

На правах рукописи



**ОСАДЧЕНКО
АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ДИПЕПТИДОВ ПРИ
ВАКЦИНАЦИИ ПТИЦ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ И
ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНЕЙ**

Специальность 16.00.03 — ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



Иваново-2007

На правах рукописи

**ОСАДЧЕНКО
АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ДИПЕПТИДОВ ПРИ
ВАКЦИНАЦИИ ПТИЦ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ И
ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНЕЙ**

Специальность 16.00.03 — ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Иваново-2007

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии и вирусологии
ФГОУ ВПО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия» и
в хозяйствах Костромской области

Научный руководитель — заслуженный работник высшей школы РФ,
доктор ветеринарных наук, профессор
Бурдейный Василий Владимирович

Официальные оппоненты:

- доктор ветеринарных наук, профессор
Борисов Александр Владимирович
- кандидат ветеринарных наук, доцент
Иванов Олег Викторович

Ведущая организация — ГНУ Научно-исследовательский ветеринарный
институт Нечерноземной зоны Российской
Федерации Россельхозакадемии

Защита диссертации состоится «12» февраля 2007 г. в 10⁰⁰ часов на за-
седании диссертационного совета Д 220.029.01 в ФГОУ ВПО «Ивановская го-
сударственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.К. Беляева».
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ивановской ГСХА. Адрес:
153012, г. Иваново, ул. Советская, 45. Автореферат опубликован на официаль-
ном сайте ФГОУ ВПО Ивановская ГСХА <http://www.ivgsha.tpi.ru> «15» января
2007 года.

Автореферат разослан «15» января 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доцент



С.В. Егоров

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Ньюкаслская и инфекционная бурсальная болезни, одни из наиболее распространенных инфекций, во многом определяют эпизоотическое и экономическое благополучие птицеводческих хозяйств промышленного типа [А.В. Борисов, 2000; Э.Д. Джавадов и др., 2004].

Ведущая роль в комплексе противоэпизоотических мероприятий при них принадлежит специфической профилактике, основанной на применении живых и инактивированных вакцин [В.Н. Ирза и др., 2003; С.К. Старов, 2003; И.К. Авдосьева и др., 2005; А.К. Алиева и др., 2005; П.Х. Годизов, 2006; Teletkow et al., 2000; Alexander, 2001]. Однако вакцинация не всегда приводит к выработке напряженного иммунитета, особенно у молодняка [А.А. Алиева, 2005; В.А. Бакулин, 2005; С.К. Старов, 2005; П.Х. Годизов и др., 2006].

В некоторых случаях иммунизация не способствует выработке полноценной защиты от возбудителей ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезней, чаще у цыплят, что обусловлено у них высоким уровнем трансовариальных антител, воздействием разнообразных стресс-факторов и, как следствие, развитием иммунодефицитных состояний [М.И. Бабина, 2002; В.Н. Ирза и др., 2003; Э.Д. Джавадов, 2000, 2004; С.К. Старов, 2003, 2005].

Сравнительно новым направлением специфической профилактики инфекционных болезней является использование вакцин с иммуномодуляторами [В.В. Бурдейный, 2000; Д.С. Голубев, 2002; Р.М. Хаитов, В.В. Пинегин, 2003, 2004; А.В. Прудников и др., 2005; А.В. Деева и др., 2006; М.В. Соломатин и др., 2006]. Из них наиболее перспективны синтетические дипептиды, в частности тимоген [В.Д. Соколов и др., 1989], обладающие двумя важными фармакологическими эффектами: эффектом малых доз и эффектом иммуномодулирующего действия. В цикле работ, выполненных В.В. Бурдейным, В.Б. Комиссаровым, М.С. Трескиным (2002-2006 гг) показана возможность его применения у ультрамалых дозах для стимуляции антителогенеза у 18-55-дневных цыплят против ньюкаслской болезни. Наряду с этим остался открытым вопрос о возможности использования препарата для усиления иммунного ответа при вакцинации против других болезней, в частности, против инфекционной бурсальной болезни, о существовании обратной связи влияния иммунокоррекции прививок против нее на выработку иммунитета против ньюкаслской болезни и наоборот. Актуальным является также поиск и возможность внедрения в практику птицеводства других препаратов из данной группы.

В последние годы появились сообщения об успешном применении в области медицины близкого по структурной организации препарата — бестима [А.А. Колобов и др., 1997; Н.В. Пигарева, 2000; Г.Ю. Васильева, 2004]. Сведения о его использовании в области ветеринарии отсутствуют.

В связи с этим разработка новых схем и средств повышения эффективности специфической профилактики ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезней птиц является актуальной проблемой и требует дальнейшего решения.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось обоснование возможности применения препаратов из группы синтетических дипептидов

— тимогена и бестима для повышения эффективности специфической профилактики ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезнью птиц при различных схемах их применения. В соответствии с этим в задачи исследования входило:

1. Определить возможность применения тимогена в малых дозах для повышения иммуногенности вакцины против инфекционной бурсальной болезни;

2. Определить совместимость прививок при вакцинации птиц против ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезнью на фоне иммунокоррекции тимогеном;

3. Определить возможность применения бестима в малых дозах для повышения иммуногенности вакцины против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота»;

4. Изучить динамику гематологических и иммунологических параметров при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни на фоне иммуностимуляции бестимом;

5. Испытать и дать сравнительную оценку схемам сочетанного применения тимогена и бестима с вакциной против ньюкаслской болезни в условиях птицеводческого хозяйства.

Научная новизна. Впервые отработаны схемы применения тимогена при вакцинации птиц против инфекционной бурсальной болезни, способствующие повышению интенсивности выработки антител.

Выявлено, что применение тимогена на фоне вакцинации против ньюкаслской или инфекционной бурсальной болезнью усиливает выработку антител против обоих вирусов.

Впервые отработаны дозы, кратность применения бестима при вакцинации птиц против ньюкаслской болезни, что способствует повышению напряженности иммунитета

Практическая значимость работы. Разработана и внедрена схема применения тимогена в системе специфической профилактики инфекционной бурсальной болезни, позволяющая сократить число прививок птицы вакциной из штамма «БГ» с двух до одной. Определен наиболее рациональный способ повышения эффективности вакцинации цыплят против ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезнью. Разработанные схемы применения тимогена и бестима в системе специфической профилактики ньюкаслской болезни позволяют использовать препараты в зависимости от эпизоотической обстановки в хозяйствах на разных этапах производственного использования птицы. Данные, полученные при выполнении диссертационной работы, используют ветеринарные специалисты ЗАО «Галичское» по птицеводству Костромской области, в учебном процессе в ФГОУ ВПО Костромская ГСХА.

По результатам исследований составлено «Временное наставление по применению тимогена для повышения эффективности специфической профилактики инфекционного бурсита и ньюкаслской болезнью кур», рассмотренное и одобренное на секции ветеринарной медицины и зоотехнии научно-технического совета (протокол №2 от 19.10.2006г), ученом совете вуза (протокол от 20.10.2006 г) и утвержденное ректором ФГОУ ВПО Костромская КСХА 23.11.2006 г.

Апробация работы. Материалы доложены и получили положительную оценку на 56- и 57-й Международных научно-практических конференциях «Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе» (г. Кострома, 2005-2006 гг), Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса» (г. Иваново, 2005), межкафедральном заседании факультета ветеринарной медицины и зоотехнии ФГОУ ВПО «Костромская ГСХА» (2006 г.).

Основные положения выносимые на защиту диссертации.

1. Влияние тимогена на антителогенез при различных схемах вакцинации птицы против инфекционной бурсальной болезни.
2. Совместимость прививок при вакцинации птиц против ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезней на фоне иммунокоррекции тимогеном.
3. Сочетанное применение бестима с вакциной против ньюкаслской болезни и динамика гематологических и иммунологических показателей у цыплят.
4. Сравнительная эффективность сочетанного применения тимогена и бестима с вакциной против ньюкаслской болезни птиц

Публикация. Основные положения диссертации изложены в 12 работах, в том числе 1 работа в издании, регламентированном ВАК РФ для докторских и кандидатских диссертаций.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 166 страницах компьютерного текста, включает 30 таблиц, 19 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, предложений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 349 наименований, в том числе 286 работ отечественных и 63 иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии и вирусологии ФГОУ ВПО Костромская ГСХА в 1999-2006 гг. Научно-производственные опыты проведены на базе ЗАО «Галичское» по птицеводству Костромской области в течение 2000-2006 гг.

В связи с многоплановостью исследований в диссертации нашли отражение результаты работ, проведенных совместно с сотрудниками кафедры эпизоотологии, микробиологии и вирусологии ФГОУ ВПО Костромская ГСХА, за что автор выражает глубокую благодарность.

Объектом исследования служили куры яичного кросса «Хайсекс белый» и «Хайсекс коричневый» с суточного возраста до конца хозяйственного использования. Птицу контрольных и опытных групп содержали в одинаковых условиях в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя кросса.

В качестве иммуномодуляторов использовали тимоген и бестим.

Тимоген (α -L-глутамин-L-триптофан) — белый (с желтоватым оттенком) порошок, синтетический дипептид, состоящий из остатков аминокислот — глутамина и триптофана, по структуре и биологической активности идентичный

активному центру тималина — нативного препарата тимуса. Выпускают в виде стерильного лиофилизированного порошка или пористой массы по 100 мкг в стеклянных флаконах или 0,01 % раствора во флаконах по 5, 50 и 100 см³ и ампулах по 1 см³. Хранят по списку Б в защищенном от света месте при температуре не выше + 20°C. Производитель — ЗАО «Пептос» (г. Москва).

Бестим (γ-D-глутамин-L-триптофан) — синтетический дипептид, отличающийся от тимогена пептидной связью. Синтезирован в лаборатории НИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург). Производитель НПФ «Верта». В наших опытах использован под условным названием «препарат ИС-14».

Для изучения иммуностимулирующего действия препаратов использовали коммерческие серии вакцин против Ньюкаслской болезни (НБ) из штамма «Ла-Сота» и инфекционной бурсальной болезни (ИББ) из штамма «БГ» производства ФГУ ВНИИЗЖ (г. Владимир).

Уровень и динамику накопления специфических антител определяли в РТГА, РДП и ИФА, которые ставили в соответствии с общепринятыми методиками. Исследования проводили в производственной лаборатории ЗАО «Галичское» по птицеводству и в ФГУ ВНИИЗЖ (г. Владимир).

Кровь для морфологических и серологических исследований получали из крыловой вены и методом тотального обескровливания (у цыплят до 18-дн возраста) в пробирки с гепарином из расчета 20-25 МЕ/см³. Лимфоциты выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина.

Количество эритроцитов, лейкоцитов, лейкоформулу определяли общепринятыми методами [И.П. Кондрахин и соавт., 1985; В.К. Гусаков и соавт., 2002; С.П. Ковалев, 2004].

Количество Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана по М. Jondal et al. [1972, 1973], теофиллинчувствительных и теофиллинрезистентных — по В. Shonat, Н. Toshua [1982] в модификации М.С. Трескина [2006].

Фагоцитарную активность (ФА) псевдоэозинофилов оценивали по их способности поглощать инертные частицы латексов размером 1,5 мкм, производства ВНИИ биологического приборостроения (г. Москва) по Р.В. Петрову и соавт. [1992]. Кроме того определяли фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарную емкость (ФЕ) по В.М. Митюшникову [1985], кислородозависимую бактерицидную активность псевдоэозинофилов в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по А.Н. Маянскому, О.И. Пикуза [1993], Р.В. Петрову и соавт. [1992].

Подробные схемы проведения опытов изложены в каждом разделе работы при изучении конкретно поставленных задач.

В экспериментах использовано 45277 цыплят, проведено 1020 серологических исследований по определению титров антител (АТ) и напряженности иммунитета, 180 по определению иммунологических и гематологических показателей. Производственный опыт по сравнительной оценке иммуностимулирующих свойств бестима и тимогена в сочетании с вакциной против НБ продолжительностью 17 мес выполнен на 24 тыс голов птицы. За указанный период проведено 2280 исследований сывороток крови в РТГА.

Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики с применением критериев Стьюдента [Г.Ф. Лакин, 1990] на персональном компьютере, с использованием интегрального пакета Microsoft Excel.

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Оценка эффективности вакцин против ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезней

ЗАО «Галичское» по птицеводству является благополучным по инфекционным болезням, имеет собственное родительское стадо. Поголовье кур против НБ иммунизируют трехкратно в 18-, 55- и 95-дн возрасте — первые 2 прививки живой вакциной из штамма «Ла-Сота», третью — инактивированной против НБ, ИБК и ССЯ-76. Обращает на себя внимание повышение уровня специфических антигемагглютининов (АГ) у всех возрастных групп в 2005/2006 гг по сравнению с 2003/2004 гг: трансвариальных у 18-дн цыплят — $3,3 \pm 0,3$ против $2,4 \pm 0,6$; у молодняка 1-3 мес возраста — $6,0 \pm 0,7$ против $5,0 \pm 0,3$; у птицы промышленного стада — $10,3 \pm 0,3$ ($P < 0,001$) против $8,8 \pm 0,2$ \log_2 . Этому способствовало введение в технологию предприятия своего маточного поголовья, применение тимогена для иммунокоррекции прививок птицы против НБ.

Вакцинацию против ИББ проводят вирусвакциной из штамма «БГ» методом выпаивания, двукратно, в 12-(13-) и 22-(23-)дн возрасте цыплят. Динамика трансвариальных антител у 5-, 8-, 11-, 13- и 15-дн цыплят характеризуются следующими показателями — 1110 ± 136 ; 798 ± 320 ; 660 ± 84 ; 444 ± 135 и 130 ± 28 , соответственно.

Вопрос о совместимости прививок живыми вакцинами против НБ и ИББ с весьма короткими интервалами между ними освещен крайне недостаточно. Можно сослаться на данные Э.Д. Джавадова и соавт. [2004] о том, что в подобных случаях наблюдают снижение уровня антител. Остается открытым вопрос о влиянии иммуностимуляции прививок против НБ на формирование поствакцинального ответа против ИББ и наоборот.

2.2.1.1. Динамика гуморального ответа при одно- и двукратной вакцинациях против инфекционной бурсальной болезни

Опыты выполнены в трех повторностях. В каждом из них птицу распределяли на две группы — контрольную и опытную. Цыплят контрольной группы прививали против ИББ вакциной из штамма «БГ» по схеме принятой в хозяйстве, в 12- и 22-дн возрасте, а опытных — однократно, в возрасте 12 дн. Результаты учитывали по данным исследования сывороток крови 36-, 43-, 63-дн цыплят в РДП (1-й) или 44-, 65- и 40-, 54-дн — в ИФА (2- и 3-й опыты). Последний из них проводили на фоне контроля уровня трансвариальных антител у 5-, 10- и 12-дн птицы. Всего использовано 109 цыплят.

В первой серии опытов установили, что иммунный ответ на двукратную вакцинацию формируется раньше, чем на однократную. Так, преципитирующие антитела у 36- и 43-дн цыплят контрольной группы регистрировали в 46,2 и

61% случаев, в то время как у опытной — 23,1 и 53,9% поголовья. К 64-дн возрасту у всех цыплят отмечали 100% защиту.

Во второй серии опытов титры антител у птиц контрольной группы в 44- и 65-дн возрасте значительно превышали показатели опытной ($P < 0,01-0,05$) и составляли 8801 ± 485 и 6827 ± 880 против 5674 ± 914 и 3625 ± 1037 , соответственно.

Результаты исследований в третьей серии опытов показали, что титр пассивных антител по данным ИФА у цыплят 5-дн возраста составляет 952 ± 179 , к 10-дн он снижается до 580 ± 160 , а у 12-дн не превышает протективного уровня — 274 ± 85 . Иммунный ответ у 40- и 54-дн птицы на двукратную вакцинацию сопровождается более интенсивным антителогенезом, чем на однократную и характеризуется следующими значениями — 4128 ± 726 и 8679 ± 1160 в контроле против 2998 ± 630 и 7198 ± 1001 в опыте.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что как одно-, так и двукратная вакцинация птицы в 12-22-дн возрасте сопровождается выработкой антител, превышающими протективный уровень. Однако после однократной прививки иммунитет формируется медленней и он менее напряженный чем после двукратной. Наши данные подтверждают мнение А.В. Борисова [2000] о том, что вирусвакцина из штамма «БГ» и при однократном применении дает гарантированную защиту цыплят от заболевания, однако, с учетом эпизоотической обстановки по ИББ в птицеводческих хозяйствах предпочтительней провести повторную вакцинацию.

2.2.1.2. Динамика антителогенеза при одно- и двукратной вакцинации против инфекционной бурсальной болезни на фоне иммуностимуляции тимогеном

На первом этапе в 2 повторностях на опытных и контрольных группах цыплят ($n=8$ в каждой) определяли возможность применения тимогена для иммунокоррекции при вакцинации против ИББ. Птицу контрольных групп иммунизировали по схеме, принятой в хозяйстве, в 13- и 23-дн возрасте, а опытных — однократно в 13-дн возрасте в сочетании с тимогеном из расчета 1,0 мкг/прививочную дозу вакцины.

Исследования сывороток крови по данным ИФА показали, что титры антител у 40-дн цыплят опытных групп ниже чем в контроле — $4977 \pm 527-4175 \pm 482$ против $5046 \pm 831-5608 \pm 724$. Однако они достоверно от них не отличались ($P > 0,05$) и находились в пределах протективного уровня, определяющего устойчивость птицы к заражению вирусом ИББ.

На 2-м этапе на трех группах цыплят (контрольной и 2 опытных, $n=10$ в каждой) определяли эффективность иммунокоррекции тимогеном при одно- и двукратной вакцинации птицы против ИББ по сравнению с классической схемой — двукратной прививкой без ИС.

Цыплят контрольной и 1-й опытной групп прививали по схеме принятой в хозяйстве, двукратно, а 2-й опытной — однократно в 12-дн возрасте. Птице опытных групп одновременно с первой вакцинацией выпаивали тимоген в дозе 1,0 мкг/гол. Результаты учитывали по ИФА.

Достоверных различий в титре антител у цыплят 46-дн возраста контрольной и 1- и 2-й опытных групп не зарегистрировано ($P>0,05$) — 46747 ± 147 , 4902 ± 199 и 4772 ± 163 , соответственно. Более существенные различия в формировании поствакцинального иммунитета отмечены у 69-дн птицы. Так, наиболее высокий уровень антител отмечен в контрольной группе — 26717 ± 6899 , близка по значению к ней 2-я опытная — 23961 ± 7752 ($P>0,05$), при наиболее низком показателе в 1-й опытной, привитой двукратно на фоне иммуностимуляции тимогеном — 19671 ± 1833 . Возможно, это связано со стимуляцией вакцинного вируса НБ и выработкой им большого количества интерферона, ингибирующего последующий поствакцинальный ответ на ИББ.

На 3- и 4-м этапах определяли дозозависимое действие тимогена в пределах 0,01-10 мкг/гол. Опыты выполнены по аналогичной схеме.

Сформировали 6 групп — контрольную и 5 опытных ($n=10$ в каждой). Птицу контрольной и 1-й опытной групп прививали против ИББ по схеме принятой в хозяйстве, а остальных — однократно в сочетании с тимогеном в дозах (мкг/гол): 1-, 2-й — 1,0; 3-й — 0,1; 4-й 0,01; 5-й — 10,0.

Титры антител и коэффициент вариации (КВ) составляли у цыплят 43- и 64-дн возраста контрольной группы $2921\pm 326/11,1$ и $7910\pm 797/10,1$; 1-й опытной — $2397\pm 416/17,4$ и $7837\pm 554/7,1$; 2-й — $3467\pm 339/9,8$ и $7273\pm 700/9,6$; 3-й — $2133\pm 327/15,3$ и $5075\pm 920/18,1$; 4-й — $3970\pm 468/11,8$ и $8178\pm 912/11,2$; 5-й — $3658\pm 494/13,5$ и $4960\pm 587/11,8\%$.

Результаты исследований свидетельствуют об определенном дозозависимом действии тимогена на поствакцинальный антителогенез против ИББ. Оно наиболее выражено при использовании доз 0,01 и 1,0 мкг/гол при однократной вакцинации, в то время как остальные — 0,1 и 10,0 хотя и стимулировали выработку антител, достигающих протективного уровня, но их циркуляция в крови цыплят была непродолжительной. Они уступали показателям контрольной группы, особенно у 2-мес поголовья — 5075 ± 920 против 4960 ± 587 против 7910 ($P<0,05-0,01$), соответственно.

Близкие по значению результаты получены в опытах на 4-м этапе. Титры антител и КВ у цыплят 44- и 65-дн возраста контрольной группы составляли $5674\pm 914/16,1$ и $3735\pm 1037/28,5$; 1-й опытной — $8910\pm 466/5,2$ и $7658\pm 589/7,7$; 2-й — $9079\pm 605/6,7$ и $7533\pm 835/11,1$; 3-й — $8639\pm 376/4,4$ и $6960\pm 668/9,6$; 4-й — $8485\pm 375/5,3$ и $7953\pm 468/6,2$; 5-й — $7372\pm 1518/6,1$ и $4613\pm 865/18,8\%$. Наиболее оптимальные результаты получены при использовании доз тимогена 1,0 и 0,01 мкг/гол, обеспечивающих стабильно высокие показатели антителогенеза при однократной вакцинации по сравнению с классической ($P<0,05-0,01$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что однократная вакцинация на фоне иммунокоррекции тимогеном в дозе 1,0 или 0,01 мкг/гол (в меньшей степени) по эффективности не уступает двукратной. Это позволяет уменьшить число прививок в хозяйствах против ИББ с двух до одной.

2.2.1.3. Определение оптимальной схемы иммунокоррекции тимогеном при вакцинации цыплят в системе «ИББ+НБ»

В соответствии со схемами профилактических обработок во многих птицеводческих хозяйствах цыплят с 12-(13-) до 22-(23-)дн возраста трехкратно прививают против ИББ и НБ, причем вакцинация против ИББ как предшествует, так и последует прививка против НБ при 5-дн интервалах между ними. По данным Э.Д. Джавадова и соавт. [2004] при такой схеме возможна интерференция между вакцинными вирусами. В настоящее время для усиления специфического ответа на прививку применяют ИС. Но при этом остается открытым вопрос — как влияет стимуляция антителогенеза против ИББ на продукцию антител против НБ и наоборот.

В 1-й серии опытов на 3 группах цыплят — контрольной и 2 опытных ($n=30$ в каждой) определяли влияние одно- или двукратной прививки птицы против ИББ на формирование поствакцинального иммунитета против НБ.

Птицу всех групп в 18-дн возрасте иммунизировали против НБ, а опытных групп дополнительно против ИББ: 1-й — однократно в 13-дн возрасте, 2-й — по схеме принятой в хозяйстве, двукратно.

Установлено, что вакцина против ИББ из штамма «БГ» при прививке цыплят одно- в 13- или двукратно в 13- и 23-дн возрасте супрессирующего действия на формирование иммунитета против НБ не оказывает. Титры специфических АГ через 19 и 36 дн после прививки у птиц контрольной группы регистрировали в пределах $5,7 \pm 0,3$ и $6,7 \pm 0,5$; 1-й опытной — $5,6 \pm 0,4$ и $5,5 \pm 0,4$; 2-й — $6,7 \pm 0,4$ и $8,1 \pm 0,6 \log_2$ при 100% степени защиты. Наиболее оптимально проведение вакцинации против НБ на фоне двукратной прививки против ИББ.

Данная схема проверена в производственных условиях на 2 группах птиц — контрольной и опытной ($n=4000$ в каждой). Птиц контрольной группы вакцинировали против ИББ двукратно, опытной — однократно. В 18 дн всех цыплят привили против НБ. Титры АГ определяли в РТГА через 21 и 36 дн после вакцинации против НБ у 24 голов из каждой группы. Всего исследовано 96 проб.

Результаты опыта подтверждают данные предыдущих исследований. Вместе с тем они свидетельствуют, что в отдельных случаях при однократной прививке против ИББ формирование иммунитета против НБ на ранних стадиях уступает показателям группы птиц, привитой двукратно.

На 2-м этапе определяли влияние иммунокоррекции при одно- или двукратной вакцинации цыплят против ИББ на антителогенез против НБ, вакцинация против которой проведена на 5 дн позже.

Сформировали 3 группы цыплят (контрольную и две опытных, $n=10$ в каждой) с высоким уровнем материнских (пассивных) антител — $3,3 \pm 0,3 \log_2$. Всю птицу привили против НБ в 18- и 55-дн возрасте, против ИББ — в 13- и 23-дн (контрольную и 1-ю опытную) или однократно, в 13 дн (2-ю опытную). Цыплятам опытных групп во время первой вакцинации против ИББ выпаивали тимоген в дозе 1,0 мкг/гол. Титры специфических АГ у птиц 39-, 46- и 69-дн возраста контрольной группы составляли $3,1 \pm 0,7$; $3,4 \pm 1,0$ и $6,4 \pm 0,4$; 1-й опытной — $3,9 \pm 0,8$; $4,0 \pm 0,8$ и $6,5 \pm 0,3$; 2-й опытной — $4,8 \pm 1,0$; $4,5 \pm 1,0$ и $7,0 \pm 0,4 \log_2$,

что свидетельствует о наличии у тимогена феномена «допрививочной» иммунокоррекции [В.М. Смирнов, 2004]. На формирование иммунитета против НБ влияет также кратность проведения прививок против ИББ — на фоне иммунокоррекции тимогеном преимущество имеет однократная перед двукратной, без использования иммуностимулятора (ИС) отмечена обратная зависимость.

На 3-м этапе в опытах на 6 группах цыплят (контрольной и 5 опытных, $n=10$ в каждой) определяли дозозависимое действие тимогена в сочетании с вакциной против ИББ на формирование поствакцинального иммунитета против НБ. Птицу контрольной и 2-й опытной групп прививали против ИББ двукратно, а 1-, 3-, 4- и 5-й — однократно. Цыплятам опытных групп одновременно с вакциной задавали тимоген в дозе 10,0; 1,0; 1,0; 0,1 и 0,01 мкг/гол, соответственно. В 18-дн возрасте всю птицу привили против НБ. Титры специфических АГ у птицы 43- и 64-дн возраста контрольной группы составляли $3,9 \pm 1,1$ и $7,5 \pm 0,8$; 1-й опытной — $5,4 \pm 0,7$ и $7,8 \pm 0,6$; 2-й — $2,7 \pm 0,9$ и $6,8 \pm 0,4$; 3-й — $4,5 \pm 0,6$ и $6,3 \pm 0,4$; 4-й — $4,5 \pm 0,4$ и $6,6 \pm 0,8$; 5-й — $4,1 \pm 0,6$ и $8,4 \pm 0,8 \log_2$.

Полученные данные свидетельствуют, что тимоген, обладая феноменом «допрививочной» иммунокоррекции и длительным, дозозависимым действием, стимулирует также антителогенез против НБ. В то же время препарат, использованный на фоне двукратной прививки против ИББ, ингибирует гуморальный ответ и, наоборот, однократная вакцинация в сочетании с тимогеном по силе воздействия не уступает двукратной без иммуностимуляции.

На 4-м этапе на 4 группах птиц — контрольной и 3 опытных ($n=16$ в каждой) изучали влияние иммунокоррекции тимогеном вакцинации против НБ на антителогенез против ИББ.

Птиц контрольной и 1-й опытной групп прививали против ИББ двукратно, а 2- и 3-й опытных — однократно. В 18-дн возрасте всех цыплят вакцинировали против НБ, причем птицу 1- и 3-й опытных групп дополнительно обрабатывали тимогеном из расчета 0,01 мкг/гол. Титры специфических антител против НБ и ИББ у цыплят 39-дн возраста контрольной группы составляли $6,6 \pm 0,5$ и 4981 ± 476 ; 1-й опытной — $5,6 \pm 0,5$ и 4576 ± 360 ; 2-й — $4,6 \pm 0,5$ и 3812 ± 579 ; 3-й — $6,5 \pm 0,3 \log_2$ и 5326 ± 537 , соответственно. Полученные данные свидетельствуют о преимуществе схемы вакцинации «ИББ+НБ с тимогеном» над схемами: а) ИББ+НБ с тимогеном +ИББ; б) ИББ+НБ. По своей эффективности она не уступает классической, основанной на двукратной вакцинации против ИББ и против НБ (ИББ+НБ+ИББ).

Аналогичные результаты получены также в следующей серии опытов, выполненных на 120 цыплятах 0-38-дн возраста.

Таким образом, сочетанное применение тимогена в дозе 0,01 мкг/гол с вакциной против НБ стимулирует продукцию не только специфических АГ, но и синтез антител против ИББ, и наоборот, применение его в дозе 1,0 мкг/гол в комбинации с вакциной против ИББ за 5 дн до иммунизации против НБ усиливает антителогенез против обеих инфекций. Экономически более оправдано использование препарата для иммунокоррекции в системе профилактики «ИББ+НБ» в ультрамалых дозах — 0,01-0,001 мкг/гол при вакцинации против НБ, что позволит уменьшить кратность прививок против ИББ с двух до одной.

2.2.2. Результаты сочетанного применения бестима с вакциной против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота»

2.2.2.1. Определение оптимальных доз бестима

Учитывая структурное сходство изучаемого дипептида — бестима с тимогеном, а также данные о его применении в медицине [Н.В. Пигарева, 2000; Г.Ю. Васильева, 2004 и др.], испытаны дозы 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1 и 1,0 мкг на одну голову птицы массой от 150 до 500 г.

В предварительной серии опытов на 4 группах цыплят — одной контрольной и 3 опытных ($n=8$ в каждой) определяли возможность применения бестима для повышения продукции антител против НБ. Цыплят 18-дн возраста 1-3-й опытных групп прививали вакциной в сочетании с бестимом в дозе 1,0; 0,1 и 0,01 мкг/гол, методом спрея. Титры АГ и степень защиты, учтенные через 14 и 35 дн после прививки, соответственно, по группам: в контрольной — $3,9 \pm 0,5/100$; $3,0 \pm 0,5/63$; 1-й опытной — $4,5 \pm 1,0/75$; $3,0 \pm 0,5/75$; 2-й — $6,5 \pm 0,7/88$; $4,0 \pm 0,7/88$; 3-й — $7,3 \pm 0,5/100$; $4,5 \pm 0,9 \log_2/75\%$.

В следующей серии опытов на 5 группах цыплят — контрольной и 1-4-й опытных ($n=22$ в каждой) испытаны дозы 0,01; 0,001; 0,0001 и 0,00001 мкг/гол, соответственно. Схема проведения и учет результатов опыта аналогичен предыдущему. Титры АГ и степень защиты составляли, соответственно, по группам: в контрольной — $4,7 \pm 0,3/82$; $4,3 \pm 0,2/77$; 1-й опытной — $5,1 \pm 0,5/87$; $5,6 \pm 0,4/91$ ($P<0,01$); 2-й — $5,0 \pm 0,4/91$; $4,7 \pm 0,3/91$; 3-й — $4,2 \pm 0,4/87$; $5,0 \pm 0,2/82$ ($P<0,05$); 4-й — $3,1 \pm 0,7/56$ ($P<0,05$); $3,1 \pm 0,5/54$ ($P<0,05$). Полученные данные свидетельствуют об антителостимулирующем действии бестима в дозах 0,01-0,0001 мкг/гол, неэффективности в дозе 0,00001 мкг/гол, где уровень АГ на всем протяжении опыта ниже, чем в контроле ($P<0,05$).

В основном опыте на 9 группах цыплят — контрольной и 8 опытных ($n=24$ голов в каждой) испытаны дозы бестима 0,1-0,0001 мкг/гол в сравнении с аналогичными тимогена. Всю птицу в 17-дн возрасте привили против НБ, опытных групп — в сочетании с ИС: 1-4-й — с бестимом; 5-8-й — с тимогеном в дозах 0,1; 0,01; 0,001 и 0,0001 мкг/гол, соответственно. В 55-дн возрасте всех цыплят ревакцинировали. Титры специфических АГ и степень защиты, учтенные через 14 и 35 дн после каждой прививки, составляли, соответственно, по группам: в контрольной — $3,9 \pm 0,5/71$; $3,9 \pm 0,5/71$ и $8,1 \pm 0,4/100$; $4,9 \pm 0,4/88$; 1-й опытной — $4,3 \pm 0,4/92$; $3,6 \pm 0,3/75$ и $8,5 \pm 0,6/100$; $5,8 \pm 0,6/92$; 2-й — $4,5 \pm 0,4/83$; $4,4 \pm 0,4/88$ и $8,3 \pm 0,6/100$; $4,5 \pm 0,4/92$; 3-й — $5,5 \pm 0,3/92$; $4,8 \pm 0,4/91$ и $8,1 \pm 0,5/100$; $5,8 \pm 0,4/100$; 4-й — $6,3 \pm 0,4/92$; $4,7 \pm 0,3/91$ и $7,6 \pm 0,6/100$; $6,5 \pm 0,4/100$; 5-й — $4,0 \pm 0,5/79$; $3,6 \pm 0,4/75$ и $9,3 \pm 0,5/100$; $4,8 \pm 0,4/100$; 6-й — $4,1 \pm 0,5/71$; $3,7 \pm 0,4/83$ и $9,8 \pm 0,6/100$; $5,2 \pm 0,4/100$; 7-й — $5,9 \pm 0,3/96$; $4,6 \pm 0,4/88$ и $7,8 \pm 0,5/100$; $4,9 \pm 0,4/100$; 8-й — $5,8 \pm 0,4/92$; $4,7 \pm 0,3/88$ и $9,3 \pm 0,6/100$; $4,9 \pm 0,8 \log_2/83\%$. Анализ динамики антителообразования против НБ свидетельствует о сходстве антителостимулирующего действия препаратов после первого введения вакцины. В системе «доза-эффект» в пределах 0,1-0,0001 мкг/гол оно имеет дозозависимый характер: чем ниже доза — тем выше эффект. Наиболее выраженное иммуностимулирующее действие бестим и тимоген оказывают в дозах 0,001-0,0001 ($P<0,01$ -

0,001) на ранних этапах антителогенеза, сохраняя тенденцию к этому и на более поздних стадиях — через 35 дн после первой иммунизации. При повторной вакцинации цыплят в 55-дн возрасте оба препарата оказывают позитивное действие на антителогенез на ранней стадии (через 14 дн после вакцинации) в дозах 0,1-0,001 мкг/гол при более высоком биологическом действии тимогена, а на более поздней стадии (через 35 дн после вакцинации) — бестима.

2.2.2.2. Влияние прививочного объема композиционной смеси «вакцина против ньюкаслской болезни + бестим (тимоген)» на эффективность иммунокоррекции

Опыты выполнены на 6 группах цыплят 18-дн возраста. При одинаковой антигенной нагрузке прививочный объем вакцины против НБ для птиц нечетных групп (контрольных) составил 1,0; четных (опытных) — 2,0 см³. Цыплят 1- и 2-й групп прививали методом спрея в сочетании с тимогеном из расчета 0,001 мкг/гол, 3-, 4- и 5-, 6-й — с бестимом в дозах 0,001 и 0,0001 мкг/гол, соответственно. Титры специфических АГ и степень защиты учли через 21 день.

Установлено, что антителостимулирующее действие препаратов в составе «объем / эффект» (см³/log₂) в оптимальных дозах 0,001 — тимогена, 0,0001 мкг/гол — бестима более выражено при использовании прививочного объема в 1,0 см³ по сравнению с 2,0 — 4,9±0,6 и 5,0±0,8 против 4,2±0,6 и 4,1±1,0 log₂, соответственно. Применение разведенной вдвое вакцины с бестимом обеспечивает только 67% уровень защиты против 83% в объеме 1,0 см³. При использовании препарата в дозе 0,001 мкг/гол существенных различий не отмечено.

Объясняя полученные результаты с позиции механизма адьювантного действия ИС за счет синтеза регуляторных цитокинов можно предположить, что при сохранении одинаковой антигенной нагрузки, но с увеличением прививочного объема, уменьшается возможность попадания в одну клетку препаратов и вакцинного вируса. Вероятно, это ведет к снижению аутокринного действия и, в итоге, уменьшению непосредственного воздействия цитокинов на антителопродуцирующие клетки.

2.2.2.3. Определение оптимальных сроков первого входа с вакциной против ньюкаслской болезни на фоне иммуностимуляции бестимом

Опыты выполнены в сравнении с тимогеном. Сформировали 9 групп цыплят (по три — 10-, 15- и 18-дневных, в каждой из них — контрольная, 1- и 2-я опытные). Птицу всех групп в указанные сроки привили против НБ, а 1- и 2-й опытных дополнительно обработали бестимом и тимогеном, соответственно, в дозах 0,0001 мкг/гол. Уровень специфических АГ учли через 21 дн после иммунизации.

Титры материнских (пассивных) антител и степень защиты у 10-, 15- и 180 дн цыплят составляли 6,9±0,4/100; 4,9±0,90 и 2,6±0,5/50; через 21 дн после вакцинации в контрольной группе — 4,6±0,8/63; 3,1±0,6/63 и 4,0±0,4/89; привитых в сочетании с бестимом — 3,7±0,7/63; 4,8±0,6/80 и 4,6±0,3/93; на фоне иммунокоррекции тимогеном — 2,8±0,8/63; 5,2±0,4/93 и 4,8±0,5/93%, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии трансвариальных антител на формирование поствакцинального иммунитета у цыплят против НБ, что согласуется с утверждением других исследователей [И.В. Казанцев, 2003; В.Б. Комиссаров, 2004; М.С. Трескин, 2006].

Наряду с этим действие препаратов на антителогенез коррелирует с возрастом птиц. Иммунокоррекция бестимом и тимогеном поствакцинального ответа у цыплят 10-дн возраста еще в большей степени ингибирует продукцию специфических АГ, у 15-дн — уменьшает супрессивное действие трансвариальных антител, у 18-дн — усиливает гуморальный ответ на вакцинацию.

Тимоген обладает более выраженным биологическим действием по сравнению с бестимом как супрессирующего характера (при вакцинации цыплят 10-дн возраста титры антител и степень защиты составляют $2,8 \pm 0,08/63$ против $3,7 \pm 0,7/63$ при $4,6 \pm 0,8/63$ в контроле), так и стимулирующего (у 15-18-дн поголовья — $5,2 \pm 0,4/93-4,8 \pm 0,5/93$ против $4,8 \pm 0,6/80-4,6 \pm 0,3/93$, при $3,1 \pm 0,6/63-4,0 \pm 0,4 \log_2/87\%$ в контроле, соответственно). Однако различия в интенсивности их действия недостоверны ($P < 0,05$), что свидетельствует о возможности применения как тимогена, так и бестима для усиления гуморального ответа на первый вход с вакциной против НБ из штамма «Ла-Сота». Наиболее оптимальным сроком является 15-18-дн возраст цыплят, что согласуется с данными других исследователей [В.Б. Комиссаров, 2004; М.С. Трескин, 2006].

2.2.2.4. Влияние сочетанного применения бестима и вакцины против ньюкаслской болезни на показатели естественной резистентности и специфической устойчивости у цыплят

Опыты выполнены на цыплятах 17-дн возраста, которых распределили на 4 группы — контрольную и 3 опытных ($n=30$ в каждой). Птицу всех групп в 18-дн возрасте привили против НБ методом спрея, а опытных дополнительно в сочетании с вакциной обработали бестимом в дозах 0,01; 0,001 и 0,0001 мкг/гол (1-3-я, соответственно). Кровь для исследований у цыплят отбирали в 17- (до обработки), 31- и 52-дн возрасте.

2.2.2.4.1. Динамика гематологических показателей

Количество эритроцитов, лейкоцитов, относительный и абсолютный уровень псевдоэозинофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов и лимфоцитов у 17-дн цыплят составляли $3,1 \pm 0,27$ Т/л; $40,2 \pm 1,39$ Г/л; $24,4 \pm 0,81/9,8 \pm 0,68$; $4,0 \pm 1,38/1,5 \pm 0,50$; $1,6 \pm 0,68/0,6 \pm 0,27$; $9,4 \pm 1,81/3,7 \pm 0,69$; $60,6 \pm 1,75\%/24,5 \pm 1,58$ Г/л.

Вакцинация в сочетании с бестимом вызывала комплекс изменений в картине крови. У птицы опытных групп в противоположность контролю через 14 дн после иммунизации наблюдали увеличение числа эритроцитов до $4,0 \pm 0,23-4,3 \pm 0,35$ Т/л, что превышало в 1,3-1,4 раз фоновый уровень и в 1,5-1,6 раз значения контрольной группы, соответственно ($P < 0,05-0,01$). К 35 дн происходило снижение их количества без достоверной динамики, но не достигая исходных показателей. Количество лейкоцитов в опытных группах также превышало значения контрольной ($P < 0,05-0,001$) и во 2- и 3-й увеличивалось на протяжении

всего периода наблюдения. Наибольшие значения достигнуты у птицы 3-й группы к 35 дн после вакцинации — $50,0 \pm 1,95$ Г/л, что в 1,6 раз выше контрольных и в 1,25 фоновых показателей ($P < 0,001$). У цыплят опытных групп отмечен более высокий уровень псевдоэозинофилов, абсолютные значения которых также достоверно превышали данные контрольной группы ($P < 0,05-0,001$). Более высокими они были во 2-й опытной группе через 14 дн после иммунизации, где наблюдали также достоверное увеличение и относительного их числа — $27,4 \pm 0,68\%$ / $13,0 \pm 0,42$ Г/л. Количество эозинофилов в опытных группах на протяжении всего периода наблюдений было ниже данных контрольной и исходного уровня, за исключением цыплят 1-й, у которых через 35 дн после прививки анализируемый показатель приближался к фоновым значениям. Следует отметить резкое снижение как относительного — до $1,8 \pm 0,37$ и $1,4 \pm 0,40\%$ (в 4,4 и 5,7 раз, $P < 0,01$), так и абсолютного до $0,9 \pm 0,2$ и $0,7 \pm 0,19$ Г/л (в 2,7 и 3,5 раз, $P < 0,05$) числа эозинофилов по сравнению с контролем к концу наблюдения у птицы 2- и 3-й опытных групп. Достоверной динамики изменения количества базофилов у птицы опытных групп не наблюдали, однако обращает на себя внимание факт полного отсутствия данных клеток через 14 дн после вакцинации у птицы 2-й опытной группы. Относительное количество моноцитов в опытных группах имело, хотя и более выраженную, но в целом сходную с контрольной динамикой — уменьшение через 14 дн после вакцинации до $8,8 \pm 1,83$; $4,0 \pm 1,14$ ($P < 0,05$) и $6,0 \pm 1,64$ и увеличение через 35 дн до $13,6 \pm 1,21$ ($P < 0,01$); $10,6 \pm 1,69$ и $9,6 \pm 2,27\%$ у 1-3-й, соответственно. Однако у птицы опытных групп к концу наблюдения анализируемый признак превышал фоновые значения, в отличие от цыплят контрольной, у которых они так и не были достигнуты. Абсолютное количество моноцитов на протяжении всего опыта имело выраженную тенденцию к увеличению. Более высокие значения фиксировали у цыплят 1-й и 2-й опытных групп, у которых они в 2,4-2,8 раз превышали данные контрольной и к 35 дн после вакцинации составляли $5,5 \pm 0,39$ ($P < 0,001$) и $5,1 \pm 0,83$ ($P < 0,05$), соответственно. Количество лимфоцитов у цыплят, обработанных ИС, через 14 дн после прививки увеличивалось с незначительной тенденцией к снижению в последующем, но при этом через 35 дн после иммунизации их абсолютные значения в опытных группах в 1,3-1,7 раз превышали значения контрольной и составляли $24,0 \pm 1,42$ ($P < 0,05$); $30,2 \pm 0,79$ и $31,5 \pm 2,20$ Г/л ($P < 0,001$) у цыплят 1-3-й групп, соответственно.

Таким образом, сочетанное применение ИС на фоне вакцинации против НБ вызывает существенные изменения в картине красной и белой крови, которые выражаются в увеличении числа эритроцитов и лейкоцитов (за счет лимфоцитов и псевдоэозинофилов на 14-й дн после введения препаратов, и моноцитов — на 35-й дн). При этом отмечают более низкое содержание в крови эозинофилов и базофилов.

2.2.2.4.2. Динамика Т-лимфоцитов и их субпопуляций

У 17-дн цыплят относительные и абсолютные значения Т-лимфоцитов (Т-лф) составляли $45,4 \pm 1,89$ и $11,1 \pm 0,79$; Т-хелперов (Т-х) — $23,8 \pm 1,20$ и $5,8 \pm 0,29$; Т-цитотоксических (Т-ц) — $21,6 \pm 1,81\%$ и $5,3 \pm 0,63$ Г/л. Изучение динамики Т-лф

после вакцинации против НБ на фоне иммуностимуляции бестимом выявляет ряд изменений у птицы как опытных, так и контрольной групп.

У птицы опытных групп, под влиянием иммуностимуляции, отмечали ряд различий с контрольной, которые в большей степени касались абсолютных значений анализируемых показателей. Через 14 дн после введения препаратов наблюдали достоверное увеличение абсолютного количества Т-лф в 1,4-1,5 раз по сравнению с фоновыми значениями и данными контрольной группы ($P < 0,01-0,001$), за исключением 1-й (тенденция). Уровень Т-лф у птицы 1-3-й опытных групп составлял $13,9 \pm 0,69$; $16,7 \pm 0,49$ и $16,0 \pm 0,68$ Г/л; соответственно. Однако при положительной динамике во всех опытных группах достоверное превышение относительных значений по сравнению с контрольной выявляли только во 2-й — $52,2 \pm 2,13$ против $46,4 \pm 1,91\%$ ($P < 0,05$). На 35-й дн после иммунизации абсолютное число Т-лф у птиц, обработанных бестимом ($10,9 \pm 0,70$; $14,3 \pm 0,67$ и $16,0 \pm 0,68$ Г/л — 1-3-я, соответственно) превышало данные контрольной ($7,8 \pm 0,54$ Г/л; $P < 0,01-0,001$), а во 2- и 3-й было выше фонового уровня ($P < 0,05-0,01$). Относительное количество Т-лф также фиксировали на более высоком уровне — $45,6 \pm 1,60$; $47,2 \pm 1,39$ и $51,2 \pm 2,01\%$ (1-3-я, соответственно), но достоверные различия с контролем отмечали только у птицы 3-й опытной группы ($P < 0,001$), в которой они увеличивались на протяжении всего периода исследований. Причиной отмеченных выше изменений является достоверное увеличение относительного и абсолютного числа Т-х у цыплят опытных групп через 14 дн после иммунизации ($38,0 \pm 1,00/10,3 \pm 0,32$; $43,2 \pm 1,71/13,8 \pm 0,36$ и $42,4 \pm 1,29\%/13,3 \pm 0,81$ Г/л — 1-3-я, соответственно), которые в 1,6-1,9 раз были выше фоновых значений ($P < 0,001$), и в 1,2-1,3 раза данных контрольной группы ($P < 0,05-0,001$). Через 35 дн отмеченная закономерность сохранялась, при незначительном снижении величины признака у птиц 1- и 2-й опытных групп и отсутствии изменений у 3-й ($37,0 \pm 1,87/8,8 \pm 0,55$; $39,8 \pm 1,59/12,0 \pm 0,62$ и $42,4 \pm 0,75/13,3 \pm 0,81$ против $30,6 \pm 1,72\%/5,7 \pm 0,22$ Г/л в контроле, $P < 0,05-0,001$). У цыплят опытных групп через 14 дн после иммунизации фиксировали значительное снижение относительного и абсолютного уровня Т-ц лимфоцитов, более выраженное, чем в контроле ($9,4 \pm 1,63/2,6 \pm 0,50$; $9,0 \pm 0,63/2,9 \pm 0,20$ и $7,8 \pm 1,24/2,4 \pm 0,43$ против $13,6 \pm 1,86\%/3,3 \pm 0,37$ Г/л, соответственно). К концу опыта отмеченная динамика сохранялась, однако, при тенденции к снижению относительных ($8,6 \pm 1,33$; $7,4 \pm 1,03$ и $8,8 \pm 1,39$ против $11,0 \pm 1,82\%$), абсолютные значения приближались к данным контрольной группы или были незначительно выше — $2,1 \pm 0,40$; $2,2 \pm 0,33$ и $2,7 \pm 0,30$ по сравнению с $2,1 \pm 0,43$ Г/л. Отмеченные изменения отразились на значениях иммунорегуляторного индекса, который через 14 дн после вакцинации в опытных группах [$5,4 \pm 1,92$ (тенденция); $4,9 \pm 0,26$ ($P < 0,01$) и $6,0 \pm 0,92$ ($P < 0,05$) — в 1-3-й, соответственно] превышал значения контрольной ($2,7 \pm 0,48$) и на всем протяжении опыта был выше фоновых значений ($1,1 \pm 0,13$) в 4,5-5,5 раз ($P < 0,05-0,001$)

Таким образом сочетанное применение бестима в дозах 0,01-0,0001 мг/гол на фоне вакцинации против НБ оказывает стимулирующее влияние на Т-клеточную систему иммунитета, которое проявляется увеличени-

ем в крови птицы общего количества Т-лимфоцитов, активацией их хелперной функции и угнетением супрессорной.

2.2.2.4.3. Фагоцитарная активность псевдозозинофилов

Фоновые значения фагоцитарной активности (ФА) составляли $26,4 \pm 1,57\%$; фагоцитарный индекс (ФИ) — $1,8 \pm 0,86$; фагоцитарное число (ФЧ) — $0,5 \pm 0,27$ и фагоцитарная емкость (ФЕ) — $4,8 \pm 2,51$.

Данные исследования функциональной активности псевдозозинофилов свидетельствуют об увеличении ФА через 14 дней после вакцинации у птицы контрольной и опытных групп до $32,2 \pm 1,74$ ($P < 0,05$); $42,8 \pm 2,50$ ($P < 0,01$); $43,0 \pm 2,30$ ($P < 0,01$); $44,8 \pm 3,48$ ($P < 0,05$). Однако значения данного показателя в опытных группах в 1,3-1,4 раза превышали данные контрольной ($P < 0,05-0,01$). Через 35 дней в контрольной группе наблюдали постепенное снижение ФА ($29,6 \pm 2,01\%$), которая приближалась к исходному уровню. Сходная динамика прослеживалась и в опытных группах, однако во всех случаях значения ФА были выше показателей 17-дневных цыплят — $33,2 \pm 2,01$ ($P < 0,05$); $40,4 \pm 2,01$ ($P < 0,001$); $36,0 \pm 2,49\%$ ($P < 0,05$) — 1-3-я, соответственно.

Изменения ФИ во всех группах не имели достоверной динамики. При этом в опытных группах птицы через 14 дней после иммунизации наблюдали выраженную тенденцию к увеличению показателя в 1,6-1,9 раз по сравнению с фоновым уровнем ($3,4 \pm 0,60$; $3,4 \pm 0,79$; $2,9 \pm 0,58$, соответственно против $1,8 \pm 0,86$ частиц) и в 1,3-1,5 раз — с контрольной группой ($2,2 \pm 0,36$ частиц). К концу наблюдения во всех группах, за исключением 3-й, ФИ также был выше значений контрольной группы — $3,2 \pm 1,32$; $3,5 \pm 0,42$ и $2,1 \pm 0,31$ против $2,2 \pm 0,36$ частиц.

Значение ФЧ у птицы контрольных групп имело тенденцию к увеличению и на протяжении опыта держалось на одинаковом уровне ($0,7 \pm 0,07$ и $0,7 \pm 0,12$ частиц), незначительно превышая исходные показатели. В опытных группах фиксировали более выраженное, чем в контрольной, увеличение ФЧ, значение которого через 14 дней после вакцинации в 2,6-3,0 раза превышало фоновый уровень и в 1,9-2,1 — контрольной и оставалось на высоком уровне до конца наблюдения ($1,1 \pm 0,52$; $1,4 \pm 0,17$ ($P < 0,01$); $0,7 \pm 0,12$ частиц).

Динамика ФЕ отражает описанные выше изменения. В отличие от контрольной, у цыплят опытных групп через 14 дней отмечали достоверное повышение анализируемого показателя в 3,2-3,9 ($P < 0,05-0,01$) и 2,6-3,1 ($P < 0,05$) раз ($15,0 \pm 2,53$; $18,5 \pm 4,63$ и $15,5 \pm 3,77$ тыс. частиц) по сравнению с контролем и фоном и постепенное снижение к концу опыта до $10,6 \pm 5,38$; $15,9 \pm 1,37$; $9,7 \pm 1,98$ (1-3-я опытные группы, соответственно), но при этом ее уровень был выше значений 17-дневных птиц (1-я и 3-я — тенденция, 2-я — $P < 0,01$) и вакцинированной без препарата (1-я — тенденция, 2- и 3-я — $P < 0,001$ и $0,05$).

Таким образом, применение бестима в сочетании с вакциной против НВ способствует активации фагоцитарной функции псевдозозинофилов у птицы. Действие препарата более выражено при использовании дозы $0,001$ мкг/гол.

2.2.2.4.4. Тест восстановления нитросиннего тетразолия

Изучение динамики НСТсп-теста выявило сходные изменения у цыплят как контрольной, так и опытных групп, при отсутствии достоверных различий между ними. На 14 дн после вакцинации у всей птицы отмечали увеличение в 2,0-2,2 раза ($14,4 \pm 2,73$; $13,4 \pm 1,03$; $14,2 \pm 1,16$; $13,6 \pm 1,63\%$ — в контрольной и 1-3-й опытных, соответственно, $P < 0,05-0,001$) по сравнению с фоновыми значениями ($6,6 \pm 0,75\%$). В последующем в указанных группах наблюдали уменьшение анализируемого показателя до $11,2 \pm 1,20$; $11,6 \pm 0,68$; $10,6 \pm 0,75$ и $11,4 \pm 1,17\%$, не достигающего однако исходного содержания.

Анализ показателей НСТст-теста при сходной динамике у всей птицы свидетельствует о более выраженных изменениях у цыплят обработанных ИС, по сравнению с контрольной группой. Через 14 дн после иммунизации во всех группах отмечали увеличение значений НСТст-теста по сравнению с фоновым уровнем в 1,2-1,5 раз — $19,2 \pm 0,80$; $20,6 \pm 0,93$; $24,0 \pm 2,12$ и $24,0 \pm 2,02$, контрольная, 1-3-я опытные, соответственно, против $15,8 \pm 0,73\%$ ($P < 0,05-0,01$). Через 35 дн регистрировали незначительное снижение данных НСТст-теста, однако во всех группах они превышали фоновый уровень — $17,2 \pm 1,28$; $20,8 \pm 2,05$; $18,4 \pm 0,75$ ($P < 0,05$) и $17,8 \pm 1,28\%$, соответственно.

Результатом описанных выше изменений явилось уменьшение значений коэффициента мобилизации (КМ) через 14 дн после введения препаратов до $1,9 \pm 0,83$; $1,6 \pm 0,18$; $1,7 \pm 0,23$ $1,8 \pm 0,25$ (контрольная, 1-3-я опытные группы, соответственно) по сравнению с фоном — $2,5 \pm 0,33\%$. Отмеченная тенденция более выражена у птицы, привитой с ИС, чем у только вакцинированной.

Таким образом, применение бестима на фоне прививки птицы против НБ вызывает ряд изменений в функционировании микробицидных систем псевдоэозинофилов у кур, характеризующихся, главным образом, повышением индуцированной НСТ-реакции и уменьшением значений КМ, что свидетельствует о незначительном снижении функционального резерва нейтрофилов.

2.2.2.5. Динамика антителогенеза против ньюкаслской болезни у птицы за весь период производственного использования на фоне иммуностимуляции бестимом и тимогеном

Опыт продолжительностью 17 мес выполнен в производственных условиях на 9 группах птиц — контрольная и 8 опытных ($n=2700$). Для иммунизации использовали две вакцины: живую против НБ из штамма «Ла-Сота» (в 18- и 55-дн возрасте цыплят, методом спрея) и инактивированную — против НБ, ИБК и ССЯ-76 (в 95-дн возрасте, внутримышечно). Птицу контрольной только вакцинировали, а опытных (в 18-дн возрасте) — дополнительно в сочетании с тимогеном (1-, 2-, 3-, и 4-й) или бестимом (5-, 6-, 7- и 8-й) в дозах 0,1; 0,01; 0,001 и 0,0001 мг/гол, соответственно.

Перед 2-й иммунизацией опытные группы цыплят делили на две подгруппы — нечетные (1.1, 2.1, 3.1 и т.д.) и четные (1.2, 2.2, 3.2 и т.д.). Птицу нечетных групп прививали вакциной, а четных — в сочетании с ИС в указанных ранее дозах. Титры специфических АГ определяли в РТГА через 14 и 35 дн после 1- и 2-й вакцинации, а затем в 4-, 5-, 7-, 9-, 11- и 17 мес возрасте птиц.

Результаты опытов (рис.) свидетельствуют о зависимости действия бестима и тимогена от дозы и кратности применения. Так, при однократной обработке молодняка в дозах 0,001-0,0001 мкг/гол бестим оказывает более продолжительное действие, чем тимоген. Он стимулирует иммунный ответ не только на вакцинацию цыплят в 18-дн возрасте, но и в более поздние сроки — на ревакцинацию 55-дн поголовья, в то время тимоген в наиболее оптимальных дозах 0,001-0,0001 мкг/гол усиливает продукцию специфических АГ только на первую прививку (исключая дозу 0,1 мкг/гол). Повторная обработка птиц бестимом при ревакцинации не оказывает существенного влияния на синтез АТ, а в дозе 0,0001 мкг/гол даже ингибирует его. Целесообразно двукратное применение тимогена из расчета 0,0001 мкг/гол и повторная обработка в дозе 0,1-0,01 мкг/гол. Иммунный ответ у взрослой птицы на инактивированную вакцину определяется кратностью обработок молодняка в 18-, 55-дн возрасте. Наиболее высокие значения АТ, превышающие показатели контроля, наблюдали в группах птиц, обработанных тимогеном однократно в дозе 0,001 мкг/гол или бестимом двукратно из расчета 0,0001 мкг/гол.

Таким образом, полученные данные позволяют обосновать возможность применения ИС в системе специфической профилактики НБ в птицеводческих хозяйствах промышленного типа.

2.2.3. Экономическое обоснование полученных результатов

Для определения экономической эффективности использования тимогена в системе «ИББ–НБ» сравнили разные схемы профилактики — классическую, ранее используемую в хозяйстве, которая предполагает двукратную вакцинацию против ИББ в 13- и 23-дн возрасте и иммунизацию против НБ с 18 дн; первую экспериментальную (вакцинация против ИББ только в 13-дн возрасте в сочетании с тимогеном в дозе 1,0 мкг/гол с последующей прививкой против НБ 18-дн цыплят) и вторую (также однократная вакцинация против ИББ в 13 дн, но без ИС с последующей прививкой против НБ в 18-дн возрасте в сочетании с тимогеном в дозе 0,01 мкг/гол.). Эффективность изучаемых схем применения препаратов определяется экономией затрат на иммунизацию птиц, которая составляет 56,7 и 78,1 руб на 1000 гол, соответственно, и связана с отсутствием повторной прививки против ИББ. При этом общая стоимость профилактических обработок в 1,4 и 1,6 раз ниже, чем при использовании классической схемы.

Применение бестима в системе профилактики ньюкаслской болезни в дозах 0,001-0,0001 мкг/гол кроме стимуляции иммунного ответа на вакцинацию способствует получению дополнительной продукции за счет снижения отхода и повышения среднесуточного прироста живой массы цыплят в размере 946,8 руб на 1000 гол.

ВЫВОДЫ

1. Иммуностимуляция антителиогенеза тимогеном в дозе 1,0 мкг/гол (в меньшей степени 0,01 мкг/гол) при однократной вакцинации против инфекционной бурсальной болезни 12-(13)-дневных цыплят не уступает по эффективно-

сти двукратной с 10-дневным интервалом между прививками, что позволяет уменьшить число прививок с двух до одной.

2. Сочетанное применение тимогена в дозе 0,01 мкг/гол с вакциной против ньюкаслской болезни стимулирует продукцию не только специфических антигеммагглютининов, но и синтез антител против инфекционной бурсальной болезни. Применение препарата в дозе 1,0 мкг/гол в сочетании с вакциной против инфекционной бурсальной болезни за 5 дней до иммунизации против ньюкаслской болезни усиливает антителогенез против возбудителей обеих болезней.

3. Сочетанное применение тимогена в дозе 0,01-0,001 мкг/гол с вакциной против ньюкаслской болезни птиц из штамма «Ла-Сота» при двукратной прививке против инфекционной бурсальной болезни приводит к ингибции антителогенеза против обеих возбудителей, а при однократной — стимулирует образование специфических антител против ньюкаслской и инфекционной бурсальной болезней.

4. Антителостимулирующее действие препаратов в системе «объем/эффект» в оптимальных дозах тимогена — 0,001 и бестима — 0,0001 мкг/гол и одинаковой антигенной нагрузке более выражено при использовании прививочного объема в 1,0 по сравнению с 2,0 см³ — 4,9±0,6 и 5,0±0,8 против 4,2±0,6 и 4,1±1,0 log₂, соответственно.

5. Сочетанное применение бестима и вирусвакцины против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» методом спрея оказывает выраженное антителостимулирующее действие и носит дозозависимый характер. Наиболее значительный прирост специфических антигеммагглютининов регистрируют при обработке птицы из расчета 0,001-0,0001 мкг/гол.

6. Бестим в дозах 0,01-0,0001 мкг оказывает выраженное иммуномодулирующее действие. Он стимулирует эритро- и лейкопоз, увеличивая количество эритроцитов и лейкоцитов, повышает фагоцитарную и кислородозависимую бактерицидную активность псевдозоинофилов, активизирует Т-клеточную систему иммунитета.

7. Сочетанное применение бестима и тимогена и вакцины против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» методом спрея позволяет осуществить первый вход с вакциной на фоне высокого уровня трансовариальных антител у 15-18 дневных цыплят. В то же время при обработке 5-10-дневной птицы препараты ингибируют синтез специфических антигеммагглютининов. Тимоген обладает более выраженным биологическим действием, чем бестим, как супрессирующего, так и стимулирующего характеров.

8. Сочетанное применение тимогена и бестима при вакцинации молодняка против ньюкаслской болезни методом спрея оказывает выраженное иммуномодулирующее влияние на реакции иммунитета и неспецифической защиты за весь период производственного использования птицы. Действие препаратов на антителогенез неоднозначно, носит дозозависимый характер, определяется кратностью обработок. Наиболее эффективное действие на молодняк тимоген оказывает при двукратной обработке в 18- и 55-дн возрасте в дозе 0,0001, бестим — при однократной из расчета 0,01-0,001 мкг/гол, на птицу промышленно-

го страда — при обработке молодняка тимогеном однократно в дозе 0,001, бестимом — двукратно из расчета 0,0001 мкг/гол.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для повышения эффективности специфической профилактики вирусных болезней в системе «инфекционная бурсальная болезнь + ньюкаслская болезнь» рекомендуем использовать следующую схему применения тимогена с вакцинами: при иммунизации 13-дневного молодняка против инфекционной бурсальной болезни вакциной из штамма «БГ» путем выпаивания из расчета 0,1-1,0 мкг/гол или при иммунизации 18-суточных цыплят против ньюкаслской болезни вакциной из штамма «Ла-Сота» крупнокапельным методом в дозе 0,01-0,001 мкг/гол. Эта схема позволяет ограничиться однократной прививкой против инфекционной бурсальной болезни и обеспечить полноценную защиту от обеих инфекций

2. Для повышения эффективности специфической профилактики ньюкаслской болезни рекомендуем применять вирусвакцину из штамма «Ла-Сота» совместно с бестимом из расчета 0,001-0,0001 мкг на одну прививную дозу. Обработку птицы проводить при первой вакцинации в 15-18-дневном возрасте крупнокапельным методом (метод спрея). С учетом длительного последствия препарат стимулирует антителогенез и при повторной вакцинации 55-суточного молодняка.

3. Результаты исследований по применению тимогена и бестима для повышения иммуногенности вакцин против инфекционной бурсальной и ньюкаслской болезней рекомендуем использовать в учебном процессе в зооветеринарных вузах, а также в ветеринарной практике.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Осадченко А.А., Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Бурдейная Р.В., Калашников Д.С. Применение тимогена при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни // Материалы 56-й международной научно-практической конференции. Кострома, 2005, С. 120-121.

2. Бурдейный В.В., Осадченко А.А., Комиссаров В.Б. Эффективность вакцинопрофилактики ньюкаслской болезни цыплят на фоне иммуностимуляции препаратом ИС-14 // Материалы международной научно-методической конференции, посвященной 60-летию Победы в Великой Отечественной войне и 75-летию Ивановской ГСХА. Иваново, 2005, С. 36-37.

3. Осадченко А.А., Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В., Трескин М.С., Бурдейная Р.В. Влияние тимогена на иммунный ответ при вакцинации цыплят раннего возраста против инфекционной бурсальной и ньюкаслской болезни // Материалы международной научно-методической конференции, посвященной 60-летию Победы в Великой Отечественной войне и 75-летию Ивановской ГСХА. Иваново, 2005, С. 108-110.

4. Осадченко А.А., Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В., Трескин М.С., Бурдейная Р.В. Влияние тимогена и препарата ИС-14 на иммунный ответ при вакцинации птиц против ньюкаслской болезни // Материалы международной. на-

учно-методической конференции, посвященной 60-летию Победы в Великой Отечественной войне и 75-летию Ивановской ГСХА. Иваново, 2005, С. 110-112.

5. Бурдейный В.В., Осадченко А.А., Трескин М.С. Динамика антителиобразования при различных схемах иммунизации птиц против ньюкаслской болезни вакциной «Ла-Сога» в сочетании с тимогеном и препаратом ИС-14 // Сборник статей трудов Костромской ГСХА. Кострома, 2005, вып. 64, С. 46-50.

6. Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Бурдейная Р.В., Трескин М.С., Осадченко А.А. Влияние изамбена и тимогена на иммунный ответ при вакцинации птицы против ньюкаслской болезни // Материалы 1-го международного ветеринарного конгресса по птицеводству. Москва, 2005, С. 88-90.

7. Осадченко А.А., Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Трескин М.С. Стимуляция вакцинального процесса синтетическими дипептидами при профилактике ньюкаслской болезни птиц // Вестник Костромского ГУ им. Н.А. Некрасова. Кострома, 2005, №11, С. 18-21.

8. Осадченко А.А., Бурдейный В.В., Трескин М.С., Бурдейная Р.В., Комиссаров В.Б. Динамика антителиогенеза у птицы при вакцинации против ньюкаслской болезни на фоне иммуностимуляции тимогеном и препаратом ИС-14 // Материалы 57-й международной научно-практической конференции. Кострома, 2006, С. 79-81.

9. Осадченко А.А., Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Трескин М.С., Бурдейная Р.В. Методология сочетанного применения синтетических дипептидов с вакциной против ньюкаслской болезни птиц // Материалы 57-й международной научно-практической конференции. Кострома, 2006, С. 81-82.

10. Осадченко А.А., Бурдейный В.В. Динамика клеточных и гуморальных факторов неспецифического иммунитета у птицы при вакцинации против ньюкаслской болезни на фоне иммуностимуляции препаратом «ИС-14» // Сборник статей трудов Костромской ГСХА. Кострома, 2006, вып. 65, С. 63-69.

11. Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Трескин М.С., Осадченко А.А., Бурдейная Р.В. Эффективность групповых и индивидуальных методов вакцинации птицы против ньюкаслской болезни // Тезисы международной научно-практической конференции. Санкт-Петербург, 2006, С. 66-68.

12. Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., Трескин М.С., Бурдейная Р.В., Осадченко А.А. Повышение эффективности специфической профилактики ньюкаслской болезни на основе сочетанного применения вакцины с синтетическими дипептидами // Тезисы международного научно-практического конгресса. Санкт-Петербург, 2006, С. 64-66.



Подписано в печать 16.01.2007
Печ. л. 1,44 Усл. печ.л. 1,34
Отпечатано на ризографе

Формат бумаги 60x84 1/16.
Тираж 100 экз. Заказ № 418

Полиграфический отдел ФГОУ ВПО
«Ивановская ГСХА имени академика Д.К. Беляева».
153012 г. Иваново, ул. Советская,45