

На правах рукописи

ТЕБЕНЬКОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

ВЛИЯНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ  
КРОВИ У ЛИСИЦЫ В ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

06.02.09 – звероводство и охотоведение

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Киров 2019

Работа выполнена в ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова» (ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова)

**Научный руководитель:** **Беспятых Олег Юрьевич**  
доктор биологических наук, доцент

**Официальные оппоненты:** **Илюха Виктор Александрович** доктор биологических наук, доцент, Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», директор, главный научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных.

**Якимов Олег Алексеевич**, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», профессор кафедры технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева».

Защита диссертации состоится «09» апреля 2019 г. в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д 006.024.02 при ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова» по адресу: 610000, Кировская обл., г. Киров, ул. Преображенская, 79.

Тел./факс (8332) 64-72-26; e-mail: bio.vniioz@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова» <http://vniioz-kirov.ru>

Автореферат разослан «    » января 2019 года и размещен на сайте <http://vniioz-kirov.ru> и <http://vak.ed.gov.ru>

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

Соловьев  
Вячеслав Альбертович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность и степень разработанности темы.** В соответствии с этапами онтогенетического развития в организме зверей происходит изменение метаболических реакций. Наиболее простым способом определения этих изменений является исследование физиологических показателей крови, в частности, сывороточных ферментов показателей углеводного, белкового, жирового обменов, антиоксидантной защиты, стероидных гормонов, жирорастворимых витаминов, гуморальных и клеточных факторов естественной резистентности, микро- и макроэлементов (Тютюнник Н.Н., Кожевникова Л.К., 1996; Тютюнник Н.Н., 2002; Трошина Т.А., Вакилов Р.Ф., 2008; Зарудная Е.Н., 2011; Староверова И.Н., 2011; Батоев Ц.Ж. и др., 2013; Илюха В.А. и др., 2014).

Значительное влияние на физиологическое состояние зверей оказывают инфекционные болезни. Достаточно распространенным и опасным инфекционным заболеванием является сальмонеллез, к которому наиболее восприимчива лисица (Слугин В.С., 2004).

Сальмонеллез регистрируют в хозяйствах, несмотря на его специфическую профилактику, так как нарушения в технологии кормления и содержания зверей негативно влияют на физиологический статус организма и, в частности, на уровень метаболических процессов, от которого зависит естественная резистентность организма и иммунный ответ при специфической профилактике (Землянская Н.И., Литвинова З.А., 2008; Шахов А.Г., 2005, 2006).

Для повышения резистентности организма животных применяют различные биологически активные вещества - антистрессоры, которые различны по своей природе и механизму действия: транквилизаторы, адаптогены, ферментные и витаминно-минеральные препараты. Их использование позволяет уменьшить отрицательные последствия стрессов и сохранить или повысить продуктивность и резистентность животных, в том числе стимулировать поствакцинальный иммунитет (Квартникова Е.Г., 2002; Бузлама В.С., 2005; Федоров Ю.Н., 2005; Балакирев Н.А., Кузнецов Г.А., 2006; Селюкова Е.Н., 2007; Шкуратова И.А. и др., 2008).

К таким веществам можно отнести естественный метаболит организма - янтарную кислоту, которая обладает антигипоксическим, антиоксидантным, адаптогенным, нейротропным, иммуномодулирующим и другими свойствами. Она оптимизирует энергетический и углеводный обмены, общее физиологическое состояние организма, активизирует процессы синтеза в различных органах и, в тоже время, является безвредной для организма, не обладает мутагенным и тератогенным действием.

Учитывая, что в последние годы перспективным направлением стал поиск препаратов, способных снизить негативное воздействие внешних факторов на организм, изучение влияния янтарной кислоты на физиологическое состояние организма в поствакцинальный период, в частности на показатели крови, является актуальным.

**Цель работы:** изучение влияния янтарной кислоты на динамику физиологических показателей крови у лисицы в поствакцинальный период.

**Задачи:**

1. Исследовать динамику физиологических показателей крови у лисицы в ответ на введение вакцин.
2. Изучить влияние янтарной кислоты на изменение физиологических показателей крови у лисицы в поствакцинальный период.
3. Сравнить возрастные особенности динамики физиологических показателей крови у лисиц в поствакцинальный период.
4. Определить оптимальную схему введения янтарной кислоты в рацион лисиц в период вакцинации.

**Научная новизна:**

- Установлена динамика физиологических показателей крови у лисиц в поствакцинальный период под влиянием янтарной кислоты.
- Изучены особенности изменения физиологических показателей крови у молодняка и взрослых лисиц в поствакцинальный период.
- Установлена оптимальная схема введения янтарной кислоты лисицам.

Научная новизна исследования подтверждена патентом РФ на изобретение № 2431498. Домский И.А., Беспятовых О.Ю., Бельтюкова З.Н., Березина Ю.А., Окулова И.И., Кокорина А.Е., Пушкарева (Тебенькова) Т.В. Способ вакцинации пушных зверей. Зарегистрировано в Гос. Реестре изобретений 20.10.2011г.

**Теоретическая и практическая значимость:**

- Получены новые данные по динамике физиологических показателей крови молодняка и взрослых лисиц в поствакцинальный период, а также их изменения под воздействием янтарной кислоты, включенной в корм животных в течение 5 дней до или 5 дней до и 3 дней после вакцинации. Установлено, что физиологические изменения в организме лисицы в поствакцинальный период, зависят от вида использованного иммунобиологического препарата (инактивированная или живая вакцина).
- Применение янтарной кислоты способствует снижению реактивности организма, активизации обмена веществ и формированию более напряженного иммунитета у лисиц в поствакцинальный период. Положительное влияние янтарной кислоты на изменение физиологических показателей крови позволяет рекомендовать ее к применению.

Материалы исследований использованы при разработке наставления: Беспятовых О.Ю., Кокорина А.Е., Тебенькова Т.В. Наставление по применению в звероводстве янтарной кислоты для повышения продуктивности пушных зверей. Киров, 2011. 15 с.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой проведенных исследований явились работы специалистов в области физиологии и биохимии пушных зверей, а также необходимость научного обоснования взаимосвязей между физиологическими показателями крови лисицы, в том числе их изменение под влиянием янтарной кислоты, что определяет уровнем

напряженности иммунитета в поствакцинальный период. В работе применен комплексный методический подход, который включает в себя исследование различных показателей крови, а также статистический анализ полученных результатов.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Изменение физиологических показателей крови у лисицы в поствакцинальный период зависит от возраста зверей и вида используемого иммунобиологического препарата.
2. Янтарная кислота оказывает выраженное воздействие на показатели белкового обмена, ферментной системы, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы, гуморального и клеточного иммунитета. Препарат способствует снижению реактивности организма, активизации обмена веществ и формированию более напряженного иммунитета у лисиц в поствакцинальный период.

**Степень достоверности результатов.** Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных методов исследования физиологических показателей крови животных. Результаты исследования обработаны биометрическими методами с использованием прикладных компьютерных программ, поэтому их достоверность не вызывает сомнений. В диссертации приводятся: средняя арифметическая величина ( $M$ ), ошибка средней арифметической ( $m$ ), критерий Стьюдента ( $t$ ). Различия между группами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы полученными результатами и согласуются с поставленной целью и задачами исследования.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на следующих конференциях:

1. Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина «Актуальные проблемы ветеринарной биологии», сентябрь 2009 г. (г. Москва).
2. Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства», 22-25 мая 2017 г. (г. Киров).

**Личный вклад автора.** Личный вклад диссертанта складывается из непосредственного участия в разработке цели и задач исследований, выполнения физиологических исследований и статистического анализа полученных результатов, формулирования выводов и рекомендаций. Результаты исследований получены автором лично или в ходе совместных исследований и консультаций с д.биол.н. Беспятыми О.Ю., д.вет.н., проф. Домским И.А., к.биол.н. Кокориной А.Е., к.вет.н. Березиной Ю.А., к.вет.н. Бельтюковой З.Н., к.вет.н. Окуловой И.И., аспирантом Сухих О.Н., что отражено в совместных публикациях. Вышеназванным коллегам, сотрудникам отдела звероводства

ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова: к.вет.н. Кошурниковой М.А., д.биол.н. Плотникову И.А., сотрудникам ООО «Зверохозяйство «Вятка»: гл. ветврачу Тюфякову С.Н., гл. зоотехнику Ушнаевой С.В. и другим специалистам и заводчикам автор выражает глубокую признательность за помощь, оказанную в ходе выполнения работы.

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, из них 4 - в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ для отражения основных положений диссертации, а также 1 патент РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 100 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материала и методики исследований, результатов собственных исследований, заключения, списка литературы и приложения. Список литературы включает 203 источника, в том числе 46 - на иностранных языках. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 15 рисунками.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. Обзор литературы**

Первая глава диссертации является обзором литературы по характеристике физиологических показателей крови, изменениям в организме под влиянием внешних факторов, применению биологически активных веществ и, в частности, янтарной кислоты в животноводстве и пушном звероводстве для повышения продуктивности и резистентности организма животных.

### **2. Материал и методика**

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени проф. Б.М. Житкова» в соответствии с планом научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ Россельхозакадемии по заданию 06.02.01.01. «Изучить использование нетрадиционных кормов, продуктов биотехнологии и химического синтеза в кормлении пушных зверей в целях повышения резистентности, продуктивности и качества шкурок», с использованием базы ООО «Племенное зверохозяйство «Вятка» (Кировская обл.) в 2007-2018 годах.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с методическими указаниями (Балакирев Н.А., Юдин В.К., 1994). Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС «О защите животных, используемых для научных целей» (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September

2010 on the protection of animals used for scientific purposes, 2010). Общая схема исследований представлена на рис. 1.

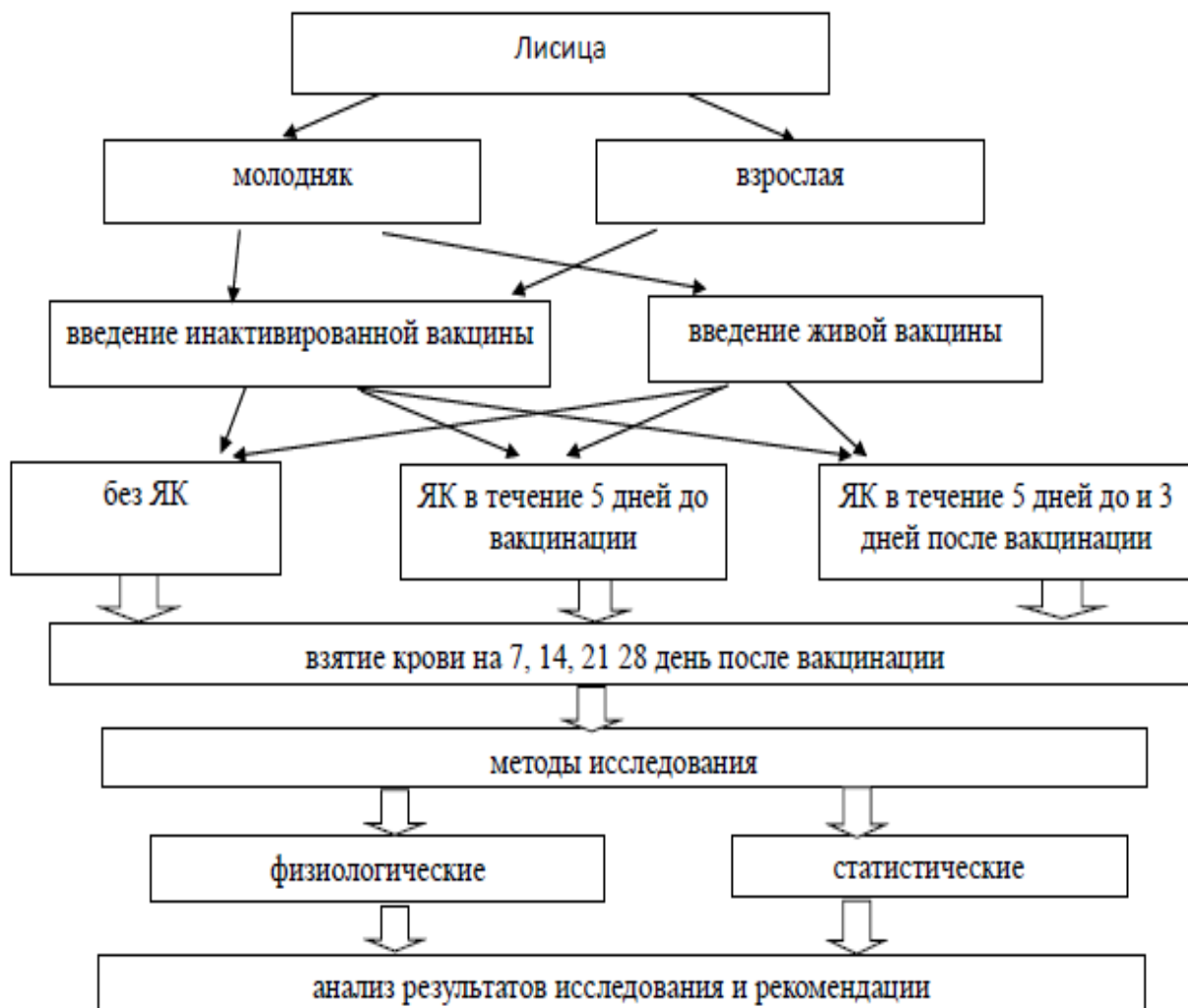


Рис. 1. Схема исследования

## 2.1. Материал исследования

Объектом исследования являлась лисица (*Vulpes vulpes* L.) красного окраса. Звери подопытных групп были клинически здоровыми. Подбор животных в контрольные и опытные группы проводили по принципу групп-аналогов с учетом возраста, пола и живой массы.

Все животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления (с соблюдением ветеринарных и зоотехнических требований). В кормлении пушных зверей использовали общепринятые кормовые рационы (Н.Ш. Перельдик и др., 1987; Балакирев Н.А. и др., 2007).

В исследовании использованы следующие иммунобиологические препараты:

- инактивированная вакцина против сальмонеллеза, содержащая микробную взвесь *Salmonella tyhimurium* и *Salmonella choleraesuis*. Изготовлена

ФГУП «Армавирская биофабрика» 08.2007 года, серия 9, контроль 9. Использовали для вакцинации молодняка лисицы;

- живая вакцина против сальмонеллеза из аттенуированных штаммов сальмонелл: *Sal. typhimurium* № 3, *Sal. dublin* № 6, *Sal. cholerae suis* № 9 (опытная серия). Применяли для вакцинации молодняка лисицы;

- инактивированная вакцина против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза. Вакцина содержала микробную взвесь *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Pasteurella multocida* сероваров А, В, Д, *Streptococcus* серогрупп С, R. Изготовлена ФГУП «Армавирская биофабрика» 06.2007 года, серия 14, контроль 14. Использовали для вакцинации взрослой лисицы;

В исследовании применяли янтарную кислоту, произведенную ЗАО «Вектон» (Санкт-Петербург). Препарат соответствует ГОСТ 6341-75 и представляет собой порошок белого цвета, который хорошо растворим в горячей воде и трудно растворим в холодной воде.

## 2.2. Методика исследования

Исследовали физиологические показатели крови у молодняка лисицы в поствакцинальный период в двух сериях опытов, проходивших в одно и то же время.

В первой серии опытов изучали динамику физиологических показателей крови лисицы после вакцинации инактивированной вакциной. Из молодняка красной лисицы 2-месячного возраста по принципу групп-аналогов сформировали 3 группы: контрольная и две опытных. Всех лисиц иммунизировали инактивированной вакциной против сальмонеллеза внутримышечно в дозе 1,0 мл двукратно с интервалом 10 дней в соответствии с инструкцией по применению. Животным контрольной группы, кроме вакцины, ничего дополнительно не вводили. В рацион зверей 1-й опытной группы добавляли янтарную кислоту в дозе 5 мг/кг живой массы в течение 5 дней до иммунизации, 2-й опытной группы - в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации.

Янтарную кислоту скармливали лисице в одно и то же время утром *per os* вместе с кормом. Для этого навеску препарата растворяли в воде, подогретой до 50 °С, до 1 % концентрации. Полученный раствор вводили в корм и тщательно перемешивали.

Во второй серии опытов изучали динамику физиологических показателей крови лисицы после вакцинации живой вакциной. Схема исследования была аналогична схеме в первой серии опытов. Животным контрольной группы, кроме вакцины, ничего дополнительно не вводили. В рацион зверей 1-й опытной группы добавляли янтарную кислоту в дозе 5 мг/кг живой массы в течение 5 дней до иммунизации, 2-й опытной группы - в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации.

Кроме молодняка зверей, изменение физиологических показателей крови исследовали у взрослых лисиц основного поголовья. Из основных самок за месяц до гона (декабрь) по принципу групп-аналогов сформировали 2 группы:



контрольную и опытную. Лисиц обеих групп иммунизировали инактивированной вакциной против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза внутримышечно в дозе 2,0 мл, однократно в соответствии с инструкцией по применению. Дополнительно лисицам опытной группы вводили в рацион янтарную кислоту из расчета 10 мг/кг живой массы в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации.

У зверей утром натощак на 7, 14, 21 и 28 дни после вакцинации брали кровь из латеральной подкожной вены голени. Пробы крови отбирали у 4 зверей из каждой группы, которых определяли методом случайной выборки. В сыворотке крови определяли следующие показатели: общий белок, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Biochem SA» (США) с использованием наборов реактивов фирмы «High Technology» (США). Белковые фракции сыворотки крови определяли нефелометрическим методом (Берестов В.А., 2005), церулоплазмин – по В.Б. Гаврилову и др. (1987), SH-группы белков – по методу В.Ф. Фоломеева (1981), малоновый диальдегид (МДА) – в соответствие с рекомендациями В.С. Камышникова (2000), общие иммуноглобулины - методом высаливания сульфатом натрия, бактериальную активность сыворотки крови (БАСК) - по общепринятой методике (Кузьмина Т.А., Смирнова О.В., 1966), опсоно-фагоцитраную реакцию – по А.С. Лабинской (1978), лейкограмму – по И.П. Кондрахину (2004), титр антител к сальмонеллезным антигенам – в реакции агглютинации (Лабинская А.С., 1978).

Результаты исследований статистически обработаны в программе Biostat. В расчетах использованы: средняя арифметическая величина ( $M$ ), ошибка средней арифметической ( $m$ ), критерий Стьюдента ( $t$ ). Различия между группами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### **3. Результаты собственных исследований**

#### **3.1. Влияние янтарной кислоты на физиологические показатели крови молодняка лисицы в поствакцинальный период**

##### **3.1.1. Динамика показателей белкового обмена**

**Использование инактивированной вакцины.** Значительное увеличение количества общего белка отмечено в крови лисицы на 14 день поствакцинального периода в группе животных, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дня после вакцинации (рис. 1). В данной группе уровень этого показателя был больше на 33,4 % ( $p < 0,05$ ), чем у животных вакцинированных без янтарной кислоты. Тем не менее, максимальное содержание общего белка в крови зверей в поствакцинальный период зафиксировано на 21 день у животных, получавших янтарную кислоту течение 5 дней до вакцинации, что было больше на 22,3 % по сравнению с группой вакцинированных лисиц.

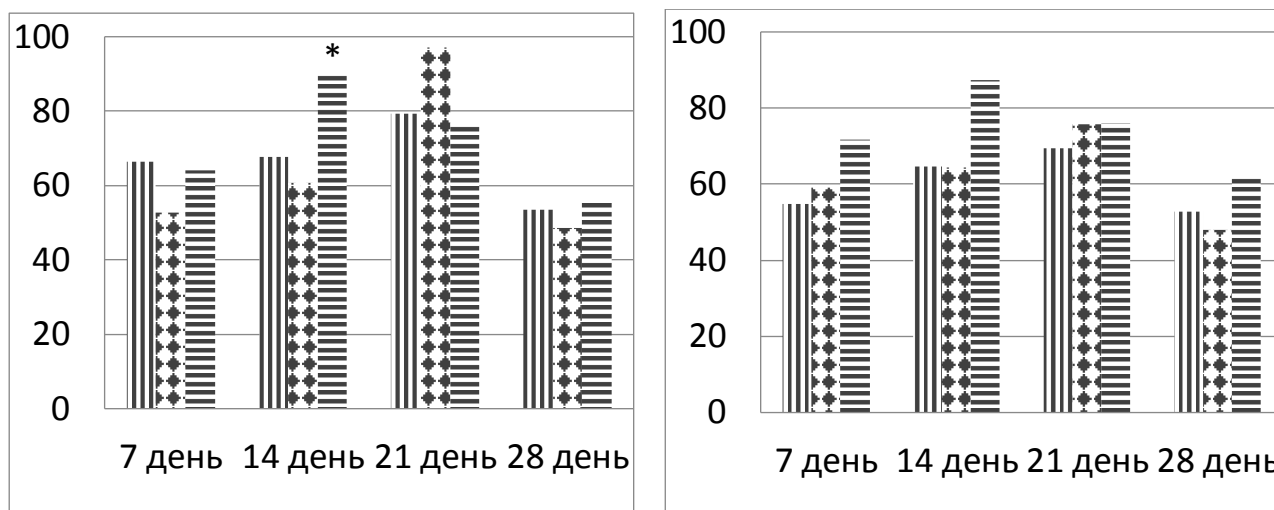


Рис. 1. Содержание общего белка в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), г/л

Примечание: на этом и последующих рисунках обозначены: ||||| – вакцинированные звери (без добавки янтарной кислоты), ●●●● – включение в рацион янтарной кислоты до вакцинации, ≡≡≡ – введение в корм янтарной кислоты до и после вакцинации; \* - различия статистически значимы по отношению к вакцинированным зверям (без добавки янтарной кислоты),  $p < 0,05$ .

**Применение живой вакцины.** Резкое повышение содержания общего белка в крови лисиц после иммунизации отмечено уже на 7 день у лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 5 дней после вакцинации (рис. 1). Значение показателя в этой группе превосходило уровень этого же показателя в группе вакцинированных животных без янтарной кислоты на 30,8 %. Тем не менее, максимальное значение содержания общего белка зарегистрировано на 21 день поствакцинального периода в крови лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации. От значения показателя в этой группе незначительно отличается количество белка в крови зверей, которым вводили янтарную кислоту в рацион, в течение 5 дней до вакцинации. В этот период уровень общего белка в крови опытных лисиц был на 9 % выше, чем в крови вакцинированных животных без янтарной кислоты.

### 3.1.2. Изменение активности ферментов крови

**Использование инактивированной вакцины.** В поствакцинальный период наблюдали изменение активности ферментов. Уровень АСТ в группе вакцинированных зверей стал повышаться после иммунизации и достиг наибольшего значения на 21 день после вакцинации, что было больше на 16 % по сравнению с первоначальным уровнем. По сравнению с ними у животных, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации и в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации, содержание АСТ в крови было в основном

несколько ниже. Эта разница была наибольшей на 21 день поствакцинального периода.

Количество АЛТ было также больше в крови вакцинированных лисиц. При этом пик показателя отметили на 21 день после вакцинации. В этот период содержание АЛТ в группе животных, получавшей янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, было ниже на 33 % ( $p < 0,05$ ), чем в группе вакцинированных зверей, а в группе лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, ниже на 24 % ( $p < 0,05$ ).

Активность ЩФ в крови вакцинированных лисиц достигло максимальных значений на 21 день поствакцинального периода, а в крови зверей, получавших янтарную кислоту, на 14 день после вакцинации (рис. 2). Этот показатель в крови животных, получавших янтарную кислоту, был выше на 19-25 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с уровнем индикатора в крови лисиц, не получивших янтарную кислоту.

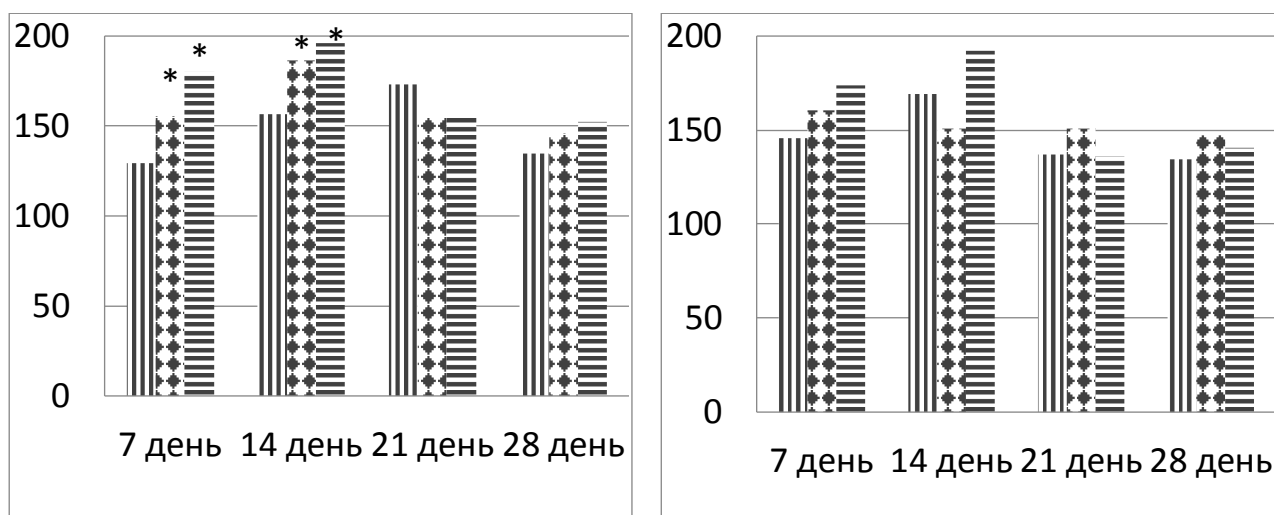


Рис. 2. Содержание щелочной фосфатазы в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), Е/л

Содержание ЛДГ в первые сроки поствакцинального периода несколько снизилось по сравнению с исходным уровнем, а к концу периода наблюдения даже превысило его (рис. 3). Уровень ЛДГ в крови лисиц, получавших янтарную кислоту, был почти на всем протяжении поствакцинального периода выше в группах, получавших янтарную кислоту. Максимальное количество ЛДГ в крови зафиксировано на 28 день после вакцинации в крови лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации.

**Применение живой вакцины.** Почти весь период наблюдения значения АСТ в группах, получавших янтарную кислоту, были выше, чем в группе зверей, вакцинированных без нее. Причем к концу наблюдения по этому показателю группа зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, несколько превосходила другую группу, получавшую этот же препарат. Однако, статистически значимых различий не выявлено, как и по содержанию АЛТ.

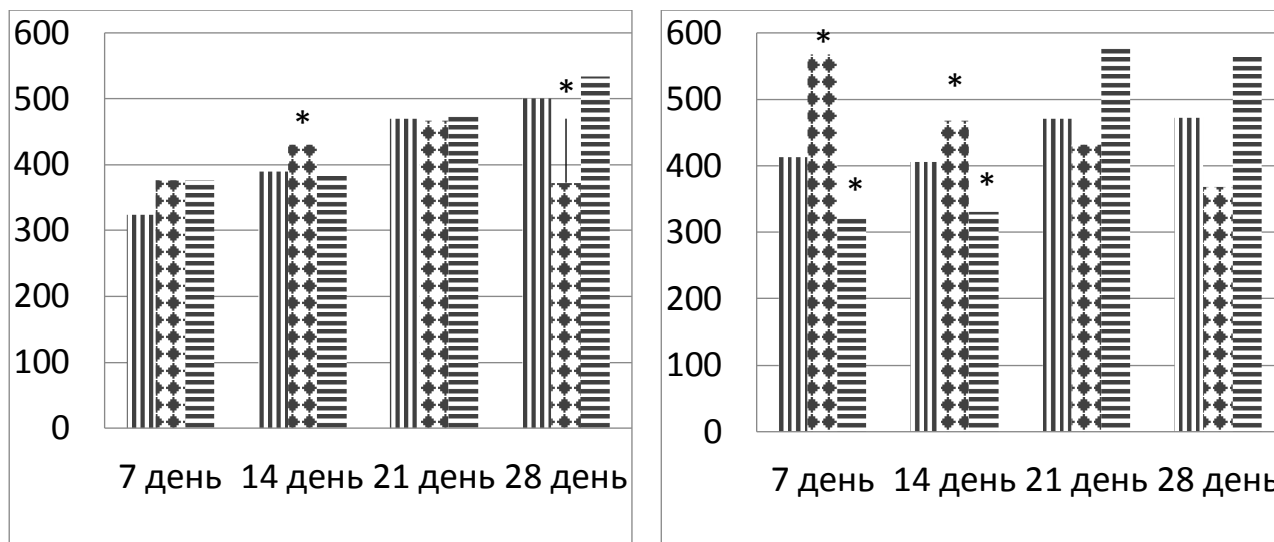


Рис. 3. Содержание лактатдегидрогеназы в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), Е/л

Активность ЩФ в крови повысилась после вакцинации лисиц, причем в большей степени в группах животных, получавших янтарную кислоту (рис. 2). Максимальное значение этого показателя отмечено на 14 день поствакцинального периода в крови зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, что на 13,6 % больше, по сравнению со значением показателя в группе вакцинированных лисиц.

Содержание ЛДГ в крови вакцинированных животных снизилось в первые сроки поствакцинального периода, а с 21 дня стало превосходить первоначальный уровень (рис. 3). При введении янтарной кислоты в корм в течение 5 дней до вакцинации произошло увеличение количества ЛДГ в крови на 7 день поствакцинального периода на 37,6 % ( $p < 0,05$ ), а затем – постепенное снижение значения показателя, по сравнению с лисицами, не получавшими ее. Дополнительное введение янтарной кислоты в течение 3 дней после вакцинации снизило активность ЛДГ в первые сроки после иммунизации, а на 21 день зафиксирован ее максимальный уровень, превышающий значение у вакцинированных зверей на 23,4 %.

### 3.1.3. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы

**Использование инактивированной вакцины.** После вакцинации наблюдали увеличение количества МДА в крови лисиц, особенно у зверей, которые получали янтарную кислоту в течение 5 дней до иммунизации (рис. 4). В последующие сроки содержание МДА в крови уменьшилось, вернувшись к исходному значению.

Активность церулоплазмينا снизилась после вакцинации, но в меньшей степени в группе, животные которой получали янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации (рис. 5). На 21 день поствакцинального

периода произошло восстановление уровня церулоплазмина до первоначального значения. При этом в крови лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, содержание церулоплазмина увеличилось больше, чем в других группах - на 8,9 %, по сравнению с вакцинированными зверями.

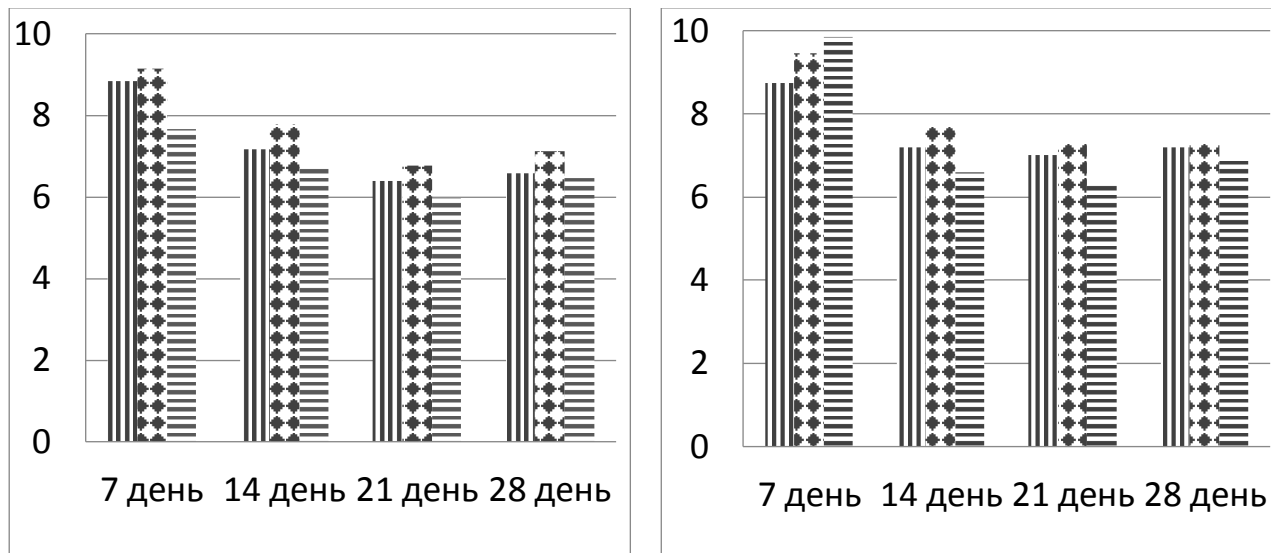


Рис. 4. Содержание малонового диальдегида в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), Е/л

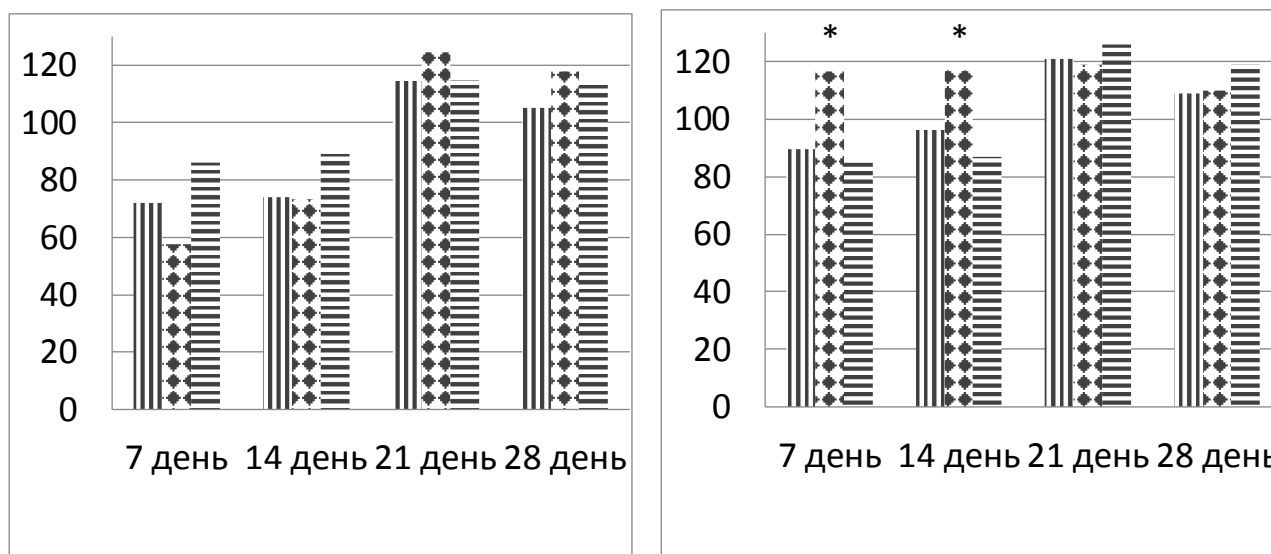


Рис. 5. Содержание церулоплазмина в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), мг/л

**Применение живой вакцины.** После вакцинации наблюдали увеличение количества МДА в крови лисиц, особенно у зверей, которые получали янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации (рис. 4). В последующие сроки содержание МДА в крови животных уменьшилось, особенно у лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации.

Активность церулоплазмина снизилась после вакцинации в крови зверей, за исключением группы, животные которой получали янтарную кислоту в

течение 5 дней до вакцинации (рис. 5). В крови лисиц этой группы уровень церулоплазмينا почти не изменился на протяжении наблюдения. Тем не менее максимальное содержание церулоплазмينا зафиксировано на 21 день поствакцинального периода в крови зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации. Это значение было на 4 % выше, чем уровень этого показателя в крови вакцинированных лисиц.

### 3.1.4. Изменение показателей фагоцитоза

**Использование инактивированной вакцины.** Уже на 7 день после вакцинации зафиксировано повышение фагоцитарной активности нейтрофилов (рис. 6). Наиболее высокие уровни отмечены в группах, животные которых получали в период вакцинации янтарную кислоту. Фагоцитарная активность в крови зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до, а также в течение 5 дней и 3 дней после вакцинации была больше, соответственно, на 13,5 ( $p < 0,05$ ) и 9,2 %, по сравнению с вакцинированными животными. В дальнейшие сроки уровень этого показателя уменьшался во всех подопытных группах.

Индекс фагоцитоза, как и фагоцитарная активность, повысился после вакцинации и достиг максимальных значений на 7 день поствакцинального периода. Наибольшее значение этого показателя отмечено в группе зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, оно на 25,0 % ( $p < 0,05$ ) выше, по сравнению с уровнем индекса фагоцитоза у вакцинированных лисиц. В последующие сроки поствакцинального периода значения этого показателя постепенно уменьшались во всех подопытных группах.

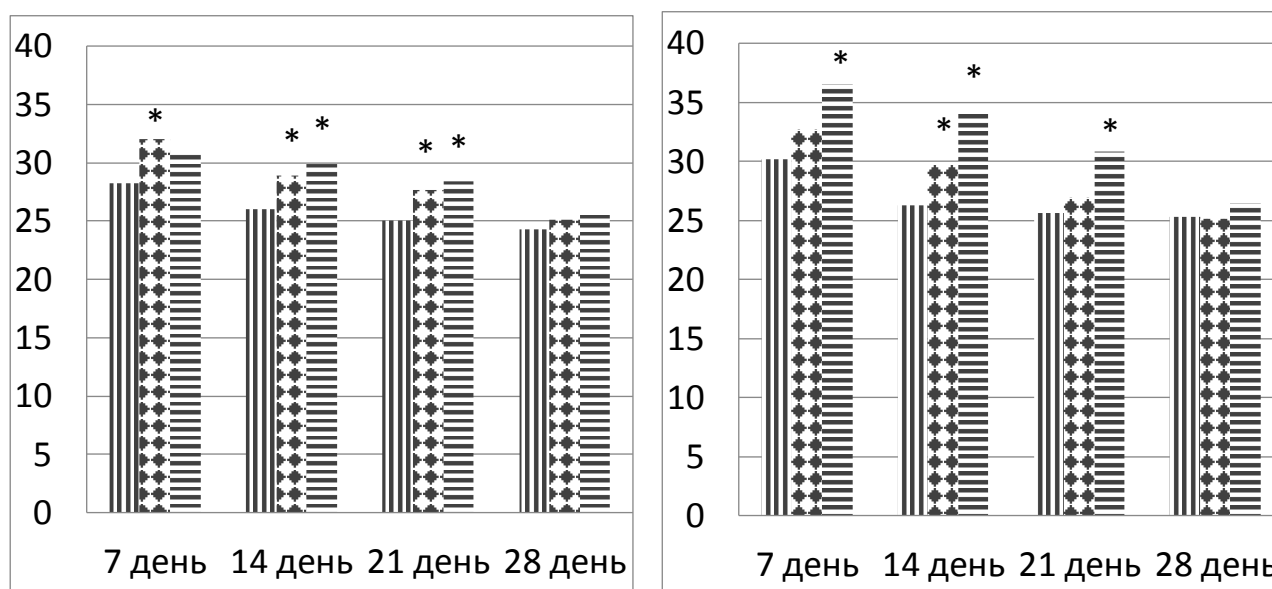


Рис. 6. Изменения фагоцитарной активности в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева)

**Применение живой вакцины.** Уже на 7 день после вакцинации зафиксировано повышение фагоцитарной активности нейтрофилов (рис. 6). Наиболее высокие уровни отмечены в группах, животные которых получали в

период вакцинации янтарную кислоту. Фагоцитарная активность в крови зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до, а также в течение 5 дней и 3 дней после вакцинации была больше, соответственно, на 8,3 и 20,9 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с вакцинированными животными. В дальнейшие сроки уровень этого показателя постепенно уменьшался во всех подопытных группах.

Индекс фагоцитоза, как и фагоцитарная активность, повысился после вакцинации и достиг максимальных значений на 7 день поствакцинального периода. Наибольшее значение этого показателя отмечено в группе зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, оно на 20,5 % ( $p < 0,05$ ) выше, по сравнению с уровнем индекса фагоцитоза у вакцинированных лисиц. В последующие сроки поствакцинального периода значения этого показателя постепенно уменьшались во всех подопытных группах.

### 3.1.5. Динамика гуморальных факторов неспецифической резистентности

**Использование инактивированной вакцины.** Количество  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови молодняка лисицы при иммунизации инактивированной вакциной на фоне скармливания животным янтарной кислоты увеличивается на 7 день поствакцинального периода, но только в группе зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации (рис. 7). Это повышение составило 1,5 % по сравнению с животными, не получавшими янтарную кислоту. На 14 день поствакцинального периода лисицы, которые получали с кормом янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации и в течение 5 дней и 3 дней после вакцинации, имели в крови более высокое содержание  $\gamma$ -глобулинов, соответственно, на 2,0 и 1,4 %, по сравнению с вакцинированными лисицами. В другие сроки поствакцинального периода уровень  $\gamma$ -глобулинов у животных, получавших препарат, был также выше, чем у зверей, не получавших ее.

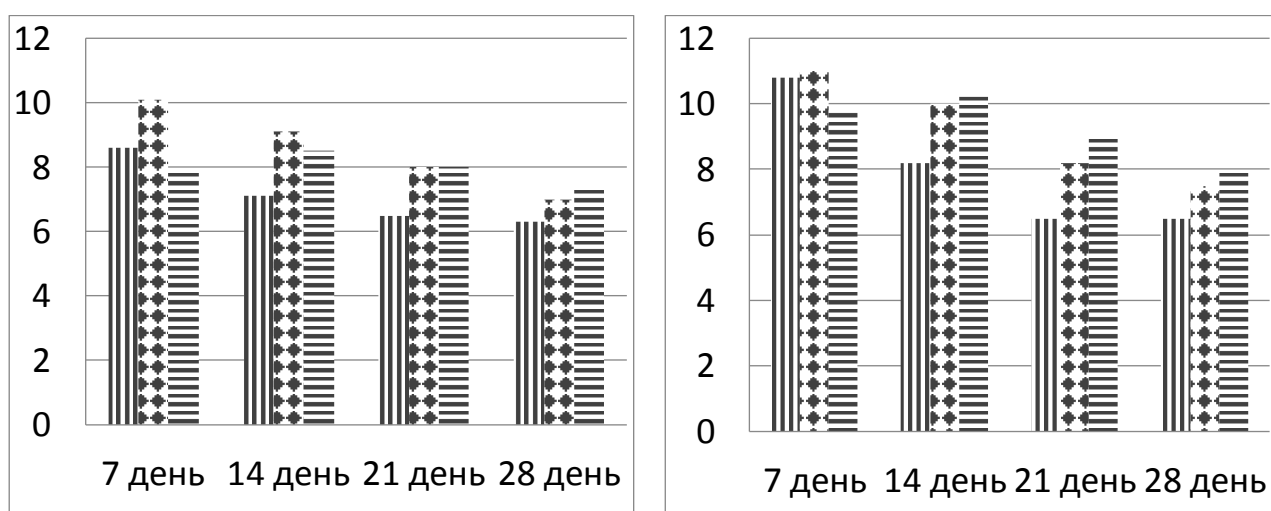


Рис. 7. Количество  $\gamma$ -глобулинов в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева), %

Максимальный уровень БАСК зарегистрирован на 7 и 14 дни поствакцинального периода в группе лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до иммунизации инактивированной вакциной, соответственно, на 8,1 ( $p < 0,05$ ) и 9,3 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с вакцинированными животными без янтарной кислоты. В последующие сроки поствакцинального периода уровень БАСК стал выше у зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации, по сравнению с лисицами других подопытных групп.

**Применение живой вакцины.** Количество  $\Upsilon$ -глобулинов на 7 день поствакцинального периода в сыворотке крови молодняка лисицы, иммунизированного живой вакциной на фоне скармливания животным янтарной кислоты в течение 5 дней до вакцинации, было максимальным и незначительно превосходило значение этого показателя у животных вакцинированных без янтарной кислоты (рис. 7). Но уже на 14 день содержание  $\Upsilon$ -глобулинов крови животных, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации стало превосходить уровень этого показателя у вакцинированных животных на 2,0 %. Такая тенденция сохранилась и в последующие сроки после иммунизации.

Максимальный уровень БАСК зарегистрирован на 14 день поствакцинального периода в группе лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации живой вакциной, что на 10,1 % ( $p < 0,05$ ) выше, по сравнению с вакцинированными животными без янтарной кислоты. В последующие сроки поствакцинального периода уровень БАСК также был выше у зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации, по сравнению с лисицами других подопытных групп.

### 3.1.6. Изменение титров антител к сальмонеллезу

**Использование инактивированной вакцины.** У молодняка лисицы титры антител к *Salmonella tifimurium* зафиксированы в наибольшем количестве на 7 день после введения убитой вакцины в группе, в которой янтарная кислота скармливалась в течение 5 дней до вакцинации (рис. 8). В этой группе увеличение титров на 7 день поствакцинального периода составило 38 % по сравнению с животными, которым янтарную кислоту не вводили в рацион. На 14 день после вакцинации максимальное содержание титров отмечено группе зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, которое составило 35 %. В последующие сроки именно у лисиц этой группы наблюдали превалирование уровня антител, по сравнению с животными, которые не получали при вакцинации янтарную кислоту.

Титры антител к *Salmonella holera suis* имеют наибольшее значение на 7 день после вакцинации (рис. 9). В группе молодняка лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, содержание антител на 40 % превосходит уровень антител у животных, иммунизированных убитой вакциной без введения в рацион янтарной кислоты. На 14 день поствакцинального периода наибольшие титры антител к сальмонеллезу отмечены у зверей, получавших



янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, что почти в 2 раза выше, чем у зверей, вакцинированных без препарата.

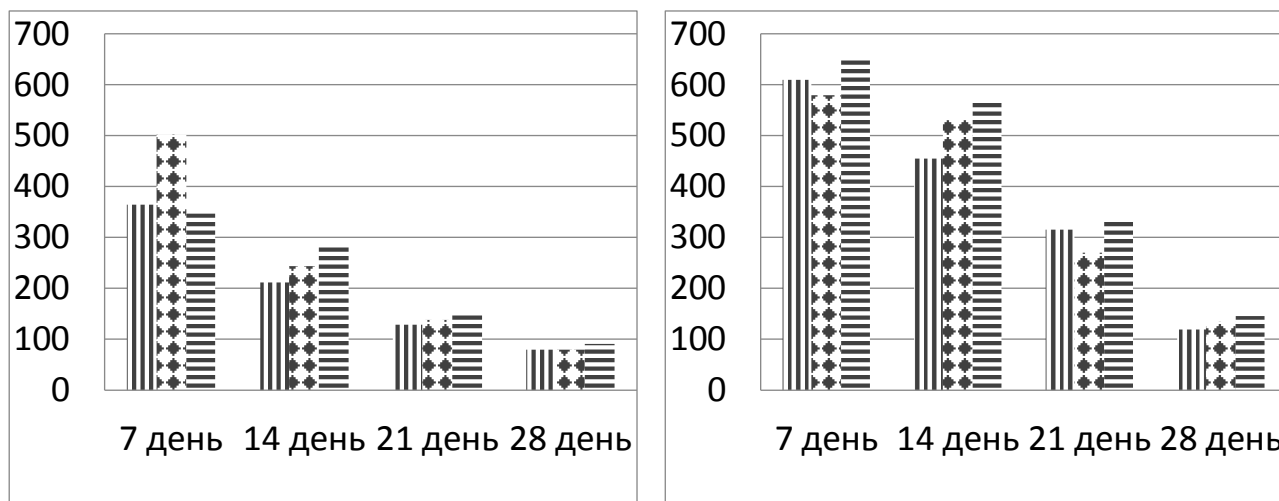


Рис. 8. Содержание титров антител к *Salmonella tifimurium* в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева)

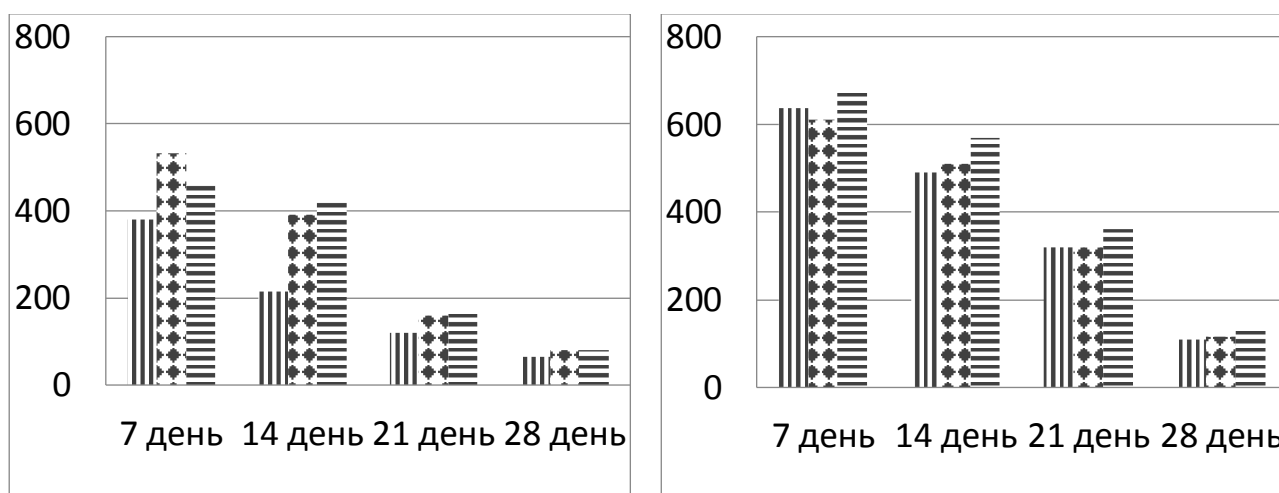


Рис. 9. Содержание титров антител к *Salmonella cholerae suis* в крови молодняка лисиц при иммунизации инактивированной (справа) и живой вакциной (слева)

**Применение живой вакцины.** У молодняка лисицы, вакцинированного живой вакциной, титры антител к *Salmonella tifimurium* зафиксированы в наибольшем количестве на 7 день поствакцинального периода в группе, в которой янтарная кислота скармливалась в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации (рис. 8). В этой группе увеличение титров на 7 день поствакцинального периода составило 7 % по сравнению с животными, которым янтарную кислоту не вводили в рацион. На 14 день после вакцинации максимальное содержание титров отмечено группе зверей, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации, - 24 %.

Титры антител к *Salmonella holera suis* также имеют наибольшее значение на 7 день после вакцинации в группе молодняка лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до и 3 дней после вакцинации (рис. 9). У этих животных содержание антител на 6 % превосходит уровень антител у животных, иммунизированных живой вакциной без введения в рацион янтарной кислоты. На протяжении всего периода наблюдения уровень титров в крови лисиц этой группы был выше, чем в крови зверей других подопытных групп.

### 3.2. Влияние янтарной кислоты на физиологические показатели крови взрослой лисицы в поствакцинальный период

#### 3.2.1. Изменение показателей белкового обмена

В крови взрослой лисицы после вакцинации наблюдали некоторое увеличение содержания общего белка с пиком на 14 день поствакцинального периода (рис. 10). При этом у лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, количество общего белка было больше на 3,8%.

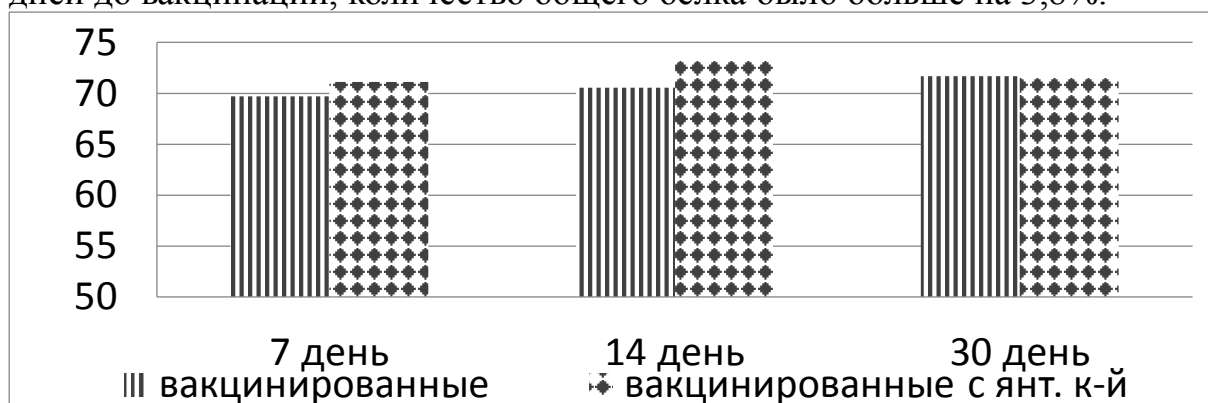


Рис. 10. Изменение содержания общего белка в крови взрослой лисицы в поствакцинальный период, г/л.

#### 3.2.2. Динамика лейкограммы крови

В лейкограмме крови лисиц на 7 день после вакцинации в крови животных отмечено значительное повышение содержания лимфоцитов на 11,8 % больше ( $p < 0,05$ ), чем в крови вакцинированных зверей (рис. 11).

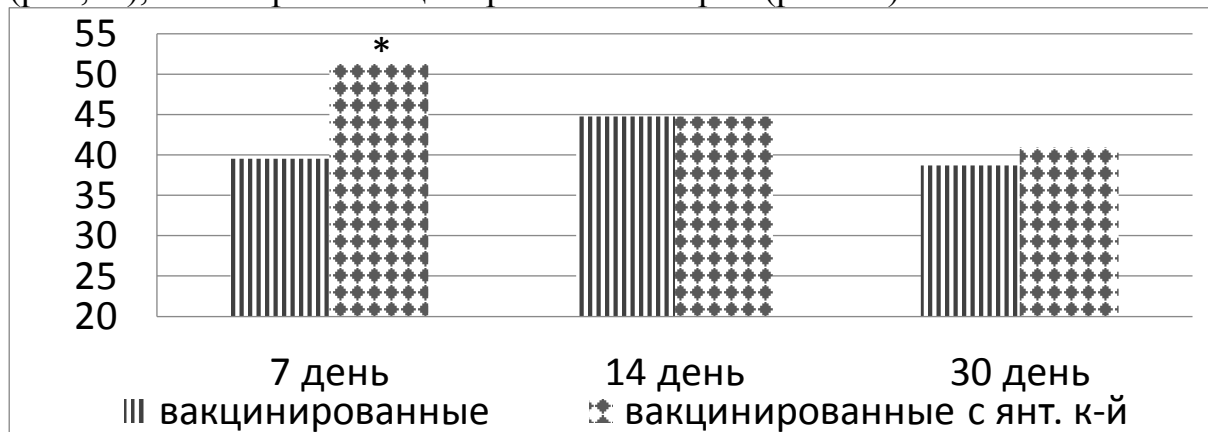


Рис. 11. Изменение процентного содержания лимфоцитов в лейкограмме крови взрослой лисицы в поствакцинальный период, %.

В лейкограмме крови у лисиц, получавших янтарную кислоту в период иммунизации, на 7 день поствакцинального периода произошло уменьшение количества нейтрофилов, в частности, сегментоядерных на 12,0 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с вакцинированными зверями.

Зафиксировано снижение количества эозинофилов в крови животных, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации на 1-2,8 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с лисицами, не получавшими ее в период вакцинации.

### 3.2.3. Изменение показателей фагоцитоза

Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у вакцинированных лисиц повышается после вакцинации и достигает своего пика на 14 день поствакцинального периода (рис. 12). Значение этого показателя у животных, получавших янтарную кислоту в период вакцинации, увеличилось на 13,6 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с вакцинированными зверями. Но произошло это повышение раньше – на 7 день поствакцинального периода.

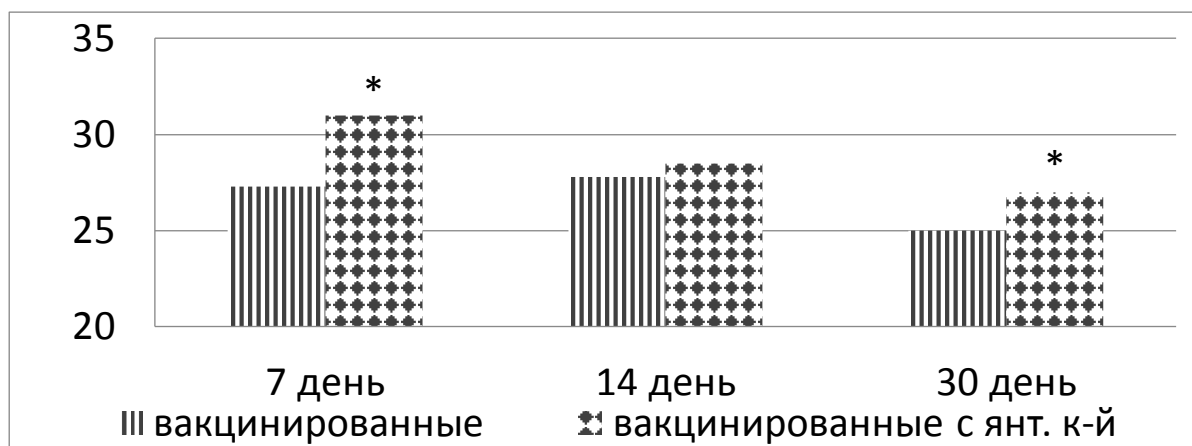


Рис. 12. Изменение фагоцитарной активности в крови взрослой лисицы в поствакцинальный период.

Индекс фагоцитоза на 7 день поствакцинального периода у лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, выше на 15,6 % ( $p < 0,05$ ), на 14 день после иммунизации – на 40,5 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с зверями вакцинированными без янтарной кислоты.

### 3.2.4. Динамика гуморальных факторов неспецифической резистентности организма

Наибольший уровень  $\gamma$ -глобулинов зафиксирован на 14 день после иммунизации (рис. 13). Введение в течение 5 дней до вакцинации янтарной кислоты способствовало значительному повышению содержания  $\gamma$ -глобулинов в крови зверей на 2,7 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с уровнем этого показателя в крови лисиц, по получавших янтарную кислоту.

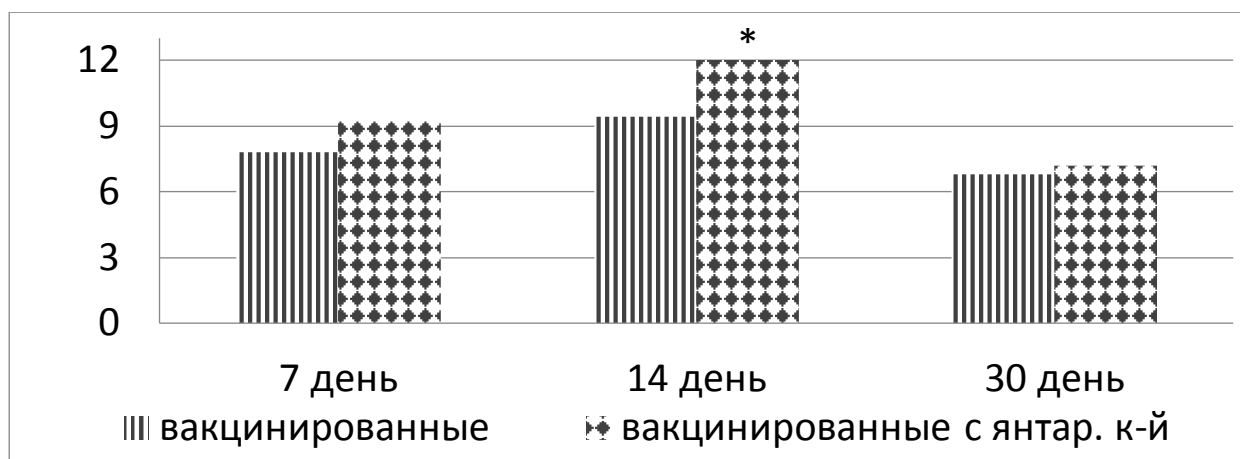


Рис. 13. Изменение содержания  $\gamma$ -глобулинов в крови взрослой лисицы в поствакцинальный период, %

Уровень БАСК повышается после вакцинации, достигая максимального значения на 14 день поствакцинального периода (рис. 14). В этот период значение БАСК у лисиц, получавших янтарную кислоту в течение 5 дней до вакцинации, превосходит уровень этого показателя у вакцинированных зверей на 6,3 %.

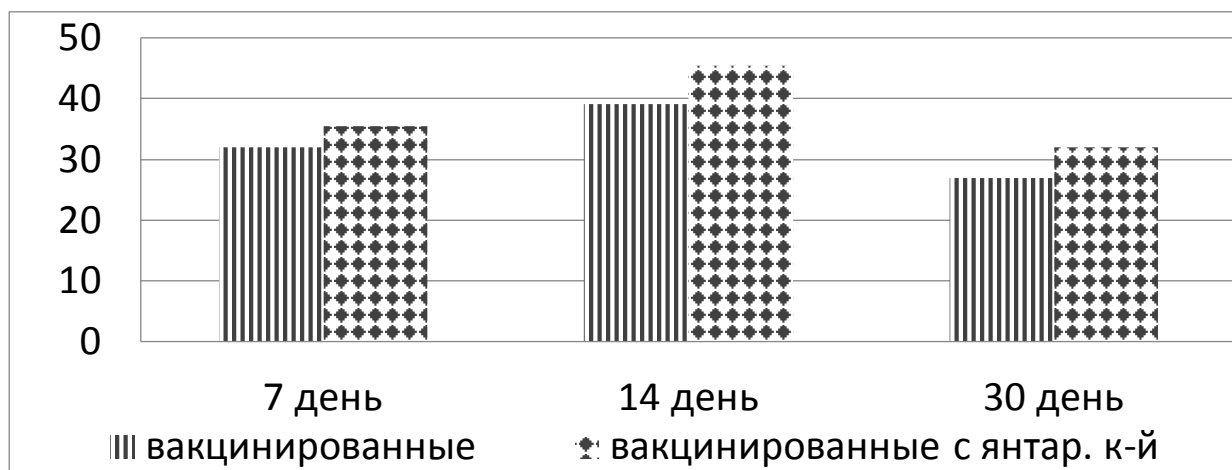


Рис.14. Динамика бактерицидной активности сыворотки крови у взрослой лисицы в поствакцинальный период, %

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов позволил сформулировать следующие итоги выполненного исследования, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы:

### Итоги выполненного исследования:

1. Физиологические показатели крови у лисицы в поствакцинальный период имеют более высокий уровень при использовании живой вакцины, чем инактивированной.

2. Янтарная кислота, введенная в рацион зверей в течение 5 дней до или 5 дней до и 3 дней после вакцинации, независимо от возраста лисиц в поствакцинальный период:
  - активизирует белковый обмен за счет увеличения количества общего белка на 29 %, содержания  $\gamma$ -глобулинов - на 18 %;
  - изменяет состояние ферментной системы за счет оптимизации отношения АСТ/АЛТ, повышения активности ЩФ на 18 % и ЛДГ – на 36 %;
  - уменьшает содержание продукта ПОЛ – малонового диальдегида и увеличивает уровень SH-групп белков и церулоплазмينا.
  - повышает уровень факторов неспецифической клеточной резистентности за счет активизации фагоцитоза на 5-7 %, увеличения количества лимфоцитов на 26 % и уменьшения числа эозинофилов в лейкограмме;
  - увеличивает количество гуморальных факторов неспецифической резистентности за счет увеличения содержания общих иммуноглобулинов на 22 %, БАСК – на 31 %;
  - повышает содержание титров антител на 37 %.
3. Изменение физиологических показателей крови у молодняка лисицы достигает максимальных значений в основном на 7 день, у взрослой лисицы – на 14 день поствакцинального периода.
4. Янтарная кислота способствует снижению реактивности организма, активизации обмена веществ и формированию более напряженного иммунитета у лисиц в поствакцинальный период при введении в корм в течение 5 дней до иммунизации инактивированной вакциной, и в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации живой вакциной.

#### **Рекомендации:**

С целью снижению реактивности организма, активизации обмена веществ и формированию более напряженного иммунитета у лисиц в поствакцинальный период целесообразно включать в рацион янтарную кислоту:

- в течение 5 дней до вакцинации - при использовании инактивированной вакцины;
- в течение 5 дней до и 3 дней после иммунизации – при применении живой вакцины.

#### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в необходимости изучения изменений физиологических показателей крови у разных видов пушных зверей в поствакцинальный период под влиянием различных биологически активных веществ.

#### **Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:**

##### **Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК**

1. Беспятовых О.Ю., Кокорина А.Е., Тебенькова Т.В., Бельтюкова З.Н., Домский И.А., Березина Ю.А. Влияние янтарной кислоты на формирование поствакцинального иммунитета у лисиц // Вестник ветеринарии. 2011. № 59 (4/2011). С. 171-176.

2. Беспятых О.Ю., Домский И.А., Бельтюкова З.Н., Кокорина А.Е., Тебенкова Т.В. Состояние антиоксидантной и иммунной систем лисиц и песцов в поствакцинальный период при добавлении в корм янтарной кислоты // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 2. С. 106-112.
3. Тебенкова Т.В., Беспятых О.Ю., Кокорина А.Е. Иммунобиохимические особенности взрослых лисиц в поствакцинальный период перед гоном // Кролиководство и звероводство. 2017. № 3. С. 93-94.
4. Тебенкова Т.В., Сухих О.Н., Кокорина А.Е., Березина Ю.А., Беспятых О.Ю. Белковый обмен у доместигированных лисиц (*Vulpes vulpes* L.) разных генотипов постнатальном онтогенезе // Международный вестник ветеринарии. 2018. № 4. С. 115-119.

#### **Патент РФ**

5. Домский И.А., Беспятых О.Ю., Бельтюкова З.Н., Березина Ю.А., Окулова И.И., Кокорина А.Е., Пушкарева (Тебенкова) Т.В. Способ вакцинации пушных зверей. Патент РФ на изобретение № 2431498. Зарегистрировано в Гос. Реестре изобретений 20.10.2011г.

#### **Работы, опубликованные в материалах конференций и других изданиях**

6. Беспятых О.Ю., Домский И.А., Березина Ю.А., Бельтюкова З.Н., Кокорина А.Е., Пушкарева (Тебенкова) Т.В. Влияние бутандиовой кислоты на физиологические показатели крови лисицы // Актуальные проблемы ветеринарной биологии: Сб. тр., посв. 90-летию МГАВМиБ имени К.И. Скрябина. М., 2009. С. 80-82.
7. Bespyatykh O.Yu., Kokorina A.E., Tebenkova T.V., Domskiy I.A., Beltyukova Z.N. The influence of succinic acid in the formation of immunity against salmonellosis in foxes // Scientifur. 2012. Vol. 36 (3/4). P.172-176.
8. Тебенкова Т.В., Кокорина А.Е., Беспятых О.Ю. Коррекция антиоксидантной системы защиты молодняка красной лисицы в поствакцинальный период // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: материалы: Междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 95-летию ВНИИОЗ им.проф. Б.М. Житкова. –Киров, 2017. – С. 357-360

#### **Научно-методические разработки**

9. Беспятых О.Ю., Кокорина А.Е., Тебенкова Т.В. Наставление по применению в звероводстве янтарной кислоты для повышения продуктивности пушных зверей. Киров, 2011. 15 с.

#### **Список сокращений и условных обозначений:**

ЯК – янтарная кислота, АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспаратаминотрансфераза, ЛДГ – лактатдегидрогеназа, ЩФ – щелочная фосфатаза, БАСК – бактериальная активность сыворотки крови, МДА – малоновый диальдегид, ПОЛ – перекисное окисление липидов, АОС – антиоксидантная система.

ТЕБЕНЬКОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

ВЛИЯНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ  
КРОВИ У ЛИСИЦЫ В ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

06.02.09 – звероводство и охотоведение

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Подписано в печать 24.01.2019 г.  
Заказ 1. Объем 1 п.л. Тираж 100 экз.

Отпечатано в научно-информационном отделе  
ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова  
610000, г. Киров, ул. Преображенская, 79.