

УДК 619:616.993.192.1:636.2

Т. В. МАРШАЛКІНА, кандидат ветеринарних наук

*Державна установа Інститут сільського господарства степової зони
Національної академії аграрних наук України*

ІМУНОГЕННА АКТИВНІСТЬ *EIMERIA TENELLA* З ПРИСКОРЕНИМ ЦИКЛОМ РОЗВИТКУ

*Для специфічної профілактики еймеріозу курчат запропоновано застосування ізоляту найпростіших виду *E. tenella* з прискореним циклом розвитку та наведені результати дослідження щодо вивчення його впливу на морфологічні, біохімічні та імунологічні показники крові курчат.*

Ключові слова: еймеріоз, курчата, імунопрофілактика.

На сьогодні актуальність питання еймеріозу птиці залишається на досить високому рівні. Значне поширення хвороби та висока летальність серед хворого молодняку спричинюють значні економічні збитки, що складаються із підвищеної загибелі молодняку, зниженням продуктивності, погіршенням якості кінцевого продукту, збільшенням затрат корму на одиницю продукту та витрат на лікування. При виникненні захворювання серед птиці смертність становить до 25–40 %, знижуються середньодобові прирости на 5–10 % та конверсія корму на 7–12 % [1].

Основним засобом профілактики еймеріозів тривалий час були синтетичні хіміопрепарати, але адаптація збудників до еймеріостатиків стала проблемою в усіх країнах з промисловим птахівництвом [2, 3].

На сучасному етапі розвитку птахівництва виробники та споживачі птахівничої продукції зацікавлені в розробці програм інтегрованого контролю з впровадженням нехімічних методів боротьби з еймеріозами [4–8]. Виходячи з вищевикладеного, на сучасному етапі є актуальною розробка методів специфічної профілактики еймеріозів у птахівництві.

Мета. Визначити патогенність, імуногенність та вплив на організм курчат виділеного ізоляту *E. tenella* з прискореним циклом розвитку, який запропоновано для специфічної профілактики курчат.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили за чотирма етапами. *Перший етап* досліджень був спрямований на одержання *E. tenella* з прискореним періодом ендogenous розвитку шляхом відбору перших ооцист після зараження м'ясних гібридних курчат кросу «Кобб-500» 30-добового віку з наступним пасажуванням еймерій через організм молодняку курей згідно розробленому способу виготовлення антигену з атенуйованих збудників *E. tenella* [9].

Другий етап був присвячений дослідженням з визначення патогенних та імуногенних властивостей одержаного ізоляту еймерій з прискореним циклом розвитку. За принципом аналогів було сформовано дослідні групи курчат-бройлерів, яким задавали суспензію атенуйованих *E. tenella* у дозі від $50,0 \pm 5,0$ до $200,0 \pm 5,0$ тис. ооцист на 1 кг маси тіла. Через 21 добу всіх курчат дослідних і

контрольної груп, інвазували патогенними збудниками *E. tenella* в летальній дозі. Параметрами оцінки патогенності й імуногенності атенуйованих збудників *E. tenella* були такі показники як захворюваність, форма перебігу еймеріозу, інтенсивність інвазії ДСТУ 5079 [10] і летальність після контрольного зараження імунізованих курчат.

На *третьому етапі* досліджень проводили дослідження з визначення оптимальної імунізуючої доз атенуйованих збудників *E. tenella* на курчатах-бройлерах, вільних від еймерій і підібраних за принципом аналогів. Курчатам п'яти дослідних груп ентерально вводили атенуйованих найпростіших у дозах, починаючи з найбільш ефективної і нижчими, з різницею в $10,0 \pm 1$ тис. ооцист на 1 кг маси тіла (140,0, 130,0, 120,0 та 110,0 тис.). Через 21 добу всіх курчат дослідних і контрольної груп, інвазували патогенними еймеріями в дозі ЛД₁₀₀. і за показниками інтенсивності інвазії, захворюваності та летальності встановлювали оптимальну імунізуючу дозу.

Четвертий етап досліджень був спрямований на вивчення впливу імунізації атенуйованими *E. tenella* на організм птиці. Кров для морфологічних, біохімічних та імунологічних досліджень відбирали з підкрильової вени до та на 14-ту і 21-шу доби після імунізації і через 14 днів після контрольного інвазування курчат, яке проводили за три тижні після імунізації [11–14].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно рекомендацій по біометрії з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel [15].

Результати досліджень. З метою розробки способу специфічної профілактики курчат у лабораторних умовах було виділено ізолят *E. tenella* з прискореним (на 25–29 годин) циклом ендogenous розвитку та приготована водна суспензія еймерій, у 1 см^3 якої містилось $100,0 \pm 5,0$ тис. споруваних ооцист. Після проведення паразитологічних досліджень курчатам дослідних груп задавали суспензію в дозах 50,0, 100,0, 150,0 і $200,0 \pm 5$ тис. ооцист на 1 кг маси тіла відповідно. Результати дослідження свідчать, що після уведення суспензії еймерій з прискореним циклом розвитку загибелі птиці дослідних груп не реєстрували. Інтенсивність еймеріозної інвазії була найвищою у четвертій дослідній групі і складала $2800,0 \pm 700,0$ тис. ооцист в $1,0 \text{ см}^3$ посліду, що відповідає легкій формі захворювання. В інших трьох дослідних групах птахів кількість виділених ооцист не перевищувала $1380,0 \pm 600,0$ тис., що характеризувало поголів'я як еймеріоносіїв.

Через 21 добу всіх курчат, крім поголів'я контрольної групи, інвазували летальною дозою вихідних патогенних збудників на 1 кг маси тіла. Отримані результати свідчать про те, що в третій і четвертій дослідних групах після зараження протягом періоду спостережень клінічних ознак еймеріозу не виявляли, максимальна інтенсивність інвазії не перевищувала $1880,0 \pm 140,0$ тис. ооцист у $1,0 \text{ см}^3$ посліду. У першій і другій дослідних групах спостерігали важку форму еймеріозу та загибель курчат, інтенсивність еймеріозної інвазії складала $3690,0 \pm 700,0$ та $3480,0 \pm 300,0$ тис. ооцист відповідно. У курчат контрольної групи відхилень у загальному стані не було, а ооцисти еймерій у посліду не виявлялись.

Таким чином, було встановлено, що збудники еймеріозу *E. tenella*, атенуйовані за рахунок прискореного періоду ендogenous розвитку, володіли низькими патогенними властивостями та вираженою імунізуючою та протективною здатністю у дозі $150,0 \pm 5,0$ тис. ооцист на 1 кг маси тіла птиці.

Визначенням оптимальної імунізуючої дози еймерій *E. tenella* з прискореним циклом розвитку встановлено, що у першій, другій, третій і четвертій дослідних групах курчат після зараження протягом періоду спостережень клінічних ознак еймеріозу не спостерігали. Максимальна інтенсивність інвазії була в межах від $1690,0 \pm 110,0$ до $1950,0 \pm 600,0$ тис. ооцист в $1,0 \text{ см}^3$ посліду, що характеризувало поголів'я як еймеріоносіїв. У п'ятій групі в одного курчати реєстрували клінічні ознаки еймеріозу, максимальна інтенсивність інвазії складала $2210,0 \pm 590,0$ тис. ооцист.

Таким чином, оптимальною для імунізації виявилась доза $120,0 \pm 5,0$ тис. ооцист *E. tenella* з прискореним циклом розвитку.

При проведенні досліджень щодо вивчення впливу отриманого ізоляту на морфо-біохімічні та імунологічні показники крові курчат, імунізованих атенуйованими *E. tenella* з прискореним циклом розвитку, встановлено поступове збільшення кількості лейкоцитів, яке досягло на 14-ту добу після імунізації $25,8 \pm 1,52 \text{ Г/л}$, а до 21-ї доби – $28,2 \pm 1,49$ проти $20,4 \pm 1,0 \text{ Г/л}$ на початку досліду перед імунізацією ($P < 0,05$). При цьому спостерігали вірогідне підвищення відносної кількості лімфоцитів з $56,2 \pm 2,05$ до $64,3 \pm 1,84 \%$ ($P < 0,05$) та зниження відсотку нейтрофілів (псевдоеозинофілів) з $26,3 \pm 1,02$ до $21,7 \pm 1,15 \%$ ($P < 0,05$).

У результаті біохімічного дослідження сироваток крові в період імунізації відзначали підвищення вмісту загального білка з $36,2 \pm 0,58 \text{ г/л}$ на початку досліду до $39,7 \pm 0,89 \text{ г/л}$ на 14-ту добу та до $42,4 \pm 1,14 \text{ г/л}$ на 21-шу добу після імунізації ($P < 0,05$). На 14-ту добу після експериментального зараження курчат вміст загального білка становив $43,1 \pm 1,32 \text{ г/л}$. Значення показника вмісту γ -глобулінів під час імунізації і в процесі формування імунітету зростало та до моменту зараження становило $24,8 \pm 1,45 \%$ проти $16,7 \pm 1,01 \%$ ($P < 0,05$) перед введенням атенуйованих еймерій.

У результаті вивчення динаміки змін кількості Т- та В-лімфоцитів встановлено збільшення відносного числа Т-клітин у крові імунізованих курчат з $18,5 \pm 1,49$ до $29,6 \pm 1,67 \%$ ($P < 0,05$). Що стосується В-лімфоцитів, то зміни їх кількості не носили вірогідного характеру та були в межах від $23,9 \pm 1,12$ до $25,4 \pm 1,61 \%$.

Отже, при вивченні впливу *E. tenella* з прискореним циклом розвитку на організм птиці було встановлено збільшення загальної кількості лейкоцитів зі збільшенням відносної кількості лімфоцитів та їх Т-клітин – основних імунокомпетентних клітин організму та відносного вмісту γ -глобулінової фракції, яка включає білки, що беруть участь у захисних реакціях організму.

Висновки.

1. У лабораторних умовах шляхом пасажування еймерій через організм курчат отримано ізолят *E. tenella* з прискореним на 25–29 годин циклом ендогенного розвитку.

2. Одержаний ізолят збудників еймеріозу мав низькі патогенні та виражені імуногенні властивості за ентерального застосування курчатам в дозі $150,0 \pm 5,0$ тис. ооцист на 1 кг маси тіла.

3. Визначено, що оптимальною імунізуючою дозою є $120,0 \pm 5,0$ тис. споруваних ооцист *E. tenella* з прискореним циклом розвитку на 1 кг маси тіла.

4. Гематологічними дослідженнями встановлено, що в імунізованих курчат спостерігалось збільшення загальної кількості лейкоцитів з підвищенням відносної кількості лімфоцитів та зниженням частки нейтрофілів на 21-шу добу після імунізації.

5. У процесі формування несприйнятливості до захворювання на еймеріоз у імунізованих курчат збільшувалась відносна кількість популяцій Т-лімфоцитів більш ніж на 10 %, підвищувався вміст загального білка і відносної кількості γ -глобулінової фракції.

6. Збудники еймеріозу *E. tenella*, атенуйовані за рахунок прискороного періоду ендогенного розвитку, володіють високої імуногенністю та достатніми протективними властивостями щодо вихідних патогенних найпростіших цього виду, не проявляючи при цьому патогенного впливу на організм птиці, й у подальшому їх можна використовувати для розробки вітчизняної проти-еймеріозної вакцини.

Список використаної літератури

1. Сучасні тенденції діагностики та профілактики еймеріозів птиці / І. К. Авдос'єва[та ін] // Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб./ІТ НААН. – Харків, 2013. – Вип. 69. – С. 5–15.

2. Татарчук О.П. Сравнительная оценка эффективности юрамицина при эймериозе птицы / О.П. Таранчук // Сельскохозяйственные животные. – 2007. – № 2. – С.14–15.

3. Гиско В.Н. Изучение профилактической эффективности препаратов максибан и саккок при эймериозе птиц /В.Н. Гиско, А. В. Сандул // Материалы III науч.-практ. конф. Междунар. ассоциации паразитологов, Витебск, 14–17 окт. 2008 г. – Витебск, 2008. –Т. 1. – С. 51–52.

4. Рекомендации по борьбе с эймериозами куриных птиц / О.Ятусевич [и др.]. – Витебск, 2005. – 22с.

5. Тивонюк І. Як уникнути кокцидіозу / І. Тивонюк // Наше птахівництво. – 2009. – № 1. – С. 46–47.

6. Мишин В. Профилактика кокцидиозов / В. Мишин, В. Разбитский, В. Диковская // Эффективное птахівництво. – 2008. – № 3 (39). – С. 50–52.

7. Орлов С. А. Профилактика эймериоза кур / С. А. Орлов // Эффективное птахівництво. – 2009. – № 73 (55). – С. 42–56.

8. Абделькрим Бузераиб Новая концепция защиты против кокцидий / Бузераиб Абделькрим // Ветеринария. – 2006. – № 2. – С. 10–11.

9. Деклараційний патент № 18387 А Україна, МПК (2006) А61К 39/00. Спосіб виготовлення антигену з атенуйованих збудників *Eimeria tenella* / Ю. О. Приходько, Б. Т. Стегній, В. В. Сентюрін, Т. В. Маршалкіна; заявник і патенто власник Ін-т експерим. і клініч. вет. медицини Укр. акад. аграр. наук. – № u200603874; заявл. 07.04.06; опубл. 15.11.06, Бюл. № 11. – 2 с.

10. Методи лабораторної діагностики еймеріозів (ДСТУ 5079:2008): ДСТУ 5079:2008. – [Чинний вид 2009-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2009. – 14 с. – (Національні стандарти України).

11. Практикум по незаразным болезням для оператора по ветеринарной обработке животных / под общ. ред. Г.А. Кононова. – М.: Агропромиздат, 1988. – 415 с.

12. Методические рекомендации по количественному определению иммунокомпетентных лимфоцитов в периферической крови цыплят-бройлеров : метод. указания / НИИЭВ. – Х., 1990. – 14 с.

13. Вовченко Н. М. Определение В-лимфоцитов у кур / Н.М. Вовченко // Ветеринария. – 1980. – № 9. – С. 31–2.

14. Біохімічні методи дослідження крові тварин : метод. рекомендації / В. І. Левченко [та ін.]. – К., 2004. – 104 с.

15. Квятковский В. Н. Статистическая обработка экспериментальных данных / В. Н. Квятковский, Л. А. Замковая // Ветеринария. – 1985. – № 6. – С. 74–78.

ИММУНОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ *EIMERIA TENELLA* С УСКОРЕННЫМ ЦИКЛОМ РАЗВИТИЯ / Т.В. Маршалкина

*Для специфической профилактики эймериоза цыплят предложено применение изолята простейших вида *E. tenella* с ускоренным циклом развития и представлены результаты исследования его влияния на морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови цыплят.*

Ключевые слова: эймериоз, цыплята, иммунопрофилактика.

THE IMMUNOGENIC ACTIVITY OF THE *EIMERIA TENELLA* WITH THE SPEED-UP CYCLE OF DEVELOPMENT/ T. V.Marshalkina

*For specific prophylaxis eimeriosis chickens isolate suggested the use the simplest species *E. tenella* with the brief endogens period of the development and presents results of research on the study of its impact on morphological, biochemical and immunological blood indices of chicken.*

Keywords: eimeriosis, chickens, immunoprophylaxis.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **Н. В. Біла**

Рукопис надійшов 08.02.2014 року.