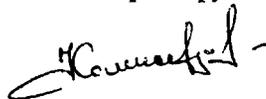


*На правах рукописи*



**Комиссаров  
Василий Борисович**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ  
НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ У ЦЫПЛЯТ НА ОСНОВЕ  
ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург  
**2004**

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

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

**Официальные оппоненты:** - доктор ветеринарных наук.  
**Соколова Лидия Николаевна**

кандидат ветеринарных наук  
**Фогель Леонид Сергеевич**

**Ведущая организация** - Всероссийский научно-исследовательский  
ветеринарный институт птицеводства

Защита состоится 16 апреля 2004 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «14» марта 2004 г.

**Ученый секретарь**  
**диссертационного совета,**  
доцент

**Узюмова Ольга Васильевна**

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Важнейшей задачей ветеринарной науки и практики в современных условиях развития птицеводства является создание устойчивого благополучия по инфекционным болезням, в частности, наиболее опасной из них - ньюкаслской болезни (НБ).

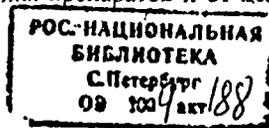
Ведущая роль в комплексе противоэпизоотических мероприятий при НБ принадлежит специфической профилактике, основанной на применении живых и инактивированных вакцин [Н.А. Лагуткин, В.Л. Стебелев, 1998; Т.В. Руденко, В.И., Смоленский, 1999; В.Н. Ирза и соавт., 2003; С.К. Старов, 2003; И.В. Казанцев, 2003; P. Teletkov и др., 2000; D.J. Alexander, 1991; 2001].

Однако вакцинация не всегда приводит к выработке напряженного иммунитета, особенно у молодняка.

Случаи низкой сероконверсии или слабой напряженности иммунитета отмечают при иммунизации цыплят с высоким уровнем пассивных (материнских) антител [Т.А. Сосновская, 2000; Г.Г. Амдемариам, 2002; И.В. Казанцев и соавт., 2000; 2003], в период возрастного иммунодефицита, обусловленного особенностью развития птиц в онтогенезе [Ж.Б. Коренева, 2001; М.П. Бабина, 2002; А.Л. Лях, 2003], при недостаточном антигенном раздражении (заниженной прививной дозе), неправильном методе введения препарата, сближении срока ревакцинации и частых антигенных раздражений (многократные прививки за короткий промежуток времени), нарушении гигиены кормления и содержания и целого ряда других факторов [В.Н. Сюрин и соавт., 1998; Т.В. Руденко, В.И. Смоленский и др., 1998]. Кроме того, интенсивные технологии, на которых базируется современное птицеводство, обуславливают снижение неспецифической и специфической резистентности кур [А.Б. Иванова, 2002; В.Н. Ирза и соавт., 2003; С.К. Старов, 2003].

В подобных случаях для повышения иммунобиологической защиты перспективно применение иммуностимуляторов [Т.А. Сосновская, 1993, 2000; М.С. Жаков и соавт., 1995, 2001; И.М. Громов, В.С. Прудников, 1998; Г.А. Красников и соавт., 1998, 2000; Б.Ф. Бессарабов и соавт., 1999; С.В. Семенова и соавт., 2001; Яй Станислас, 2002].

Особого внимания заслуживают препараты тимического происхождения, обладающие двумя важными фармакологическими эффектами - эффектом иммуномодулирующего действия и эффектом малых доз. Некоторые из них с положительным результатом были использованы для усиления иммунного ответа при вакцинации птицы против БН, болезни Марека, инфекционной бурсальной болезни, пастереллеза [Н.Д. Придыбайло, 1987; 1991; Е.А. Корнякова, Т.Н. Ракова, 1993; Г.В. Сорокина, 1995; И.Н. Громов, 2000; А.Л. Лях, 2003]. Наряду с этим имеются отдельные сообщения о том, что использование тимогена для стимуляции антителообразования при вакцинации птицы против НБ и реовирусного теносиновта неэффективно [С.К. Старов и соавт., 2003]. Известно так же, что проявление того или иного стимулирующего действия в существенной мере зависит от дозовых, временных параметров применения препаратов и от целого ряда условий [В.В. Бурдейный и соавт., 2000].



Таким образом, проблема использования иммуностимуляторов для повышения иммуногенности вакцин еще полностью не раскрыта и многие аспекты их применения в птицеводстве требуют дальнейшего обоснования.

**Цель и задачи исследований.** Целью настоящей работы явилось обоснование возможности применения тимогена и изамбена для усиления иммунного ответа при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни

В соответствии с этим были определены следующие задачи:

1. Провести анализ эффективности специфической профилактики против НБ в условиях птицеводческого хозяйства.
2. Изучить особенности действия изамбена в зависимости от сроков и методов применения на антителообразование при вакцинации цыплят против НБ.
3. Определить возможность применения тимогена в малых дозах для повышения иммуногенности живой вакцины против НБ.
4. Определить оптимальные условия сочетанного применения тимогена с вакциной (дозы, время, методы, способы) при иммунизации цыплят против НБ
5. Изучить изменение гематологических и иммунологических параметров при вакцинации цыплят против НБ на фоне иммуностимуляции тимогеном.
6. Испытать схему сочетанного применения тимогена с вакциной против НБ в условиях птицеводческого хозяйства.

**Научная новизна работы.** Впервые определены наиболее оптимальные сроки и методы применения изамбена для повышения антителогенеза при вакцинации цыплят против НБ. Впервые в экспериментальных и производственных условиях показано иммуномодулирующее и адьювантное действие тимогена в малых дозах - 0,0] -0,001мкг/гол в сочетании с вакциной против НБ, определены оптимальные условия (дозы, время, методы, способы) такого применения, изучена динамика гематологических и иммунологических параметров, показана перспектива создания комплексного препарата биофабричным способом. На основании полученных результатов разработана оптимальная схема специфической профилактики НБ с использованием тимогена, которая вписывается в технологическую карту ветеринарно-санитарных обработок в птицеводческих хозяйствах промышленного типа.

**Практическая значимость работы.** Результаты экспериментов и производственных опытов открывают перспективы для широкого практического использования иммуномодуляторов тимической природы или их синтетических аналогов, в частности тимогена, в малых дозах (0,01-0,001мкг/гол) в сочетании с вакциной в промышленном птицеводстве для повышения эффективности специфической профилактики НБ или коррекции иммунного статуса птицы.

Опыт успешного применения композиционной смеси, состоящей из коммерческой вакцины и тимогена из расчета 0,01 -0,001мкг на одну иммунизирующую дозу, указывает на возможность создания подобной формы биопрепарата в условиях промышленного производства

По результатам исследований составлено «Временное наставление по применению вакцины «Ласотим» против ньюкаелской болезни птиц», рассмотренное и одобренное на секции ветеринарной медицины и зоотехнии научно-технического совета (протокол №1 от 21 01 2004 г), Ученом Совете вуза (протокол №1 от 23.01.2004 г ) и утвержденное ректором ФГОУ ВПО Костромская

ГСХА 30 01.2004 г. Данные, полученные при выполнении диссертационной работы, используются ветеринарными специалистами ЗАО «Галичское» по птицеводству Костромской области, в учебном процессе на кафедрах эпизоотологии, микробиологии, вирусологии, фармакологии и паханатомии вузов РФ (ФГОУ ВПО Саратовский ГАУ, ФГОУ ВПО Ставропольский ГАУ, ФГОУ ВПО Вятская и Костромская ГСХА).

Совместно с сотрудниками ФГОУ ВПО Костромская ГСХА и ФГУ «ВНИИЗЖ» 21.01.2004 г. подано заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение «Вирусвакцина против ньюкаслской болезни птиц» (регистрационный № 2004101398)

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и получили положительную оценку на Межвузовских научно-практических конференциях «Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе» (Кострома, 2001, 2002, 2003 гг.), на Международной научной конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии животных», посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ», (Владимир, 2003 г.).

**Публикация результатов исследования.** Основные положения диссертации изложены в 10 опубликованных научных работах.

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

1. Эффективность вакцины против НБ из штамма «Ла-Сота» в условиях птицеводческого хозяйства.
2. Модифицированный метод контроля напряженности иммунитета против НБ птиц
3. Влияние изамбена на формирование поствакцинального иммунитета у цыплят против НБ.
4. Дозозависимое и временное действие тимогена на формирование поствакцинального иммунитета у цыплят против НБ.
5. Эффективность различных методов сочетанного применения тимогена с вакциной против НБ.
6. Динамика гематологических и иммунологических показателей у цыплят в поствакцинальный период на фоне иммуностимуляции тимогеном.
7. Схема сочетанного применения тимогена с вакциной против НБ в условиях птицеводческого хозяйства.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 168 страницах компьютерного текста, включает 26 таблиц, 20 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, предложений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 237 наименований, в том числе 182 работ отечественных и 55 - иностранных авторов.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы**

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии и вирусологии ФГОУ ВПО Костромская государственная сельскохозяйственная академия в 2000-2003 гг. Научно-производственные опыты проведены на базе ЗАО «Галичское» по птицеводству Костромской области в течение 2001-2003 гг.

Объектом исследования служили цыплята 1-111-дн возраста яичных кроссов «Хайсекс белый» и «Хайсекс коричневый». Птица контрольных и опытных групп находилась в одинаковых условиях содержания.

В качестве иммуностимуляторов использовали два препарата - изамбен - иодметилат 4-(1-бензил) карбамидопиридинид (производное изоникотиновой кислоты) и тимоген - синтетический дипептид глутамил-триптофан ( $C_{16}H_{20}N_3O_5$ ), по структуре и биологическому действию идентичный активному центру тималина - нативного препарата тимуса.

Для иммунизации птицы применяли коммерческие серии вакцины против НБ из штамма «Ла-Сота» производства ВНИИЗЖ (г. Владимир).

Исследования включали несколько этапов: первый - анализ эффективности специфической вакцинопрофилактики против НБ на основании данных производственной лаборатории хозяйства за 2000/2003 гг. и собственных исследований по определению напряженности иммунитета в РТГА; второй - определение антителостимулирующей активности изамбена в комбинации с вакциной в зависимости от сроков и методов обработки птицы; третий - изучение иммуностимулирующей активности тимогена в комбинации с вакциной в зависимости от дозы, сроков и методов обработки птицы в экспериментальных и производственных условиях, его влияния на показатели естественной резистентности и специфической устойчивости у цыплят.

Антителостимулирующее действие изамбена и тимогена в сочетании с вакциной определяли по данным РТГА, которую ставили в соответствии с общепринятыми методиками.

Кровь для морфологических и серологических исследований получали методом обескровливания цыплят в пробирки с гепарином (20-25 МЕ/см<sup>3</sup>).

Лимфоциты и псевдоэозинофилы выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина.

Количество Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана по M.Jondal и соавт. (1972, 1973) в модификации А.И.Цымбала и соавт. (1983), теофиллинчувствительных (Етч-РОК) и теофиллинрезистентных (Етр-РОК) - по В.Shonat, Н.Toshua (1982), В-лимфоцитов (ЕАС-РОК) - по А.И.Цымбалу и соавт. (1983), «нулевых» клеток - по S.S.Froland, L.V.Natvig (1973) и M.Jondal и соавт. (1973).

Количество эритроцитов, лейкоцитов, лейкоформулу определяли общепринятыми методами (И.П. Кондрахин и соавт., 1985; В.М. Митюшников, 1985; Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов, 1995)

Фагоцитарную активность псевдоэозинофилов оценивали по способности поглощать инертные частицы меламинаформальдегидных латексов размером 1,5 мкм производства ВНИИ биологического приборостроения (г. Москва) в соответствии с методическими рекомендациями Р.В.Петрова и соавт. (1992). Кроме того, определяли фагоцитарный индекс, фагоцитарное число и фагоцитарную емкость по В.М. Митюшникову (1985), кислородзависимую бактерицидную активность в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по Р.В.Петрову и соавт. (1992), А.Н.Маянскому, О.И.Пикуза (1993).

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

В экспериментах использовано 2068 цыплят, 2 кролика, 250 куриных яиц, проведено 3969 исследований сывороток крови в РТГА, 290 - по определению иммунологических и гематологических показателей, фагоцитарной и кислород-зависимой микробицидной активности псевдоэозинофилов. Производственный опыт по оценке адьювантных свойств тимогена в дозе 0,01 мкг/гол в сочетании с вакциной выполнен на 72 тыс 17-дн цыплят, во время которого проведено 550 серологических исследований, 150 контрольных определений живой массы птицы.

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с применением критериев Стьюдента и К.Пирсона (Г.Ф. Лакин, 1990) на персональном компьютере, совместимом с IBM PC/AT, с использованием интегрального пакета Excel.

## **2.2. Результаты собственных исследований**

### **2.2.1. Оценка эффективности применения вакцины из штамма «Ла-Сота» против ньюкаслской болезни птиц**

ЗАО «Галичское» по птицеводству специализируется на производстве яиц, является благополучным по инфекционным болезням. Поголовье кур против НБ иммунизируют трехкратно: до 2002 г. - в 20-25-, 45-55- и 110-120 -, а с 2002 г. - в 17-, 55- и 90-110 - дн возрасте. Первые две прививки проводят живой вакциной из штамма «Ла-Сота», третью - инактивированной против НБ, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости — 76. Титры материнских (пассивных) антител у цыплят 17- и 24-дн возраста составляли  $2,60 \pm 0,76$  И  $0,40 \pm 0,17 \log_2$ . Антительный ответ на вакцинацию у цыплят и взрослого поголовья кур характеризуется следующими показателями: в 2001 г.  $5,50 \pm 0,28$ ;  $5,90 \pm 0,23$ ;  $9,80 \pm 0,26$  и 2002 г.  $4,60 \pm 0,28$ ;  $5,50 \pm 0,30$ ;  $8,80 \pm 0,60 \log_2$ . Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой эффективности вакцины из штамма «Ла-Сота». Однако обращает на себя внимание факт снижения уровня содержания антигемагглютининов (АГ) в 2002 г. по сравнению с предыдущим периодом как у кур ( $P < 0,001$ ), так и у цыплят на первую прививку ( $P < 0,05$ ). У молодняка это могло быть обусловлено ингибирующим действием более высокого уровня трансовариальных антител и, возможно, иммунодепрессивным действием вакцинного вируса инфекционной бурсальной болезни.

В сравнительном плане испытана возможность определения титра АГ в сыворотке и желтке куриных яиц, различные способы подготовки желтка, влияние низкой температуры ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) на уровень антител при хранении проб в течение 21 суток.

Установлено, что титры АГ в желтке определялись на уровне 98,2-99,4% их содержания в сыворотке. Коэффициент корреляции при исследовании проб сывороток и желтка от кур 145-, 166- и 188-дн возраста до и после вакцинации составлял  $0,81 \pm 0,14$  и  $0,59 \pm 0,18$ ;  $0,91 \pm 0,09$  и  $0,67 \pm 0,15$ ;  $0,84 \pm 0,14$  и  $0,71 \pm 0,15$ , соответственно. Не выявлено достоверной разницы в использовании растворителей для желтка - фосфатного буфера, изотонического раствора хлорида натрия и смеси хлороформа с фосфатным буфером ( $P > 0,05$ ). Однако мы отдаем предпочтение последнему из-за отсутствия опалесценции экстракта, что облегчает учет реакции. Заметной потери активности антител при хранении сыворотки и экстракта желтка в течение 21 сут при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  не наблюдалось ( $P > 0,05$ ).

Таким образом; использование данного приема - определения титра АГ в желтке яиц - позволяет упростить методику отбора проб для исследования, расширяет возможности контроля за эффективностью вакцинации, быстрой и точной оценкой эпизоотической обстановки.

### **2.2.2. Результаты испытаний сочетанного применения изамбена с вакциной против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота»**

На первом этапе определяли оптимальные сроки применения изамбена, интенсивность антительного ответа при сочетанном применении с вакциной по сравнению с контрольными группами цыплят, привитых дву- (1-я) или однократно (2-я) в 24- и 55-дн возрасте. Птице опытных групп (1-5-й) изамбен выпаивали по  $1,0 \text{ см}^3$  водного раствора из расчета 10 мг/кг живой массы в день, через 24, 48, 72 и 120 час после вакцинации, а контрольных - плацебо. Титры АГ у цыплят контрольных и опытных групп в 43- и 77-дн возрасте составляли  $6,2 \pm 0,49$  и  $5,2 \pm 0,63$ ;  $5,6 \pm 0,40$  и  $3,6 \pm 0,37$ ;  $6,9 \pm 0,49$  и  $3,6 \pm 0,38$ ;  $7,0 \pm 0,34$  и  $5,3 \pm 0,52$ ;  $6,9 \pm 0,44$  и  $4,4 \pm 0,51$ ;  $6,7 \pm 0,41$  и  $4,4 \pm 0,39$ ;  $7,4 \pm 0,26$  и  $5,2 \pm 0,53 \log_2$ , соответственно. Обработка птицы препаратом способствовала повышению антителопродукции, интенсивность которой определялась временем введения. Наиболее высокий уровень АГ фиксировали через 24 ( $P < 0,01$ ) и 120 ( $P < 0,001$ ) час, в меньшей степени - в день вакцинации ( $P < 0,05$ ) или через 48 ( $P < 0,05$ ), тенденция к этому - через 72 час. Через 53 дн титры антител в указанных группах достоверно превышали показатели 2-й контрольной группы цыплят, привитых также однократно не отличались от 1-й контрольной, где птицу ревакцинировали ( $P > 0,05$ ).

Полученные данные подтверждены в следующей серии опытов, где контрольную группу цыплят вакцинировали по общепринятой схеме (двукратно), а 1-, 2- и 3-ю опытные - однократно на фоне иммуностимуляции изамбеином через 24, 48 и 72 час после прививки. АГ в опытных группах у 51-дн цыплят были значительно выше, чем в контрольной -  $6,6 \pm 0,45$ ;  $7,8 \pm 0,33$ ;  $7,4 \pm 0,32$  против  $5,7 \pm 0,52 \log_2$ , соответственно (в 1-й опытной - тенденция к повышению, во 2-й и 3-й -  $P < 0,01$ ). Антитела у птицы 2- и 3-й опытных групп сохранялись на достаточно высоком уровне в течение первых 49 сут после вакцинации и только к концу второго месяца снижались до  $4,0 \pm 0,19 - 4,2 \pm 0,25 \log_2$ , что составляло 51 - 57% от максимального показателя ( $P < 0,05 - 0,01$ ). Хотя они и уступали по данному показателю птице 1-й опытной группы, но превышали уровень протективной защиты ( $3,0 - 4,0 \log_2$ ).

Аналогичная динамика отмечалась в опытах по определению стимулирующего действия изамбена при различных способах применения (методом выпойки - групповым или индивидуальным способом, методом спрея). Однако предпочтение следует отдать групповому и методу спрея. Первый из них достоверно, по сравнению с контролем обеспечивал более ранний прирост АГ после вакцинации на 24-й дн ( $5,7 \pm 0,34$  против  $4,4 \pm 0,45$ ;  $P < 0,05$ ), второй - более высокий их уровень в поздние сроки - через 55 дн, достоверно превышающий показатели 2-й ( $P < 0,001$ ) или имеющий тенденцию к этому - с 1-й (одно- или двукратно вакцинированных цыплят; опытные группы привиты однократно) -  $6,3 \pm 0,53$  против  $3,5 \pm 0,37$  и  $5,8 \pm 0,26$  в контрольных, соответственно.

Полученные данные указывают на возможность применения изамбена для стимуляции антителопродукции при вакцинации цыплят против НБ.

### 2.2.3. Результаты испытаний сочетанного применения тимогена с вакциной против ньюкаелской болезни из штамма «Ла-Сота»

#### 2.2.3.1: Определение оптимальных параметров применения тимогена (доз, сроков, методов)

В соответствии с официальными документами (наставлением, методическими рекомендациями), данными литературы тимоген с лечебно-профилактической целью в животноводстве применяют в дозе от 1 до 10, в птицеводстве (в зависимости от способа) - от 0,08-0,15 до 2 и более мкг/кг живой массы. Вместе с тем, имеются отдельные сообщения о способности препарата активизировать фагоцитарное звено иммунитета *in vitro* и *in vivo* в более низких концентрациях - 0,01-1 мкг/мл (Е.П. Киселева и соавт., 1999), 0,01-10 мкМ (С.В. Дамбаева, 2000), 0,1-10 мкМ/л (К.Ф. Ким и соавт., 2002). Эффект стимулирующего действия определяется также временем применения (В.В. Бурдейный и соавт, 2000).

В опытах по определению иммуномодулирующего и адьювантного действия тимогена в сочетании с вакциной против НБ испытаны: дозы - 10,0; 1,0; 0,1; 0,01 и 0,001 мкг (разведения официального 0,01% раствора препарата  $10^{-1}$ - $10^{-5}$ ) на одну голову птицы массой 150 - 500 г; методы введения - внутримышечный, энтеральный (выпойка с водой), крупнокапельный (метод спрея); сроки применения - за день, в день, через 24,48,72,96 и 120 час после вакцинации.

В первой серии опытов на 5 группах (контрольной и 4 опытных) определяли возможность применения тимогена для повышения антителогенеза при ревакцинации 52-дн цыплят против НБ. Птице 1- и 3-й опытных групп его инъецировали внутримышечно в дозе 10 мкг/гол в день или через 48 час после вакцинации, 2- и 4-й - по аналогичной схеме, но в десятикратно уменьшенной дозе - 1,0 мкг/гол.

Титры АГ через 22,42 и 59 дн после прививки, составляли, соответственно, по группам: контрольной -  $5,0 \pm 0,46$ ;  $4,1 \pm 0,50$ ;  $3,1 \pm 0,46$ ; 1-й опытной -  $8,3 \pm 0,72$ ;  $5,3 \pm 0,66$ ;  $4,9 \pm 0,58$ ; 2-й -  $6,7 \pm 0,43$ ;  $4,7 \pm 0,53$ ;  $4,6 \pm 0,40$ ; 3-й -  $6,8 \pm 0,65$ ;  $5,9 \pm 0,43$ ;  $4,1 \pm 0,48$ ; 4-й -  $7,8 \pm 0,80$ ;  $7,0 \pm 0,56$ ;  $5,1 \pm 0,53 \log_2$ .

Независимо от концентрации тимогена титры АГ были достоверно выше ( $P < 0,05-0,001$ ) в опытных группах (особенно 1-й 4-й) по сравнению с контролем.

Во второй серии опытов на 8 группах цыплят 24-дн возраста (2 контрольных и 6 опытных), определяли оптимальные сроки применения препарата в дозе 1 мкг/гол. Всю птицу иммунизировали методом спрея (1-ю контрольную - ревакцинировали в 55-дн возрасте). Цыплятам опытных групп внутримышечно инъецировали 1 см<sup>3</sup> раствора тимогена за день, в день, через 24,48,72 и 120 час после вакцинации.

Титры АГ у цыплят в 48- и 78-дн возрасте, составляли в 1-й контрольной группе -  $5,4 \pm 0,59$  и  $6,8 \pm 0,35$ ; 2-й -  $4,6 \pm 0,51$  и  $3,0 \pm 0,40$ ; 1-й опытной -  $5,2 \pm 0,55$ , далее не исследовали; 2-й -  $6,5 \pm 0,37$  и  $5,3 \pm 0,33$ ; 3-й -  $5,5 \pm 0,38$  и  $5,2 \pm 0,40$ ; 4-й -  $6,5 \pm 0,42$  и  $4,5 \pm 0,34$ ; 5-й -  $7,0 \pm 0,25$  и  $5,4 \pm 0,32$ ; 6-й -  $5,5 \pm 0,44$  и  $4,9 \pm 0,43 \log_2$ . Максимальный эффект получили от применения тимогена в день или спустя 48-72 час после вакцинации.

В третьей серии опытов на 7 группах цыплят определяли иммуностимулирующее действие тимогена в указанной дозе при выпойке вакцины с водой, а птице 1-6-й опытных групп - раствор тимогена инъецировали в день, спустя 24, 48, 72, 96 и 120 час после прививки, соответственно.

Титры АГ у цыплят через 14 и 30 дн после вакцинации составляли в контрольной группе -  $3,3 \pm 0,45$  и  $2,9 \pm 0,45$ ; 1-й опытной -  $3,9 \pm 0,33$  и  $3,0 \pm 0,53$ ; 2-й -  $4,6 \pm 0,29$  и  $4,0 \pm 0,25$ ; 3-й -  $4,7 \pm 0,41$  и  $3,6 \pm 0,34$ ; 4-й -  $5,1 \pm 0,26$  и  $4,3 \pm 0,33$ ; 5-й -  $4,7 \pm 0,25$  и  $4,1 \pm 0,38$ ; 6-й -  $4,3 \pm 0,34$  и  $3,9 \pm 0,39 \log_2$ . Наиболее высокий уровень АГ фиксировали у цыплят, обработанных тимогеном через 72 и 96 час после вакцинации ( $P < 0,01$ ), в меньшей степени - через 48 и 24 ( $P < 0,05$ ).

В следующей серии опытов на 10 группах цыплят (2 контрольных и 8 опытных) определяли антителостимулирующее действие различных доз тимогена - 0,01; 0,1 и 1 мкг/гол при энтеральном (выпойке с водой) и крупнокапельном методе вакцинации. Всю птицу иммунизировали: 1-й контрольной, 1-, 2-, 3-, 7- и 8-й опытных групп - энтерально; 2-й контрольной, 4-, 5-, и 6-й опытных - методом спрея. Цыплят опытных групп через 72 час обработали тимогеном в дозах: 1-, 4- и 7-й - 1,0; 2-, 5- и 8-й - 0,1; 3- и 6-й - 0,01 мкг/гол. Птице 7- и 8-й тимоген дополнительно выпаивали в день вакцинации.

Титры АГ, учтенные через 14 и 30 дн, составляли в 1-й контрольной группе -  $3,3 \pm 0,45$  и  $2,9 \pm 0,45$ ; 2-й -  $3,6 \pm 0,24$  и  $3,5 \pm 0,29$ ; 1-й опытной -  $3,6 \pm 0,45$  и  $2,7 \pm 0,47$ ; 2-й -  $4,1 \pm 0,32$  и  $4,1 \pm 0,31$ ; 3-й -  $2,9 \pm 0,42$  и  $2,9 \pm 0,53$ ; 4-й -  $3,9 \pm 0,43$  и  $3,1 \pm 0,49$ ; 5-й -  $4,7 \pm 0,31$  и  $3,7 \pm 0,54$ ; 6-й -  $4,3 \pm 0,36$  и  $4,1 \pm 0,33$ ; 7-й -  $3,8 \pm 0,25$  и  $4,7 \pm 0,31$ ; 8-й -  $4,0 \pm 0,32$  и  $2,0 \pm 0,48 \log_2$ . Максимальный эффект фиксировали при использовании дозы 0,1 мкг/гол, а также 0,01 - при методе спрея. Схема, основанная на двукратном применении препарата в дозе 1,0 мкг, обеспечивала достаточно высокий уровень антителопродукции. Однако, в силу своей низкой технологичности не может быть рекомендована для практического использования.

В следующей серии опытов на 12 группах цыплят (2 контрольных и 10 опытных) в сравнительном плане определяли эффективность отдельного и сочетанного применения тимогена с вакциной при энтеральном и крупнокапельном методах. Тимоген использовали в дозах 0,01, 0,1 и 1,0 мкг/гол при наиболее технологичном по времени приеме обработки птицы - в день иммунизации.

Всю птицу вакцинировали: 1-й контрольной группы - энтерально, 2-й - методом спрея; 1-, 2- и 3-й опытных - композиционной смесью «вакцина+тимоген» методом спрея при использовании иммуностимулятора в дозе 1,0; 0,1 и 0,01 мкг/гол, соответственно; 4-, 5- и 6-й - по аналогичной схеме, но вакцину и раствор тимогена отдельно, а цыплят 7-, 8- и 9-й как 4-, 5- и 6-й, но энтерально. Птице 10-й опытной группы выпаивали композиционную смесь (вакцина+тимоген 1,0 мкг/гол).

Титры антител, учтенные в РТГА на 14- и 30-й дн, составляли в 1-й контрольной -  $3,3 \pm 0,45$  и  $2,9 \pm 0,45$ ; 2-й -  $3,6 \pm 0,24$  и  $3,5 \pm 0,29$ ; 1-й опытной -  $4,8 \pm 0,41$  и  $4,3 \pm 0,38$ ; 2-й -  $5,2 \pm 0,22$  и  $4,8 \pm 0,17$ ; 3-й -  $5,1 \pm 0,30$  и  $4,7 \pm 0,18$ ; 4-й -  $5,1 \pm 0,22$  и  $4,7 \pm 0,46$ ; 5-й -  $4,4 \pm 0,43$  и  $3,1 \pm 0,45$ ; 6-й -  $4,0 \pm 0,45$  и  $4,0 \pm 0,37$ ; 7-й -  $4,2 \pm 0,44$  и  $3,7 \pm 0,46$ ; 8-й -  $2,3 \pm 0,49$  и  $2,0 \pm 0,38$ ; 9-й -  $3,5 \pm 0,29$  и  $2,1 \pm 0,45$ ; 10-й -  $3,9 \pm 0,33$  и  $3,0 \pm 0,53 \log_2$ . Максимальный эффект адьювантного действия тимогена получен в дозе 0,01 мкг/гол при крупнокапельном методе вакцинации. Следует отметить установленную закономерность в действии системы «доза-эффект»: уменьшение дозы тимогена вело к усилению антителопродукции при его включении в состав «экспериментальной» вакцины (обратная зависимость) и, наоборот, при отдельном применении компонентов - с уменьшением дозы снижался антителогепез (прямая зависимость) Подобная закономерность (как и

в последнем варианте) отмечалась и при энтеральном способе раздельной иммунизации, однако синтез антител носил менее интенсивный характер.

В заключительной серии опытов при использовании дозировок от 1,0 до 0,001 мкг/гол при обработке птицы методом спрея установлено, что титры антител в опытных группах были несколько выше, чем у аналогов в контроле. Доза 1,0 мкг/гол заметного влияния на антителопродукцию не оказывала. Наиболее существенным явилось то, что сочетанное применение «экспериментальной» вакцины с тимогеном в дозе 0,01-0,001 мкг/гол обеспечивало защиту не менее 80% привитой птицы в течение 42 дн (срок наблюдения). Необходимость в ревакцинации контрольной группы цыплят возникала уже через 28 дн.

### **2.2.3.2. Влияние сочетанного применения тимогена и вакцины против Ньюкаслской болезни на показатели естественной резистентности и специфической устойчивости у цыплят**

В первой серии опытов в сравнительном плане на различных группах цыплят - контрольной (интактной), опытных - обработанных методом спрея вакциной (1-я), тимогеном в дозе 0,01 и 0,001 мкг/гол (2- и 3-я), вакциной и тимогеном в вышеуказанных дозах (4- и 5-я) определяли морфологический состав крови, фагоцитарную активность псевдоэозинофилов, НСТ-тест, уровень В-, Т-лимфоцитов и их субпопуляций, титры специфических ЛГ. Кровь для исследования у птицы отбирали в 17- (до обработки), 24-, 31-, 38- и 45-дн возрасте.

Во второй серии опытов на 4 группах цыплят (контрольной и 3 опытных) в течение 9 дн изучали динамику показателей естественной и специфической резистентности при использовании тимогена на фоне вакцинации. С этой целью всю птицу прививали, но цыплят опытных групп вакциной в сочетании с тимогеном из расчета 1,0 (1-я), 0,1 (2-я) и 0,01 (3-я) мкг на одну иммунизирующую дозу. Кровь для исследования отбирали ежедневно.

#### **2.2.3.2.1. Динамика гематологических показателей**

Постовариальная гематология у интактных цыплят 17-45-дн возраста определялась возрастными особенностями гемопоэза : у 24-31-дн - эритроцитопения, к концу опыта - эритроцитоз; лейкоцитопения на всем протяжении эксперимента, более выраженная на начальном этапе; увеличение относительного числа псевдоэозинофилов с последующим уменьшением их количества в последние две недели опыта; незначительная эозинофилия в первые 7 дн, сменяющаяся эозинофилопенией; отсутствие базофилов у 14- и 21-дн; моноцитопения в первые 14 дн с последующим восстановлением до исходносодержащего уровня; лимфоцитопения в первые 7 дн, к концу опыта - лимфоцитоз.

Близкая по значениям картина гематологических показателей описана в работах других авторов [М.П. Бабина, 2003; Ж.Б. Коренева, 2001]. Уменьшение числа клеток красной и белой крови по их данным связано с наличием второго возрастного пика иммунодефицита

Вакцинация оказывала супрессирующее действие на эти показатели в первую и последнюю неделю эксперимента (у 24- и 45-дн цыплят), вызывая псевдоэозинофилопению, эозинофилию, уменьшая число моноцитов, но с восстановлением их числа к концу опыта до фоновых показателей при лимфоцитозе у 24-38-

дн цыплят. При этом следует отметить, что абсолютное число клеток крови на всех этапах исследования было значительно ниже фоновых.

Тимоген во все сроки исследования оказывал выраженное иммуномодулирующее действие на гемо- и лейкопоз, достигающее максимума на 14- 21-й дн после обработки цыплят ( $P < 0,01-0,001$ ). Действие препарата в дозе 0,001 мг/гол было более интенсивным и продолжительным. В отличие от вакцины оно носило иммуномодулирующий характер в период наиболее выраженной иммунодефицита у цыплят 24- и 45-дн возраста.

При комплексном применении с вакциной тимоген модулировал ее неблагоприятное воздействие на кровь.

#### 2.2.3.2.2. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов

У 17-дн цыплят значения фагоцитарной активности (ФА) составили  $30,6 \pm 0,96\%$ ; фагоцитарный индекс (ФИ)  $1,58 \pm 0,10$ ; фагоцитарное число (ФЧ) -  $0,48 \pm 0,04$  и фагоцитарная емкость (ФЕ) -  $4,62 \pm 0,36$ .

В контрольной группе значения ФА соответствовали фоновым (за исключением в 24-дн возрасте, когда отмечали снижение в 1,2 раза, ( $P < 0,05$ )). Как вакцинация, так и обработка тимогеном вызывали повышение ФА, выразившееся в сохранении значений на уровне фоновых у 24-дн птисы и их увеличении до  $34,4 \pm 1,03 - 45,6 \pm 1,36\%$  у 31-38-дн (достоверные различия с фоном и контролем). Влияние вакцинации было более продолжительным - в 45-дн возрасте показатели 1-й опытной группы превышали аналогичные во 2- и 3-й в 1,3 раза ( $P < 0,01$ ). Динамика в 4- и 5-й опытных группах носила аналогичный характер, при этом отмечалась очевидная суммация эффектов вакцинации и обработки тимогеном. На протяжении всего исследования показатели 4- и 5-й опытных групп превышали значения остальных в 1,1-1,7 раза ( $P < 0,05$ ).

Значения ФИ у 24-31-дн контрольных цыплят были выше исходных - в 1,6-1,9 раза ( $P < 0,001$ ), а у 38-45- они несколько снижались, но продолжали достоверно превышать фоновые. Вакцинация или обработка тимогеном слабо влияли на ФИ - динамика указанного показателя в 1-, 2- и 3-й опытных группах была близка к вышеописанной. В 4- и 5-й опытных группах ФИ на протяжении всего исследования также превышал исходный уровень ( $P < 0,05$ ), достигая максимума у 31-дн цыплят. Вместе с тем, для них было характерно более медленное снижение показателя в дальнейшем. В результате, на 21-28-е сут после обработки ФИ превышал значения контрольной, 1-й опытной и групп невакцинированных цыплят, обработанных аналогичными дозами тимогена.

Фагоцитарное число у контрольной птисы на протяжении всего исследования достоверно превышало фоновый показатель в 1,3-2,0 раза ( $P < 0,001$ ), достигая максимума в 31-дн возрасте. Вакцинация «сдвигала» этот максимум на 38-дн возраст, а обработка тимогеном заметного влияния не оказывала. Сочетанное применение вакцины и иммуностимулятора способствовало существенному увеличению ФЧ у 31-45-дн цыплят. Указанный показатель в 4- и 5-й опытных группах был выше чем во всех остальных в 1,1-3,2 раза.

Фагоцитарная емкость в контрольной группе повышалась по сравнению с фоном у цыплят 24-31-дн возраста (в 1,5 раза,  $P < 0,05$ ), после чего возвращалась к исходному уровню. Вакцинация вызывала снижение указанного показателя у

2-дн цыплят ( $P < 0,01$ ). Возврат к контрольным значениям отмечался лишь, Начиная с 31-дн возраста. Обработка тимогеном, напротив, "Вызывала Существенный рост ФЕ, особенно заметный у 31-38-дн цыплят, когда показатели 2- и 3-й опытных групп превышали фоновые в 2,0-2,9 раза ( $P < 0,05$ ), контрольное и вакцинированной птицы - в 1,4-2,9 (тенденция или достоверные различия)!" Обработка тимогеном вакцинированной птицы через 14-28-е сут сопровождалась резким ростом данного показателя у 31-45 дн цыплят- в 2,3-2,4 раза ( $P < 0,01$ ), особенно выраженным на фоне применения малых доз тимогена (0,01 мг/гол).

Результаты изучения характера действия тимогена в дозах 0,01-1,0 мкг/гол на функциональную активность псевдоэозинофилов в первые 9 дн после вакцинации цыплят (вторая серия опытов) существенно не отличались от данных, описанных выше. Как и в предыдущем случае, четко прослеживалось дозозависимое действие тимогена в системе «доза-эффект» - уменьшение дозы препарата вело к усилению потенцирующего действия препарата.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о стимулирующем действии тимогена на фагоцитоз, степень выраженности которого во многом зависит от его дозы.

#### 2.2.3.2.3. НСТ-тест

У 17-дн цыплят значения спонтанного **НСТ-теста (НСТ<sub>сп</sub>)** составили **10,1±0,46%**, стимулированного (**НСТ<sub>ст</sub>**) - **23,1±0,42%**, и ц е н т а мобилизации (КМ) - **2,29±0,11**. В 24-45-дн возрасте во всех группах отмечали достоверное повышение показателей **НСТ<sub>сп</sub>-теста** - в 1,3-2,1 раза.

На 7-й дн исследования наиболее высокими они были в контрольной, 2- и 3-й опытных группах — **20,00±0,58**; **19,75±0,75** и **20,80±0,75%**, соответственно, самыми низкими - у вакцинированных - **13,00±0,71%** ( $P < 0,01$ ). Во всех исследуемых группах одновременно наблюдали повышение значений **НСТ<sub>ст</sub>-теста** ( $F < 0,05$ ), но выражено оно было в меньшей степени (за исключением контрольной группы), чем у предыдущего показателя - в 1,1-1,3 раза.

В результате в 24-дн возрасте КМ в контрольной группе и у цыплят, обработанных тимогеном, фиксировали на более низком уровне (1,29-1,34), а среди вакцинированных, в том числе и обработанных тимогеном, он практически не изменился (1,91-2,23).

К 45-дн возрасту показатели **НСТ<sub>сп</sub>-теста** в контрольной группе снизились в 1,1 раза ( $P < 0,05$ ), а у цыплят, обработанных тимогеном - в 1,3 раза ( $P < 0,001$ ), хотя и не достигли фонового уровня ( $P < 0,05$ ). Достоверная динамика в остальных группах отсутствовала.

Параллельно происходило достоверное снижение значений **НСТ<sub>ст</sub>-теста** во всех группах - в 1,3-1,7 раза ( $P < 0,001$ ). У 45-дн цыплят уровень данного показателя был наиболее низким у вакцинированной птицы - **16,8±0,58%**, более высоким у контрольной, а также вакцинированной и обработанной тимогеном - **20,4±0,51**; **21,00±0,55** и **21,20±0,37%**, соответственно ( $P < 0,001$ ).

У контрольных и у цыплят, обработанных тимогеном, КМ в 24-45 дн возрасте был достоверно ниже фоновых значений - в 1,7-1,8 раза - и за время исследования существенно не изменился ( $P > 0,05$ ). У вакцинированной птицы, в том числе и

обработанной тимогеном, значения КМ начинали уменьшаться на 14-е сут после вакцинации, достигая позднее уровня контрольной группы ( $P>0,05$ )

Во второй серии опытов в первые 7 дн достоверной динамики значений НСТсп-теста в контрольной группе не выявлено. При применении тимогена они повышались как по сравнению с фоном, так и с контролем ( $P<0,05$ )

Динамика результатов НСТсп-теста носила двуфазный характер. Во всех исследованных группах наблюдали его снижение на протяжении первых 2 сут с последующим ростом. Во 2- и 3-й опытных группах это повышение начиналось на сутки раньше и достигало большей выраженности в дальнейшем (тенденция или достоверные различия с контролем)

Динамика значений КМ во всех группах также носила двуфазный характер: значительный рост на 4-6-е сут с последующим возвращением (исключая контрольную группу) к фоновому уровню к концу исследования.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о протективном влиянии тимогена в дозах 0,01 и 0,001 мкг/гол на неспецифические факторы защиты. Препарат способствует активизации микробицидой кислородзависимой системы псевдоэозинофилов цыплят и повышению ее резервных возможностей.

#### **2.2.3.2.4. Динамика Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций**

Фоновые относительные и абсолютные значения лимфоцитов составили  $63,1\pm 0,86\%$  и  $29,2\pm 1,49$  Г/л; Т-лимфоцитов –  $48,0\pm 0,46$  и  $14,0\pm 0,74$ ; Т-хелперов (Тх) –  $25,9\pm 0,55$  и  $7,5\pm 0,36$ ; Т-супрессоров (Тс) –  $22,2\pm 0,66$  и  $6,5\pm 0,45$ ; В-лимфоцитов –  $11,7\pm 0,37$  и  $3,4\pm 0,22$ ; нулевых клеток –  $40,2\pm 0,61$  и  $11,2\pm 0,60$ , иммунорегуляторного комплекса –  $1,2\pm 0,08$ .

У 24-дн цыплят контрольной группы фиксировали снижение относительного содержания лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Тс, увеличение – Тх, нулевых клеток ( $P<0,05$ ). В 31-45-дн возрасте отмечали динамику большинства показателей, направленную к исходному уровню, а также дальнейшее снижение числа Т-лимфоцитов

Как вакцинация, так и обработка тимогеном вызывали однонаправленные изменения относительных показателей иммунограммы: увеличение значений Тх и В-лимфоцитов, снижение – нулевых клеток ( $P<0,05$ ). При этом для 24-31-дн вакцинированных цыплят был характерен более высокий уровень Тс. В 4- и 5-й опытных группах отмечали суммацию этих эффектов: цыплята имели самые низкие значения нулевых клеток, самые высокие – Т-лимфоцитов и Тх (на протяжении всего наблюдения), В-лимфоцитов (в 45-дн возрасте), по сравнению с остальной птицей ( $P<0,05$ ).

Динамика относительных иммунологических показателей во второй серии опытов была аналогичной. Во всех группах наблюдали достоверное повышение содержания нулевых клеток на 1-3 сут после вакцинации, лимфоцитов и Тх – на 8-9-е, повышение уровня В-лимфоцитов и снижение – нулевых клеток – на 5-9-е. Динамика Тс не носила закономерного характера. В контрольной группе наблюдали уменьшение значений Тх на 1-е сут после вакцинации и В-лимфоцитов – на 3-е. Подобного снижения Тх во 2- и 3-й опытных, а В-лимфоцитов – во всех опытных отмечено не было. Опытные группы отличались также повышенным содержанием Т-лимфоцитов в 6-9-дн возрасте ( $P<0,05$ )

При анализе абсолютных значений показателей установлено, что изменение клеточной защиты у 17-45-дн птицы детерминирована возрастной динамикой. У 24-31-дн интактных цыплят наблюдали достоверное повышение содержания лимфоцитов с последующим снижением до 86-88% первоначального уровня. На всем протяжении исследования регистрировали выраженный дефицит всех компонентов Т-клеточной системы - Т-лимфоцитов, Тх, Тс. Число В-лимфоцитов в первую неделю было снижено, в последующем - увеличивалось по восходящей, превышая фоновые значения к концу опыта. Дефицит «нулевых» клеток регистрировался в первую половину экспериментов, во второй - показатели были выше исходных.

Вакцинированные цыплята отличались от контрольной более высокими абсолютными значениями лимфоцитов и Тс в 31-дн возрасте, Т-лимфоцитов и Тх - в 31-38-дн, В-лимфоцитов - в 24-38-дн ( $P < 0,05$ ).

Содержание «нулевых» клеток было ниже фонового показателя на всем протяжении опыта ( $P < 0,05$ ).

Тимоген нивелировал проявление возрастного иммунодефицита у птицы 24-45-дн возраста.

Следует отметить дозозависимую характеристику действия тимогена в системе «доза-время»: при использовании более высокой дозы - 0,01 мкг/гол - эффект действия проявлялся в течение первых 3 нед при максимуме через 14-21 дн после обработки, в конце опыта - возврат к фоновым показателям или даже ниже (Тс); при использовании более низкой - 0,001 мкг/гол - эффект действия выражен в течение 14-28 дн после введения препарата, при максимуме, в большинстве случаев, через 14 и 28 дн. Это проявлялось в наличии более высоких, чем в контрольной и 1-й опытной группах, абсолютных значений лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Тх, Тс и В-лимфоцитов в 24-дн (во 2- и 3-й опытных группах) и 45-дн возрасте (за исключением лимфоцитов, только в 3-й опытной), нулевых клеток - на протяжении всего опыта (тенденция или достоверные различия)

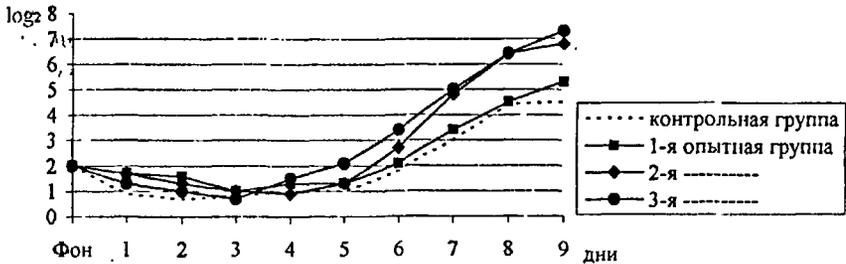
Сочетание вакцины с тимогеном приводило к суммации эффектов с максимумом действия через 14-21 дн после обработки цыплят.

Действие тимогена, как и в предыдущем случае, в системе «доза-эффект» носило дозозависимый характер - более высокая степень изменений в клеточной системе защиты при уменьшении его дозы.

#### **2.2.3.2.5. Влияние тимогена на антителообразование**

Данные о характере стимулирующего действия тимогена в дозах 1,0; 0,1 и 0,01 мкг/гол (1-, 2- и 3-я опытные группы) на раннем этапе антителогенеза (в первые 9 дн) после вакцинации цыплят представлены в рис. 1.

При использовании вакцины антитела определялись в протективных титрах, начиная с 8-го дн, превышая фоновые показатели в 2,9 ( $P < 0,001$ ), но уменьшаясь на следующий день в 1,3 раза ( $P < 0,05$ ). При использовании тимогена в дозе 0,01 мкг/гол уровень АГ превышал фоновый на 7-, 8- и 9-й дн в 2,3 ( $P < 0,05$ ), 3,8 и 3,6 ( $P < 0,001$ ), а по сравнению с контролем в 1,6 (тенденция); 1,3 и 1,6 ( $P < 0,05$ ) раза, соответственно.



**Рис. 1. Действие тимогена на раннем этапе антителообразования при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни**

Аналогичная динамика, но несколько меньшей степени выраженности, наблюдалась при использовании более высокой дозы препарата - 0,1 мкг/гол. Титры антител у птицы 1-й опытной группы (доза ИС-1,0 мкг/гол) хотя и были несколько выше контрольной, однако различия не достоверны ( $P > 0,05$ ). Примечательно то, что стимулирующее действие препарата на антителогенез увеличивалось с уменьшением дозы.

Подобная закономерность подтверждается результатами опытов с низкими дозами тимогена - 0,01-0,001 мкг/гол.

Установлено, что действие препарата на антителогенез в указанных дозах носило сходный характер. Специфические АГ в протективных титрах в обоих случаях регистрировали на 14-й дн, в то время как в группе вакцинированных цыплят - только на 21-й. Уровень антител на 14-, 21- и 28-й дн исследования в контрольной группе превышал фоновые в 2,7 (тенденция); 3,6 ( $P < 0,01$ ) и 4,0 раза ( $P < 0,001$ ) в 1-й опытной - в 4,9 ( $P < 0,01$ ); 6,9 и 4,5 ( $P < 0,001$ ); во 2-й - в 6,0; 4,9 и 6,0 раз (во всех случаях  $P < 0,001$ ), соответственно. Следует отметить, что наиболее достоверные различия в антителогенезе по сравнению с группой вакцинированной птицы (контрольной) отмечали у цыплят 2-й опытной (0,001 мкг/гол), в меньшей степени - 1-й (0,01 мкг/гол). Так, на 14-, 21- и 28-й дн после иммунизации уровень антител во 2-й группе превышал показатели контрольной в 2,3; 1,4 ( $P < 0,05$ ) и 1,5 ( $P < 0,001$ ), в 1-й - в 1,8 (тенденция); 1,9 ( $P < 0,001$ ) и 1,1 раза ( $P > 0,05$ ), соответственно.

Сочетанное применение вакцины с тимогеном в дозе 0,001 мкг/гол уже через 14 дн вело к созданию у цыплят 80% уровня степени защиты, в то время как у остальных на неделю позже.

Полученные результаты подтверждены опытами, выполненными в производственных условиях на 72 тыс цыплят (5 групп, одна контрольная и 4 опытных по 14400 голов в каждой), содержащихся в одинаковых условиях.

Предварительно, у 50 из них в 17-дн возрасте определили фоновые показатели АГ, титр которых составил  $2,4 \pm 0,25 \log_2$ . Затем сформировали 5 групп - контрольную и 4 опытные (по 14400 голов в каждой).

Цыплят контрольной группы иммунизировали в 17-дн возрасте и ревакцинировали в 50-дн, а опытных - обработали по следующим схемам: 1- и 3-й - двукратно, первый раз - смесью вакцины и тимогена, второй - только вакциной; 2-й - однократно, смесью препаратов только в 17-дн возрасте; 4-й - первый раз

- только вакциной, второй - смесью препаратов. Тимоген применяли из расчета 0,01 мкг/гол. Титры АГ определяли через 14 дн после каждой вакцинации. Данные представлены в рис. 2.

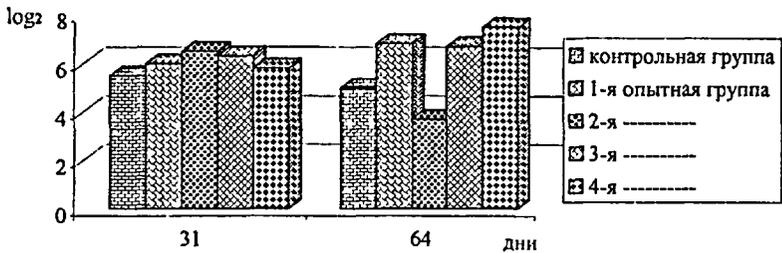


Рис. 2. Действие тимогена на антителогенез у цыплят при вакцинации против ньюкаслской болезни

Результаты производственного опыта совпали с данными экспериментальных исследований о выраженном стимулирующем действии тимогена в низких дозировках на продукцию антител. Следует лишь отметить более высокую его эффективность при ревакцинации птицы. Приросты живой массы за период опыта (с 17-до 70-дн возраста цыплят) в опытных группах на 1,05% были выше чем в контрольных, что свидетельствует об определенном его росто-стимулирующем действии.

## ВЫВОДЫ

1. Вакцина против ньюкаелской болезни из штамма «Ла-Сота» при иммунизации птицы в 25-, 55- и 120-дневном возрасте (в последнем случае - в составе инактивированного биопрепарата) обеспечивает выработку антител в титрах  $5,5 \pm 0,28$ ;  $5,9 \pm 0,23$  и  $9,7 \pm 0,16$ , а в 17-, 55- и 90-110-дневном -  $4,6 \pm 0,28$ ;  $5,5 \pm 0,30$  и  $8,8 \pm 0,17 \log_2$ , соответственно.

2. Возможно использование модифицированного метода контроля для оценки поствакцинального иммунитета и эпизоотической ситуации, основанного на определении антигемагглютининов в желтке куриных яиц. Достоверных различий между ним и классическим - исследованием сывороток - не установлено.

3. Обработка вакцинированной птицы изамбенон в дозе 10-15 мг/кг живой массы увеличивает на 0,7-2,2  $\log_2$  выработку поствакцинальных антител и обеспечивает более длительную их циркуляцию в протективных титрах. Максимальное анти-телостимулирующее действие препарат оказывает при введении через 24 или 120, менее выраженное - через 48 или 72 часа после, минимальное - в день вакцинации.

4. Наиболее выраженное аитителостимулирующее действие тимоген оказывает при применении в дозе 0,01-0,001 мкг в день или через 72 часа после вакцинации цыплят. При этом он повышает на 0,5-2,0  $\log_2$  выработку специфических антигемагглютининов, на 2-3 дня ускоряет достижение протективного уровня, удлиняет срок их циркуляции в крови.

5. При вакцинации цыплят методом спрея антителостимулирующее действие тимогена в системе «доза-эффект» в пределах 1,0-0,01/0,001 мг носит дозозависимый характер. Оно подчиняется следующим закономерностям: чем ниже доза, тем выше эффект (при использовании препарата в составе композиционной смеси «вакцина + тимоген») или чем ниже доза, тем ниже эффект (при раздельном применении компонентов).

6. При использовании наиболее технологичного приема сочетанной иммунизации - обработки птицы тимогеном, включенным в состав вакцины - крупнокапельный метод вакцинации (метод спрея) имеет преимущества перед энтеральным (выпойкой с водой) При нем необходима меньшая концентрация препарата (0,01 мкг на одну иммунизирующую дозу вакцины против 1,0 мкг при энтеральном методе), которая обеспечивает более высокий уровень антител - на 0,9  $\log_2$  и выше.

7. Тимоген в дозе 0,01-0,001 мкг оказывает выраженное иммуномодулирующее действие с максимумом проявления через 14-21 день. Он стимулирует эритро- и лейкопоэз, увеличивая количество эритроцитов и лейкоцитов, повышает фагоцитарную и кислородзависимую бактерицидную активность псевдоэозинофилов, уменьшает выраженность Т-клеточного иммунодефицита, повышает содержание В-лимфоцитов.

8. Сочетанное применение тимогена в низких дозах (0,01-0,001 мкг/гол) и живой вирусвакцины из штамма «Ла-Сота» методом спрея оптимизирует схему иммунизации против ньюкаслской болезни птиц Она позволяет осуществлять ранний вход с вакциной на фоне более высокого уровня трансвариальных антител, повысить напряженность иммунитета, уменьшить проявления возрастного иммунодефицита у 3-недельных цыплят и иммуносупрессивное действие вакцины.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для повышения эффективности специфической профилактики ньюкаелской болезни у цыплят рекомендуем применять крупнокапельный метод иммунизации (метод спрея) сухой живой вирусвакциной из штамма «Ла-Сота» совместно с иммуностимулятором тимогеном из расчета 0,01-0,001 мкг на одну иммунизирующую дозу вакцины Данный препарат оказывает иммуномодулирующее и адьювантное действие, способствуя созданию напряженного иммунитета («Временное наставление по применению вакцины «Ласотим» против ньюкаелской болезни птиц», утвержденное ректором ФГОУ ВПО Костромская ГСХА 30 01.2004 г.)

2. Результаты успешного применения «экспериментальной» вакцины, состоящей из коммерческой серии вакцины и тимогена из расчета 0,01-0,001 мкг на одну иммунизирующую дозу, позволяет рекомендовать создание подобного биопрепарата в промышленных условиях (заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение «Вирусвакцина против ньюкаелской болезни птиц» от 21.01.2004 г., регистрационный № 2004101398)

3. Результаты исследований по применению тимогена для повышения иммуногенности вакцины против ньюкаелской болезни рекомендуем использовать в учебном процессе в зооветеринарных вузах, а также в ветеринарной практике.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Бурдсйный В.В., Комиссаров В.Б., Гончаров М.И. Модифицированный метод контроля напряженности иммунитета при ньюкаслской болезни кур // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер.юбилейной межвуз.науч.-практ.конф. - Кострома, 2001.- Т.1.-С.73-74
2. Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В. Влияние иммуномодулятора ИС-11 на формирование поствакцинального иммунитета против ньюкаслской болезни кур // Труды. - КГСХА - 2002.- Вып.60.- С.25-32
3. Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика при ньюкаслской болезни кур. Сообщение 1. Производные изоникотиновой кислоты (препарат ИС-11) // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер.межвуз.науч.-практ.конф. - Кострома, 2002.- Т.1.- С. ПО
4. Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика при ньюкаслской болезни кур. Сообщение 2. Синтетический дипептид (препарат ИС-12) // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер.межвуз.науч.-практ.конф. - Кострома, 2002.- Т.1.- С. 111
5. Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика при ньюкаслской болезни кур. Сообщение 3. Сравнительная эффективность различных методов вакцинации кур против ньюкаслской болезни в сочетании с препаратом ИС-12 // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер.межвуз.науч.-практ.конф. - Кострома, 2003.- Т.1.- С. 85-86
6. Комиссаров В.Б., Бурдейный В.В. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика при ньюкаслской болезни кур. Сообщение 4. Динамика антителообразования и степень защиты при использовании различных доз препарата ИС-12 // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер.межвуз.науч.-практ.конф. - Кострома, 2003.- Т.1.- С. 84
7. Динамика основных иммунологических параметров у кур при вакцинации против ньюкаслской болезни в сочетании с препаратом ИС-12 / Бурдейный В.В., Комиссаров В.Б., М.С. Трескин, Бурдейная Р.В., Старов С.К. // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных: Матер. Междунар.науч.конф., посвящ. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». - Владимир, 2003.- С.318-323.
8. Сочетанное применение вакцины против ньюкаслской болезни птиц из штамма «Ла-Сота» с тимогеном. Сообщение 1. Влияние на гематологические показатели у цыплят / М.С. Трескин, В.Б. Комиссаров, В.В. Бурдейный, Р.В. Бурдейная // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер. 55-й междунар. науч.-практ. конф. - Кострома.- 2004.- Т.2.-С. 179-180
9. Сочетанное применение вакцины против ньюкаслской болезни птиц из штамма «Ла-Сота» с тимогеном. Сообщение 2. Влияние на фагоцитарное звено иммунитета у цыплят / В.Б. Комиссаров, В.В. Бурдейный, М.С. Трескин, Р.В. Бурдейная // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер. 55-й междунар. науч.-практ. конф. - Кострома.- 2004.-т.2.-С.110
10. Сочетанное применение вакцины против ньюкаслской болезни птиц из штамма «Ла-Сота» с тимогеном. Сообщение 3. Влияние на кислородозависимые системы псевдоэозинофилов / В.Б. Комиссаров, В.В. Бурдейный, А.В. Бурдейный, М.С. Трескин // Актуальные проблемы науки в АПК: Матер. 55-й междунар. науч.-практ. конф. - Кострома.- 2004.- Т.2.- С. 112-113

№ - 4686

Автореферат (на правах рукописи)

**Комиссаров В.Е.**

**Совершенствование специфической профилактики ньюкаслской болезни у цыплят на основе применения иммуностимуляторов. - Кострома: изд. КГСХА, 2004. - 20с.**

© Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Костромская государственная сельскохозяйственная академия"

156530, Костромская обл., Костромской район, пос. Караваново, уч. городок, КГСХА

Лицензия на издательскую деятельность ЛР №021792 Выдана 18.06.98

Компьютерный набор Подписано в печать 10 Март 2004,

Заказ №26, Формат 84x60/16, Тираж 100 экз., Усл. печ. л.

1,2, Бумага офсетная. Отпечатано 11 Март 2004

Отпечатано на цифровом дубликаторе КГСХА, а.441