

УДК 619:636.09:616.98:636.5

Фотіна Г.А., к. вет. н., доцент, **Березовський А.В.**, д. вет. н., професор
Олефір О.М., аспірант (annafotina@mail.ru) ©
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОЇ ІМУНОСТИМУЛЮЮЧОЇ ДОЗИ ПРЕПАРАТУ «АВЕССТИМ™» НА БРОЙЛЕРАХ

У роботі надані результати визначення оптимальної імуностимулюючої дози для бройлерів препарату «Авесстим™». Були проведені дві серії дослідів на курчатах-бройлерах. Встановили позитивний вплив імуностимулятора «Авесстим™» на приріст маси тіла курчат дослідних груп порівняно з контролем, який корелював зі збільшенням застосованої дози.

Помітне підвищення показників приросту (5,6%) відмічене, починаючи з дози 5,0 мг/кг маси тіла. За рівнем накопичення імуноглобулінів усіх класів кращі результати спостерігали при введенні імуностимулятора дозами 7,5 та 10,0 мг/кг, але доза 5,0 мг/кг маси тіла була досить близькою за ефективною, тому, за незначною розбіжністю в показниках цих груп – її можна вважати оптимальною. За результатами біохімічних та імуноморфологічних досліджень довели, що оптимальною дозою препарату «Авесстим™» є 5,0 мг/кг маси тіла, яка підвищує імунний статус птиці.

Ключові слова: препарат «Авесстим™», оптимальна доза, курчата-бройлери, імуностимулятор.

УДК 619:636.09:616.98:636.5

Фотіна А.А., к. вет. н., доцент, **Березовський А.В.**, д. вет. н., професор
Олефір А.Н., аспірант (annafotina@mail.ru)
Сумской національний аграрний університет, г. Сумы, Украина

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ ПРЕПАРАТА «АВЕССТИМ™» ДЛЯ БРОЙЛЕРОВ

В работе представлены результаты по определению оптимальной иммуностимулирующей дозы для бройлеров препарата «Авесстим™». Были проведены две серии опытов на цыплятах-бройлерах. Установили положительное влияние иммуностимулятора «Авесстим™» на прирост массы тела цыплят опытных групп, в сопоставлении к контролю, который коррелировал с увеличением примененной дозы. Заметное повышение показателей прироста (5,6%) отмечено начиная с дозы 5,0 мг / кг массы тела. По уровню накопления иммуноглобулинов всех классов лучшие результаты наблюдали при введении иммуностимулятора в дозах 7,5 и 10,0 мг / кг, но доза 5,0 мг / кг массы тела была достаточно близкой по эффективности, поэтому, учитывая незначительные расхождения в показателях этих групп - ее можно считать оптимальной. По результатам биохимических и

иммуноморфологических исследований можно сделать вывод, что оптимальной дозой препарата «Авесстимtm» является 5,0 мг / кг массы тела, которая повышает иммунный статус птицы.

***Ключевые слова:** препарат «Авесстимtm», оптимальная доза, цыплята-бройлеры, иммуностимулятор.*

Fotina H.A. Berezovskyi A.V., Olefir A.N.
Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

DETERMINATION OF THE OPTIMAL DOSE OF THE IMMUNOSTIMULATORY DRUG «AVESSTIMTM» FOR BROILERS

The paper presents the results of determination of the optimal dose for broilers immunostimulatory drug "Avesstimtm." Were carried out two series of experiments on broiler chickens. Established a positive impact of immunostimulant "Avesstimtm" on body weight gain of chickens of experimental groups, as compared to the control, which correlated with an increase in the applied dose. A significant increase in indicators of growth (5.6%) was observed starting with a dose of 5.0 mg / kg body weight. Accumulation level of immunoglobulins of all classes best results were observed when administered in doses immunopotentiator 7.5 and 10.0 mg / kg, but a dose of 5.0 mg / kg body weight was close enough efficiency, however, considering the minor discrepancies in these groups - it may be considered optimal. According to the results of biochemical and immunomorphological studies we can conclude that the optimal dose of the drug "Avesstimtm" is 5.0 mg / kg body, which improves the immune status of the bird.

***Keywords:** drug "Avesstimtm" optimal dose, broiler chickens, an immune stimulant.*

Вступ. Птахівнича галузь у даний час інтенсивно розвивається і потребує належного ветеринарного забезпечення. Разом з тим, хвороби заразної етіології досить поширені і завдають значних економічних втрат промислового птахівництву [4, 12]. Для зарубіжних та вітчизняних авторів доцільність застосування вакцинопрофілактики не виклика сумнів, тому що затрати, виділені на її проведення, значно менші за збитки, що можуть спричинити різновиди збудників інфекцій [7-9, 14]. На даний час в більшості випадків у промислового птахівництві вакцини застосовують у схемах специфічної профілактики для так званої бустерної імунізації птиці проти ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК), інфекційної бурсальної хвороби птиці (ІБХ), синдрому зниження яйценосності (СЗЯ-76) тощо. Проте, жодна вакцина не гарантує 100% імунітету. Ступінь та рівень захисту після вакцинації часто є недостатнім, це приводить до так званого «прориву імунітету» [1, 9, 11]. Причини цього є різні. Це фактори, обумовлені властивостями вакцини (невідповідний штам, сильна аттенуація, слабкий адьювант тощо); прорахунками спеціалістів (неправильні умови чи

протерміновані строки зберігання вакцин, порушення графіка вакцинації тощо); господарські фактори (неповноцінна годівля, стресові ситуації, контакт із джерелом інфекції тощо) [6, 8, 15].

Ми також встановили раніше, що у 100-денному віці лише 38 - 45% поголів'я курчат мали антитіла до вірусу ІБ та 63-74% курчат мали антитіла до вірусу ІЕМ [2]. Тому для підвищення ефективності вакцин багато дослідників пропонують застосовувати імуностимулятори різного походження та різних форм [7, 9, 13]. У ході доклінічних досліджень та виробничих випробувань нового вітчизняного препарату «Авесстим™» отримано ряд позитивних результатів [2, 3]. Дана публікація є їх проводженням.

Матеріали і методи. Робота виконувалася на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету.

Діючою речовиною експериментального препарату «Авесстим™» є морфоліній 2-[5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо] ацетат, який належить до похідних тріазолу. Він, в оптимальних дозах, активізує окремі біохімічні процеси в клітинах; проявляє антиоксидантну, імуномодельючу, протизапальну, гепатопротекторну та детоксикаційну дію; нормалізує обмін речовин. Препарат посилює специфічну імунну відповідь на введення вакцин та підвищує резистентність організму до хвороб вірусної етіології.

Визначення імуностимулюючого впливу препарату «Авесстиму™» провели в два етапи. На першому етапі дослідження було задіяно 30 курчат бройлерів. З них сформували 6 аналогічних груп (n=5) по 4 курочки та одному півнику, з яких група №1 – визначена як контрольна, групи за №№ 2, 3, 4, 5 та 6 – дослідні. Курчатам дослідних груп індивідуально ввели експериментальний препарат «Авесстим™» у наступних дозах (за АДР, мг/кг маси тіла): №2 – 1,0; №3 – 2,5; №4 – 5,0; №5 – 7,5; №6 – 10,0. Визначення імуноглобулінів основних класів (А, М, G) у сироватці крові проводили за методом G. Mancini простої радіальної імунодифузії в гелі [10]. У дослідях використовували VastoagartypUSY (Німеччина), еталонні та моноспецифічні сироватки. Еталонні сироватки відповідали світовим стандартам. Загальний рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦК) та їхній фракційний склад за молекулярною масою визначали методом преципітації в розчині поліетиленгліколю з молекулярною масою 6000 Дальтон (за М. Digeonet al. у модифікації Г. Фримеля). Імуноморфологічні дослідження виконували на макроскопічному рівні. При цьому проводили огляд дослідної птиці і їх внутрішніх органів. Розраховували індекси тимуса, бурси Фабриціуса та селезінки.

На другому етапові дослідів з'ясовували імуностимулюючий ефект препарату «Авесстим™» при вакцинації бройлерів проти ньюкаслської хвороби. На цьому етапі дослідження було задіяно 60 курчат. З них сформували 6 аналогічних груп (n=10) по 9 курочок та одному півнику, з яких група №1 – визначена як контрольна, групи за №№ 2, 3, 4, 5 та 6 – дослідні.

За два дні до проведення вакцинації та два дні після вакцинації курчатам дослідних груп індивідуально вводили експериментальний препарат

«Авесстим™» у наступних дозах (за АДР, мг/кг маси тіла): №2 – 1,0; №3 – 2,5; №4 – 5,0; №5 – 7,5; №6 – 10,0.

Результати оцінювалися за серологічними, біохімічними та імуноморфологічними дослідженнями. Реакцію гемаглютинації (РГА) та реакцію затримки гемаглютинації (РЗГА) проводили за загальновідомими методиками. У РГА визначали титри вірусу, а в РЗГА – титри антигемаглютининів. Серологічні дослідження проводили при визначенні рівня поствакцинального імунітету після щеплення вірус-вакциною «Ла-Сота» проти ньюкаслської хвороби. Рівень серомукоїдів визначали турбідиметричним методом за В.С. Калашниковим.

Бактерицидну активність сироватки крові визначали за оптичною густиною м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) при рості в ньому мікробів з додаванням та без додавання досліджуваної сироватки. Для постановки реакції використовували 24-годинні бульйонні культури *E. coli* штаму 02. Реакцію ставили за загальноприйнятою методикою.

Для визначення лізоцимної активності використовували ацетоновий порошок культури *Micrococcuslysodeicticus*, штаму 2665.

Морфометричними вимірами бурси Фабриціуса у п'яти найбільших лімфоїдних вузликів визначали середню товщину кіркового шару шляхом підрахунку кількості рядів клітин у широкій та вузькій його частинах. Підраховували морфофункціональний потенціал (МФП) лімфоїдних вузликів шляхом множення довжини лімфоїдних вузликів на ширину їхнього кіркового шару з подальшим сторазовим зменшенням результату.

При імуноморфологічному дослідженні тимуса враховували розвиненість кіркового шару. Для цього обчислювали співвідношення товщини мозкової речовини з товщиною кіркового шару з обох сторін часточки по її середині. Отримували мозково-кіркове співвідношення (МКС).

Результати досліджень. В ході проведення першого етапу досліду на бройлерах двотижневого віку встановлено, що із збільшенням дозування спостерігалось зростання контрольованих показників (табл. 1). Мінімальні дози 1,0 та 2,5 мг/кг маси тіла (за АДВ) породжували незначне зростання вмісту імуноглобулінів і збільшення загальної маси та індексів тимуса, селезінки та бурси Фабриціуса. Наступна доза – 5 мг/кг маси тіла, значно відрізнялась активністю у бік збільшення. Під її впливом показники зростали відповідно: рівень IgG на 24,7% – до $8,03 \pm 0,036$ мг/см³ (P<0,001); рівень IgM на 18% – до $1,64 \pm 0,04$ мг/см³ (P<0,001); рівень IgА на 48,6% – до $0,52 \pm 0,01$ мг/см³ (P<0,001). Подальше збільшення доз до 7,5 та 10 мг/кг маси курчат викликало деяке наступне підвищення цих показників, відповідно: IgG $8,08 \pm 0,05$ мг/см³ (P<0,001) та $8,10 \pm 0,03$ мг/см³ (P<0,001); IgM $1,67 \pm 0,04$ мг/см³ (P<0,001) та $1,67 \pm 0,05$ мг/см³ (P<0,001), та IgА $0,54 \pm 0,01$ мг/см³ (P<0,001) та $0,54 \pm 0,012$ мг/см³ (P<0,001).

Маси органів та величина індексів тимуса, бурси Фабриціуса і селезінки також збільшувались пропорційно до дози експериментального препарату. Найвищими ці показники були відмічені у курчат, які отримували максимальну

дозу препарату. Проте уже дози 2,5 та 5,0 мг/кг (третья та четверта групи) забезпечували зростання індексів: тимуса – на 25,9 і 27,7% відповідно; бурси Фабриціуса – на 23,9 і 31,3%; селезінки – на 7,1 і 7,8% відповідно. У четвертій та п'ятій групах показники були дещо вищими, а різниця коливалася в межах статистичної вірогідності.

Таблиця 1

Результати визначення імуностимулюючої дії препарату «Авесстим™» (M±m, n=5)

Критерії оцінки	Контроль, група №1	Дослідні групи, дози Авесстиму, мг/кг (за АДВ)				
		1,0 група №2	2,5 група №3	5,0 група №4	7,5 група №5	10,0 група №6
Рівень IgG, мг/см ³	6,44±0,042	7,70±0,04*	7,81±0,032*	8,03±0,036*	8,08±0,05*	8,10±0,03*
Рівень IgM, мг/см ³	1,39±0,04	1,59±0,02*	1,61±0,04*	1,64±0,04*	1,67±0,04*	1,67±0,05*
Рівень IgA, мг/см ³	0,35±0,013	0,48±0,01*	0,50±0,015*	0,52±0,01*	0,54±0,01*	0,54±0,01*
Маса тимусу, мг	1016,4±0,06	1260,4±0,064*	1344±0,062*	1371,28±0,061*	1424,4±0,038*	1435,1±0,054*
Індекс тимусу	4,40±0,012	5,48±0,014*	5,54±0,013*	5,62±0,016*	5,63±0,015*	5,65±0,01*
Маса бурси, мг	1004,85±0,05	1232,8±0,045*	1368±0,041*	1393,24±0,024*	1467±0,05*	1478,28±0,025*
Індекс бурси	4,35±0,013	5,36±0,01*	5,39±0,01*	5,71±0,019*	5,80±0,016*	5,82±0,01*
Маса селезінки, мг	295,64±0,051	310,5±0,0*	326,4±0,03*	334,28±0,0*	344±0,02*	347,98±0,023*
Індекс селезінки	1,28±0,02	1,35±0,05*	1,37±0,06*	1,38±0,05*	1,36±0,04*	1,37±0,03*
Маса тіла, г	231±3,19	230±2,6	235±4,36	244±3,52	253±4,35	254±4,46

Примітка: *-P<0,001

На цьому етапі дослідів встановлено позитивний вплив імуностимулятора «Авесстим™» на приріст маси тіла курчат дослідних груп порівняно з контролем, який корелював зі збільшенням застосованої дози.

Помітне підвищення показників приросту (5,6%) відмічено починаючи з дози 5,0 мг/кг маси тіла.

Таким чином встановлено, що за впливом на показники імунної системи, рівнем ефективності та раціональним використанням препарату дозу 5,0 мг/кг маси тіла слід вважати оптимальною.

На другому етапі досліджень, при з'ясуванні імуностимулюючої ефективності препарату «Авесстим™» при вакцинації проти ньюкаслської хвороби встановлено, що за результатами РЗГА (табл. 2) досить результативною імуностимулюючою дозою препарату для курчат був максимальний показник – 10 мг/кг на маси.

Під його впливом, стосовно контролю, титр збільшився на 2,09 log₂ (37,3%). Проте дози 5,0 та 7,5 мг/кг маси також забезпечували суттєво виражені імуностимулюючі властивості. Різниця між результатами четвертої (36,9%),

п'ятої (37,1) та шостої (37,3%) дослідних груп була незначною і статистично невірогідною. Що стосується показників 2-ї та 3-ї груп, де доза дорівнювала відповідно 1,0 та 2,5 мг/кг маси, то там показники були значно нижчими, за рівнем накопичення імуноглобулінів усіх класів кращі результати спостерігали при введенні імуностимулятора дозами 7,5 та 10,0 мг/кг, але доза 5,0 мг/кг маси тіла була досить близькою до ефективної, тому, за незначною розбіжністю в показниках цих груп, – її можна вважати оптимальною.

Таблиця 2.

Визначення оптимальної імуностимулюючої дози препарату «Авесстим™» при щепленні вакциною Ла-Сота (M±m, n=10)

Критерії оцінки	Вірус-вакцина Ла-Сота					
	Контроль , група №1	Доза імуностимулятора Авесстим,мг/кг маси				
		1,0	2,5	5,0	7,5	10,0
		2 група	3 група	4 група	5 група	6 група
Титр антигемоглобінів, log ₂ .	5,6±0,01	6,66±0,07*	6,67±0,06*	7,67±0,07*	7,68±0,07*	7,69±0,05*
Рівень IgG, мг/см ³	8,59±0,01	8,61±0,01*	9,02±0,014*	9,62±0,016*	9,63±0,014*	9,65±0,011*
Рівень IgM, мг/см ³	1,39±0,05	1,51±0,02*	1,52±0,007*	1,62±0,014*	1,62±0,007*	1,63±0,02*
Рівень IgA, мг/см ³	0,62±0,014	0,640±0,013*	0,651±0,012*	0,670±0,016*	0,67±0,012*	0,675±0,015*
ЦІК, мг/см ³	0,07±0,002	0,08±0,02*	0,09±0,025*	0,09±0,03*	0,10±0,02*	0,10±0,001*
Серомукоїди, мг/см ³	2,75±0,025	1,1±0,032*	0,8±0,01*	0,6±0,02*	0,4±0,03*	0,2±0,02*
Бактерицид. активність,%	60±0,02	80±0,021*	81±0,04*	81,5±0,03*	82±0,03*	82,5±0,04*
Лізоцимна активність, мг/см ³	1,03±0,025	1,40±0,02*	1,41±0,03*	1,43±0,024*	1,45±0,02*	1,46±0,03*
Т-лімфоцити, Е-РОК, %	43±0,15	50±0,25*	49±0,15*	54±0,2*	62±0,1*	72±0,12*
В-лімфоцити ЕАС- РОК,%	13±0,15	18±0,1*	20±0,09*	22±0,12*	24±0,11*	27±0,23*
Індекс тимусу	4,36±0,011	4,60±0,01*	5,60±0,014*	5,64±0,02*	5,63±0,012*	5,65±0,014*
Індекс бурси	4,42±0,01	5,04±0,01*	5,23±0,013*	5,74±0,012*	5,75±0,013*	5,78±0,01*
Індекс селезінки	1,28±0,003	1,30±0,00*	1,34±0,002*	1,34±0,03*	1,35±0,002*	1,35±0,01*

Примітка: *-P<0,001

Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) також збільшувався зі збільшенням дози імуностимулятора.

Рівень серомукоїдів у сироватці крові найвищим був у контрольній групі і склав $2,75 \pm 0,025$ мг/см³ ($P < 0,001$), а при вживанні імуностимулятора цей показник знижувався.

Було досліджено бактерицидну та лізоцимну активність сироватки крові у курчат. Так, найбільш виражена бактерицидна активність була у курчат, які отримували препарат «Авесстим™» у дозі 5,0 7,5 та 10,0 мг/кг маси тіла. Кількість Т-лімфоцитів найбільше було виявлено у 6 групі, але збільшення цього показника проходило нерівномірно. При дозі 5,0 мг/кг маси тіла кількість Т-лімфоцитів значно збільшувалась порівняно з контрольною групою. Найменша кількість В-лімфоцитів була в контрольній групі – $13 \pm 0,15\%$, а найбільше значення було виявлено у курчат 6 групи – $27 \pm 0,23\%$ ($P < 0,01$), але достатньо ефективно підвищення цього показника порівняно з контролем відмічено при дозі 5,0 мг/кг маси курчат четвертої групи ($22 \pm 0,12\%$).

Висновок. За результатами біохімічних та імуноморфологічних досліджень встановлено, що оптимальною дозою препарату «Авесстим™» є 5,0 мг/кг маси тіла, яка підвищує імунний статус птиці.

Перспективи подальших досліджень. Будуть проведені досліді щодо встановлення оптимальних доз препарату для індичок та водоплавної птиці.

Література

1. Алиева А.К. Иммунобиологические свойства живой вакцины против инфекционной бурсальной болезни птиц / А.К. Алиева, В.И. Смоленский // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 4. – С. 16-18.
2. Березовський А.В. Застосування препарату Авесстим™ для підвищення ефективності вакцинопрофілактики ремонтного молодняку яйценосних курей/ А.В. Березовський, Г.А. Фотіна, О.М. Олефір // Птахівництво: Міжвід. тем. наук. зб. – Харків, 2012. – Вип. 69. – С. 155-160.
3. Березовський А.В. Вплив препарату Авесстим™ на резистентність курчат-бройлерів/ А.В. Березовський, Г.А. Фотіна // Науково-технічний бюлетень. – Львів, 2012. – Вип. 13. - №1-2. – С. 378-381.
4. Бирман Б.Я. Иммунодефициты у птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск: Бизнесофест, 2001. – 139 с.
5. Болотников И.А. Иммунопрофилактика инфекционных болезней птиц / И.А. Болотников. – М.: Россельхозиздат, 1982. – 183 с.
6. Борисов В.В. Влияние температурных условий хранения на антигенные свойства инактивированной ассоциированной вакцины против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76 / В.В. Борисов, В.Н. Бирза, А.В. Борисов и др. // Труды ВГНКИ. – Москва. 2004. – Т.64. – С. 138-144.
7. Джавадов Э.Д. Особенности вакцинопрофилактики в промышленном птицеводстве / Э.Д. Джавадов, М.Е. Дмитриева // Птица и птицепродукты, 2011. - №5. – С. 37-39.

8. Обуховская О.В. Влияние вакцин из *Mycoplasma gallisepticum* на белки сыворотки кур / О.В. Обуховская, Б.Т. Стегний // Ветеринария, 2014. - №5. – С. 31-34.
9. Рождественский И.К. Вакцинопрофилактика вирусных болезней / И.К. Рождественский, А.Б. Терюханов, О.Ф. Хохлачев // Птицеводство. – 1998. - №4. – С. 34.
10. Харбиева Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Издание 2-е, переработанное и дополненное / Р.У. Харбиева. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
11. Alvig C. R. Design and selection of vaccine adjuvants: animal models and human trials / C. R. Alvig. – Vaccine, 2002. – V. 20 – P. 56-64.
12. Halvorson D.A. Biosecurity on a multiple-age egg production complex: a 15-year experience / D.A.Halvorson // Avian Dis. - 2011. - No 55(1). – P. 139-142.
13. Muneta Y. Development and immunogenicity of recombinant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine strain ts-11 expressing chicken IFN-gamma / Y. Muneta, I.S. Panicker, A. Kanci et al. // Vaccine, 2008. – No26(43). – P. 5449-5454.
14. Parker T.A. Effects of an S6 strain of *Mycoplasma gallisepticum* challenge before beginning of lay on various egg characteristics in commercial layers / T.A. Parker, S.L. Branton, M.S. Jones et al. // Avian Dis., 2002. – Vol. 46. – No 3. – P. 593-597.
15. Tahseen A. Abdul-Aziz. Principles and practice of vaccine-induced immunity. / A. Tahseen // World Poultry-Elsevier. – 1998. – V.14. – No 8. – P. 70-74.

Рецензент – д.вет.н., профессор Стояновський В.Г.