратов), способствуя соответственно:

- увеличению адаптационного резерва кислородозависимой микробцидной способности нейтрофилов крови, о чем свидетельствует повышение коэффициента метаболической активации на 64,71% и 56,86% к концу 1 курса скармливания и индекса активации нейтрофилов на 94,12% и 157,14% к концу 2 курса;

- стойкой тенденции к более высокой кислороднезависимой микробицидной активности нейтрофилов крови (на 29,53 и 37,14% после 1 курса скормливания и на 33,68 и 42,11% после 2 курса).

3. Повышение активности защитных механизмов организма у телят, получавших хитозан и фитохитодез, препятствовало развитию стрессорной реакции адаптационного синдрома и способствовало увеличению их живой массы через 71 сутки после начала опыта на 5,27% и 5,24%, обеспечив доход на 1 рубль дополнительных затрат в размере 137,7 рубля и 66,7 рубля соответственно.

4. Иммунизации против пастереллеза и лептоспироза обусловили у телочек снижение уровня гемоглобина в крови и фагоцитарной активности нейтрофилов. После иммунизации против лептоспироза у животных наблюдалась активизация катаболических процессов (снижение активности АлАТ на 50,00%, при повышении активности АсАТ на 36,76%), снижение уровня аэробного окисления (повышение содержания молочной кислоты на 21,28%) и среднесуточных приростов живой массы на 50,76%, а также низкая напряженность иммунного ответа на антигены вакцины (снижение ко 2 месяцу содержания специфических антител в крови на 50,00...78,57%).

5. Подкожное введение хитозана (мол.м. ~ 80 кДа) одновременно с иммунизацией телочек против пастереллеза через 14 суток препятствовало заметному снижению уровня гемоглобина в крови; вызвало интенсификацию дифференцировки Т-лимфоцитов, что выразилось в снижении абсолютного числа 0-лимфоцитов в периферической крови (на 20,18%); через 21 сутки обусловило выраженную тенденцию к увеличению в крови теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов (на 18,78%) и содержания высокоспецифичных антител против пастерелл (на 52,63%). При этом выявлены и негативные эффекты: дезактивация оксидазных систем нейтрофилов крови через 14 суток; развитие реакции переактивации адаптационного синдрома организма через 21 сутки после иммунизации.

6. Подкожное введение хитозана (мол.м. ~ 43 кДа) телочкам за 3 суток до иммунизации против лептоспироза, одновременно или через 3 суток после нее способствовало через 1 месяц повышению адаптационного резерва поглотительной способности нейтрофилов крови (увеличение ФП стим. и ФЧ стим. на 62,02...80,64% и 65,10...103,66% соответственно), понижению уровня катаболизма (снижение активности АсАТ на 23,64...36,56%), а через 2 месяца – увеличению уровня гемоглобина в крови (на 35,62...39,90%).

7. Введение животным хитозана (мол.м. ~ 43 кДа) одновременно с иммунизацией против лептоспироза или через 3 суток после нее наряду с позитивным влиянием на гомеостаз вызывало негативные эффекты:

- одновременное с иммунизацией введение хитозана обусловило снижение через 2 месяца СЦК на 40,20%;

- введение животным хитозана через 3 суток после иммунизации вызвало снижение через 2 месяца адаптационного резерва кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови.

8. Введение хитозана (мол.м. ~ 43 кДа) за 3 суток до иммунизации против лептоспироза активизировало наиболее широкий спектр защитных механизмов организма у телочек, о чем свидетельствует:

- увеличение адаптационных резервов поглотительной функции нейтрофилов крови (повышение АФ стим. на 417,81 % и абсолютного количества нейтрофилов крови, способных к поглощению на 230,77 % через 1 и 2 месяца соответственно), кислородозависимой микробицидности этих клеток (повышение через 1 месяц в стимулированных хитозаном условиях абсолютного количества +НСТ нейтрофилов на 215,62%), а также на 72,86% содержания катионных белков в этих клетках.

- повышение иммунного статуса (увеличение через 1 месяц числа Т-лимфоцитов на 83,35%, уровня IgA в на 37,50%, а через 2 месяца повышение числа Т-лимфоцитов фракции, обогащенной хелперами/индукторами на 30,59%, уровня  $\gamma$ -глобулинов на 29,10%) более напряженный иммунный ответ на введенные при иммунизации антигены лептоспир.

Введение хитозана до иммунизации не оказало негативного влияния на исследованные параметры гомеостаза телочек в поствакцинальный период.

### **Практические предложения**

1. В целях повышения уровня естественной резистентности организма теллят, предупреждения развития стрессорных реакций и повышения живой массы рекомендуется скармливать им с 30-суточного возраста двумя курсами по 5 дней с 16-дневным интервалом хитозан (мол.м.~80 кДа) из расчета по 6 мг хитозана на 1 кг живой массы (дважды в день).

2. Для повышения активности защитных механизмов организма животных и создания напряженного иммунитета рекомендуется вводить подкожно хитозан (мол.м.~43 кДа) в дозе 300 мг на голову (~ 2,6 мг/кг живой массы) за 3 суток до иммунизации против лептоспироза.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Иванов, Д.В. Эффективность применения хитозана и фитохитозидов при выращивании телят. / Е.В. Крапивина, А.И. Албулов, А.В. Борода, Е.А. Кривопушкина, **Д.В. Иванов** // Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения её качества. Сборник научных работ.- Брянск.: Из-во Брянской ГСХА, 2004.- С. 276-280.

2. Иванов, Д.В. Изучение иммуномодулирующих свойств сукцината хитозана / П.А. Кузнецов, А.И. Албулов, В.И. Клюкина, С.А. Гринь, Е.В. Крапивина, **Д.В. Иванов** и др. // Ветакорм (ветеринария и кормление), 2007.- № 5. - С. 12-13.

3. Иванов, Д.В. Влияние хитозана на активность защитных механизмов организма у телочек при вакцинации их против пастереллёза / **Д.В. Иванов** // Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в современных условиях аграрного производства // Материалы Международной научно-производственной конференции, посвященной 25-летию кафедры частной зоотехнии, технологии производства и переработки продукции животноводства Брянской ГСХА. - Брянск: Из-во Брянской ГСХА, 2008.- С. 82-86.

4. Иванов, Д.В. Биохимический статус телочек 4,5-месячного возраста / Е.В. Мартынова, **Д.В. Иванов**, В.М. Рыбникова // Селекционно-технологические аспекты повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в современных условиях аграрного производства // Материалы Международной научно-производственной конференции, посвященной 25-летию кафедры частной зоотехнии, технологии производства и переработки продукции животноводства Брянской ГСХА. - Брянск: Из-во Брянской ГСХА, 2008.- С. 112-113.

5. Иванов, Д.В. Влияние хитозана сукцината на биохимические характеристики гомеостаза у телочек в поствакцинальный период при вакцинации против лептоспироза / **Д.В. Иванов**, Е.В. Мартынова, Е.П. Ващекин, Е.В. Крапивина, В.А. Галочкин // Проблемы биологии продуктивных животных , 2009. - № 1. – С. 78-85.

6. Иванов, Д.В. Иммунореактивность у телочек при вакцинации против лептоспироза на фоне подкожного введения сукцината хитозана / **Д.В. Иванов**, Е.В. Крапивина, Ю.Н. Федоров, А.И. Албулов // Сельскохозяйственная биология, 2009.- № 2.- С. 104-110.

7. Иванов, Д.В. Влияние хитозана сукцината на напряженность поствакцинального иммунитета против лептоспироза / **Д.В. Иванов**, Е.П. Ващекин, Е.В. Крапивина, А.И. Албулов, А.Г. Мищевцов // Труды Кубанского государственного аграрного университета /Серия ветеринарные науки, 2009. №1. (ч. 1.). С. 41-43.

8. Ivanov, D.V. Absorption Capacity of Blood Neutrophils after Injecting HeiferCalves with Chitosan Sulfate at Different Times Relative to Vaccination

against Leptospirosis / E.V. Krapivina, **D.V. Ivanov**, E.P. Vahchekin, A.I. Albulov // Russian Agricultural Sciences, 2009, Vol. 35, No. 5, pp. 348–350. © Allerton Press, Inc., 2009.

9. Иванов, Д.В. Микробицидная активность нейтрофилов крови вакцинированных телочек при использовании препаратов хитозана / **Д.В. Иванов**, Е.В. Крапивина, А.И. Албулов // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ВНИИТИБП. Щёлково, 2009. – С. 469-475.

10. Иванов, Д.В. Влияние времени введения хитозана сукцината при вакцинации телочек против лептоспироза на гомеостаз / **Д.В.Иванов** // Вестник ФГОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия», 2009. - № 1. – С. 60-68.

#### Список сокращений

1. мол.м. – молекулярная масса
2. СОЭ – скорость оседания эритроцитов
3. +НСТ – НСТ-позитивные нейтрофилы, относительное число нейтрофилов, проявляющее оксидазную активность, восстанавливая нитросиний тетразолий в диформаза
4. ФП – фагоцитарный показатель
5. ФИ – фагоцитарный индекс
6. ФЧ – фагоцитарное число
7. АФ – абсолютный фагоцитоз
8. ИАН – индекс активации нейтрофилов
9. К – коэффициент метаболической активации нейтрофилов
10. ПР – показатель резерва оксидазной способности нейтрофилов
11. СЦК – средний цитохимический коэффициент
12. Е-РОЛ – Т-лимфоциты, образующие розетки с эритроцитами барана
13. Е-РОЛтр – теofilлинрезистентные Т-лимфоциты, обладающие преимущественно хелперной активностью
14. Е-РОЛтч – теofilлинчувствительные Т-лимфоциты, обладающие преимущественно супрессорной активностью
15. М-РОЛ – В-лимфоциты, образующие розетки с эритроцитами мыши
16. 0-лимфоциты – лимфоциты, не образующие розеток ни с эритроцитами барана, ни с эритроцитами мыши
17. АсАТ – аспартатаминотрансфераза
18. АлАТ – аланинаминотрансфераза

---

Подписано к печати \_\_\_\_\_ 2010 г. Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага печатная. Усл. п. л. \_\_\_\_\_. Тираж \_\_\_\_\_ экз. Изд. № \_\_\_\_\_.

---

Издательство Брянской государственной сельскохозяйственной академии.  
243365 Брянская обл., Выгоничский район, с. Кокино, Брянская ГСХА