Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

# УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ

ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

**ІМАД ХЕЛЬМІ А. ФАХУРІ**

УДК 619:615.37:578.831.1:636.5

**ІМУНОСТИМУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЧОРНУШКИ ПОСІВНОЇ (NIGELLA SATIVA), ЇЇ ПРЕПАРАТІВ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

**Харків - 2004 р.**

# Дисертацією є рукопис.

# Робота виконана в Харківській державній зооветеринарній академії

# Міністерства аграрної політики України.

# Науковий керівник

# Заслужений робітник сільського господарства України, доктор ветеринарних наук, професор

# Апатенко Володимир Максимович,

# Харківська державна зооветеринарна академія, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

# Офіційні опоненти:

# доктор ветеринарних наук, професор, академікУААН

# Красніков Геннадій Андрійович,

# Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, завідувач відділу патоморфології;

# кандидат ветеринарних наук, доцент

# Бузун Андрій Ігорович,

# Харківська державна зооветеринарна академія, завідувач кафедри епізоотології.

# Провідна установа: Сумський національний аграрний університет, кафедра вірусології, патологічної анатомії, ветеринарно-санітарної експертизи, Міністерство аграрної політики України, м. Суми.

Захист відбудеться “ 28 ” вересня 2004 р. о 12-00 годині на засіданні

спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

# З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків. вул. Пушкінська, 83.

# Автореферат розісланий “ 27 ” серпня 2004 р.

# Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

# доктор ветеринарних наук А.Ф. Бабкін

# 1

# Загальна характеристика роботи

# Актуальність теми. В умовах значного поширення імунодефіцитів для стимуляції імунітету часто застосовуються імуностимулятори різної природи.

У нашій роботі була поставлена задача: вивчити імуностимулюючі властивості чорнушки посівної і ефективність її застосування у ветеринарній практиці для підвищення імунної відповіді при вакцинопрофілактиці в птахівництві; вивчити особливості імуностимулюючого впливу на імунокомпетентну систему птахів із застосуванням серологічних методик і проведенням імуноморфологічних досліджень.

Проблема підвищення імунного захисту є досить актуальною, і вона має важливе загальнобіологічне значення [Р.В. Петров,1982]. Імунна недостатність часто зустрічається в птахівництві [Г.А. Красніков і ін., 1988 ].

Імунодефіцити спричиняють ускладнення епізоотичної ситуації і мають велике економічне значення [Ю.Н. Федоров і ін., 1996)]. При поширенні їх необхідно застосовувати імуностимулятори як з лікувальною, так і з профілактичною метою.

Імуностимулятори підсилюють функціональну здатність імунокомпетентної системи і можуть корегувати імунодепресивну дію. Крім того, імуностимуляцію застосовують при вакцинації для підсилення імунної відповіді і підвищення імунного захисту. З цією метою застосовують великий арсенал рослинних, тваринних і синтетичних імуностимуляторів у різних модифікаціях при різних способах застосування [В.А.Атамась і ін.,1986; А.Л.Омаев, 1984, 1985, 1986; П.А. Климович,1985; П.А.Красочко,1997]. Проте пошукові роботи в цьому напрямку продовжуються. Особлива увага приділяється пошукам високоефективних, доступних і недорогих препаратів. З урахуванням цих вимог рослинні препарати мають пріоритет. Саме в цьому напрямку виконувалася дана робота. Вивчалися імуностимулюючі властивості насіння широко розповсюдженої рослини – чорнушки посівної (Nigella sativa), що походить із Середземномор'я, а на Україні цю рослину називають чорнушкою посівною.

На Близькому Сході насіння чорнушки посівної широко застосовують у традиційній і народній медицині, описані її загальностимулюючі і тонізуючі якості.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалася відповідно до плану і є частиною науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології й імунології ХДЗВА, що виконується згідно програми УААН 0199 U 002213 "Розробка і використання біологічно активних речовин (БАР) і ветеринарно-санітарних прийомів, спрямованих на підвищення резистентності, продуктивності, профілактики і лікування тварин".

**Мета і задачі дослідження.** Вивчити імуностимулюючі властивості насіння чорнушки посівної та її препаратів з метою застосування для підвищення імунного статусу птахів і посилення імунної відповіді при вакцинації проти ньюкаслської хвороби.

**У роботі були поставлені слідуючи завдання:**

* Вивчити імуностимулюючі властивості чорнушки посівної на курчатах.
* У порівняльному аспекті вивчити імуностимулюючі властивості насіння чорнушки посівної, а також олії і водяно-спиртового екстракту, що одержували з

2

насіння.

* Вивчити імуностимулюючий вплив чорнушки посівної і препаратів її насіння на поствакцинальний імунітет при вакцинації проти ньюкаслської хвороби.
* Порівняти імунологічні зміни у курчат, вакцинованих без імуностимуляції і при вакцинації одночасно імуностимуляцією.
* Вивчити дію різних доз імуностимулюючих препаратів.
* Визначити оптимальні терміни застосування чорнушки посівної стосовно вакцинації проти ньюкаслської хвороби.
* Провести порівняльне вивчення різних способів введення препаратів чорнушки посівної на курчатах при дачі всередину, а також інтраназальному, інтратрахеальному, аерозольному і внутрішньом'язовому застосуванні.

*Об'єкт дослідження***.** Фітоімуностимуляція курчат для підвищення імунного статусу і посилення поствакцинальної імунної відповіді.

*Предмет дослідження*. Підсилення імунної відповіді при щепленні проти ньюкаслської хвороби курчат. Імуностимулююча дія чорнушки посівної (Nigella sativa) у вигляді насіння, олії та екстракту.

*Методи дослідження*. Робота виконувалася з використанням серологічних, бактеріологічних, вірусологічних, імуноморфологічних, морфометричних і біохімічних методів. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за програмою Microsoft excel на персональному комп'ютері.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Виявлено, що насіння чорнушки посівної та одержувані із нього олія та екстракт за різних методів вживання підвищують імунний статус, позитивно впливаючи на гуморальний та клітинний імунітет.

Установлено можливість підсилення імунної відповіді у вакцинованих проти ньюкаслської хвороби курчат при щепленні вакцини з одночасним застосуванням насіння чорнушки посівної, а також отриманих з нього олії та екстракту.

Виявлено загальностимулюючі властивості препаратів чорнушки посівної з підвищенням природної резистентності курчат збільшенням у сироватці крові вмісту загального білка, лізоциму, зменшенням серомукоїдів та підвищенням приросту живої маси у піддослідних курчат.

Новизна підтверджена видачею деклараційного патенту на винахід “Спосіб імунізації птиці проти ньюкаслської хвороби” №68106 А Україна, МКІ А61К39\12, А61К35\74.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розробка препаратів чорнушки посівної як фітоімуностимулятора в птахівництві дозволить підвищити імунний статус поголів'я молодняка й у такий спосіб підняти природну резистентність, що дозволить підвищити збереженість поголів'я і знизиться відхід молодняка.

При існуючій повсюдній вакцинації птахопоголівья проти ньюкаслської хвороби важливе значення має рівень поствакцинального імунітету, який можна значно підвищити шляхом сполучення вакцинації з імуностимуляцією чорнушкою посівною.

**Особистий внесок здобувача.** Усі розділи роботи здобувачем виконані самостійно, готував і проводив експериментальні дослідження, враховував результати із застосуванням сучасних методів та з використанням статистичної обробки. Запатентував спосіб імунізації птиці проти ньюкаслської хвороби. В умовах виробництва випробував запропонований імуностимулятор.

**Апробація результатів дослідження.** Результати досліджень були представлені

3

й обговорені на засіданнях кафедри мікробіології, вірусології й імунології, на Вченій Раді Харківської державної зооветеринарної академії (в 2000 – 2003 рр.) і на науково-практичних конференціях:

* 5-у зїзді паразитоценологів України (м. Харків, 2001 р.)
* міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених “Биоэтика в системе высшего образования” (м. Харків, 2001 р.)
* ХІІ конференції Українського наукового товариства паразитологів (м. Севастополь 2002 р.)
* міжнародній науково-практичній конференції по птахівництву “Проблемы промышленного и фермерского птицеводства” (м. Харків 2002 р.)
* ІІ конференції Міжнародної асоціації паразитоценологів (м. Луганськ 2003р.).

**Публікації.** Основний вміст дисертаційної роботи опубліковано в 12 друкованих працях, з них у 8 спеціальних виданнях, затверджених ВАК України, у 2 зарубіжних виданнях.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 176 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 11 таблицями і 19 фотографією.

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, власних досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, пропозицій виробництву і списку джерел літератури, що містить 300 найменування, у тому числі 82 іноземних.

**Матеріали і методи дослідження.**

Представлена робота виконувалася як самостійний розділ теми. Дослідження проводилися на кафедрі мікробіології, вірусології й імунології Харківської державної зооветеринарної академії, крім того, робота виконувалася на кафедрі анатомії і гістології ХДЗВА, у лабораторії біохімії інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН і у відділі патоморфології Інституту медичної радіології ім. С.П.Григор'єва АМН України.

Дослідження проводилися з зернами й олією з насіння чорнушки посівної, доставленими з Палестини.Екстракт насіння чорнушки посівної готували шляхом тривалої екстракції здрібнених зерен.За екстрагент використовували 30% етиловий спирт у співвідношенні 1:10 до маси зерен. Після екстрагування при періодичному перемішуванні впродовж 7-10 днів надосадовий шар зливали і розфасовували у флакони.

Аерозольну обробку курчат водяно-спиртовим екстрактом здійснювали шляхом розпилення її в спеціально обладнаній камері, каркас якої обтягали поліетиленовою плівкою. Розпорошували екстракт розпилювачем спрейметодом. Аерозольну обробку здійснювали впродовж 20 хвилин при повторенні розпилення кожні 5 хвилин. Екстракт застосовували з розрахунку – 1,5 мл/м³ камери.

У дослідах використовувалися курчата яйцевого кросу ломан браун, 2-4-тижневого віку, з яких сформували групи за принципом аналогів, утримували і годували відповідно до існуючих норм.

У роботі застосували живу вірус-вакцину зі штаму Ла-Сота виробництва Сумської

4

біофабрики.

Серологічні дослідження проводили з постановкою реакції гемаглютинації еритроцитів (РГА) і реакції затримки гемаглютинації еритроцитів (РЗГА) за загальноприйнятими методиками.

При оцінці загального імунітету використовували біохімічні дослідження. Визначали вміст загального білка- рефрактометрічно, класи імуноглобулінів визначали за Манчині (G. Manchini,1965), циркулюючі імунні комплекси (ЦИК) - за Ю.А. Гриневичем шляхом осаджування білкових комплексів антиген-антитіло поліетиленгліколем (ПЭГ-6000), серомукоіди визначали за Веймером та Мошиним.

Імуноморфологічні дослідження проводили на макроскопічному рівні.

Зважуванням визначали масу тіла курчати, зважували окремі органи: тимус, бурсу Фабриціуса, селезінку.

Визначали індекси абсолютної маси імунокомпетентних органів за формулою:

 де: I – індекс досліджуваного органу; m – маса органу в мг; M – маса тіла курчати в г.

На мікроскопічному рівні імуноморфологічні дослідження проводили із застосуванням гістологічних і морфометричних методів.

Гістологічні дослідження проводили за участю співробітників кафедри анатомії і гістології і відділу морфології Харківського науково-дослідного інституту медичної радіології МОЗ.

Проводили імуноморфологічні дослідження тимуса, бурси Фабриціуса і селезінки. Відібраний матеріал фіксували 10% нейтральним формаліном і рідиною Карнуа. Готували парафінові зрізи, проводили загальне фарбування гематоксилін-еозином, фарбували метиловим зеленим і піроніном за Браше для виявлення РНК.

Морфометричними вимірами бурси Фабриціуса в п'яти найбільш великих фолікулах визначали середню товщину коркового шару шляхом підрахунку кількості рядів кліток у широкій і вузькій його частинах. Обчислювали морфо-функціональний потенціал (МФП) фолікулів шляхом множення довжини фолікулів на ширину їхнього коркового шару і далі діленням отриманої величини на 100.

При імуноморфологічному дослідженні тимуса враховували розвиненість його коркового шару. Для цього обчислювали співвідношення товщини мозкової речовини з товщиною коркової речовини по обидва боки часточки по її середині. Мозково-коркове співвідношення (МКС) при активному стані тимуса не перевищує 1,5.

На гістозрізах тимуса враховувався стан підкапсулярної зони, що знаходиться по периферії коркового шару і складається з більш світлих піронінофільних кліток. Вираженість цього показника свідчить про посилення проліферативних процесів у корковому шарі. На мікроскопічному рівні враховувалася щільність і рівномірність розташування клітин у корковій і мозковій зонах, однорідність складу і наявність деструктивних ознак у клітин.

У селезінці враховували клітинний склад, розвиненість білої пульпи, наявність гермінативних фолікулів, величину і кількість ретикуло-ендотеліальних муфт.

Вакцинацію проти ньюкаслської хвороби проводили відповідно до діючої інструкції.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами. Обчислення результатів досліджень проводилося за допомогою персонального комп'ютера методом варіаційного аналізу "Microsoft Excel 2002".

5

**Результати досліджень**

**Імуностимулюючі властивості насіння чорнушки посівної.** При вивченні імуностимулюючих властивостей чорнушки посівної дослід був поставлений на курчатах двотижневого віку, яких розділили на три групи, у кожній групі було по 10 курчат. Піддослідній групі внутрішньо давали зерна чорнушки посівної з розрахунку 140 мг/кг живої маси.

Контрольній групі для порівняння давали метилурацил у дозі 0,2 г/кг живої маси.

Третя група залишалася інтактною. Облік результатів із застосуванням різних тестів був проведений через 15 днів після застосування імуностимуляторів. Результати експерименту, представлені в таблиці 1, свідчать про стимулюючу дію чорнушки посівної на імунокомпетентні органи.

Таблиця 1

|  |
| --- |
| ***Результати імуностимулюючої дії насіння чорнушки посівної*** |
| **№ групи** | **Результати дослідів через 14 діб** |
|
| **Загальний білок, г/л, (% від контролю)** | **Імуноглобуліни** | **Жива маса, г, (% від контролю)** | **Тимус** | **Бурса Фабриціуса** |
| **Jg G мг/мл, (% від контролю)** | **Jg M мг/мл, (% від контролю)** | **Jg A мг/мл, (% від контролю)** | **Маса,мг** | **Індекс (% від контролю)** | **МКС (% від контролю)** | **Маса,мг** | **Індекс (% від контролю)** | **К-кість рядів клітин (% від контролю)** |
|
|
| 1 д | 27,0 ± 0325 **(14,9%)** | 9,82 ± 0,130 **(14,1%)** | 1,60 ± 0,027 **(14,3%)** | 0,43 ± 0,005 **(16,2%)** | 246 ± 1,24 **(7,4%)** | 1330 ± 10,61 | 5,4 1± 0,021 **(22,9%)** | 0,81 ± 0,008  **(-12,9%**) | 1202,4 ± 11,472 | 4,89 ± 0,022 **(27%)** | 13,0 ± 0,325 **(30%)** |
| 2 д | 26,3 ± 0,433 **(11,9%)** | 9,3 ± 0,141 **(8%)** | 1,62 ± 0,032**(15,7%)** | 0,42 ± 0,004 **(13,5%)** | 242,5 ± 1,082 **(6%)** | 1333 ± 12,014 | 5,5 ± 0,016 **(25%)** | 0,84 ± 0,007  **(-9%)** | 1105,5 ±8.55 | 4,56 ± 0,024 **(18,4%)** | 12,3 ± 0,216 **(23%)** |
|  3 к | 23,5± 0,271 | 8,61 ± 0,100 | 1,40 ± 0,022 | 0,37 ± 0,005  | 229 ± 1,028 | 1007,8 ± 7,576  | 4,4 01± 0,0162 | 0,93 ± 0,005 |  881,8 ± 8,334 | 3,85 ± 0,024 | 10 ± 0,325 |

Примітка: МКС - мозгово- коркове співвідношення.

Д – дослідні групи.

К – контрольна група.

У піддослідних курчат під впливом чорнушки посівної відзначене невелике

підвищення вмісту білка в сироватці крові до 27,0±0,325 г/л (р<0,001) , а в контрольних курчат цей показник відповідав 23,5±0,271 г/л. Під дією метилурацила вміст білка також збільшувався, але в меншій мірі 26,3±0,433 г/л (р<0,001).

6

При визначенні рівня імуноглобулінів установлене підвищення вмісту IgG. У контрольній групі цей показник відповідав 8,61±0,1, а в піддослідних курчат, що одержували зерна чорнушки посівної, відзначене збільшення їхнього вмісту Ig G до 9,82±0,13 (р<0,001), що перевершувало цей показник у курчат, оброблених метилурацилом 9,3±0,141 (р<0,001).

Вміст імуноглобулінів класів IgM і IgA також збільшувався в імуностимульованих курчат.

Для визначення стимулюючого впливу препаратів доцільно було застосувати вивчення тимусу як центрального лімфоідного органа. Індекс тимуса в курчат піддослідної групи, де застосовували зерна чорнушки посівної, він відповідав 5,41±0,021 (р<0,001), а в групі, де застосовували метилурацил, цей показник був трохи вищий і відповідав 5,5±0,016 (р<0,001). При зіставленні з курчатами контрольної інтактної групи відзначився імуностимулюючий вплив цих препаратів.

За індексом бурси Фабриціуса у піддослідних курчат першої групи відзначалося значне збільшення цього показника 4,89±0,022 (р<0,001) у порівнянні з контрольною третьою групою 3,85±0,024. Менш значна різниця мала місце і при зіставленні з курчатами, що одержували метилурацил 4,56±0,024 (р<0,001).

Показники індексу селезінки свідчили про виражену імуностимулюючу дію зерен чорнушки посівної з деякою перевагою над групою, що одержувала метилурацил. Ці індекси дорівнювали відповідно 1,37±0,005 (р<0,001) і 1,35±0,005 (р<0,001). У контрольній групі цей показник був значно меншим і становив 1,30±0,005.

При імуноморфологічних дослідженнях на гістологічному рівні в тимусі в піддослідних курчат під дією чорнушки посівної відзначене розширення коркової зони. Показовим є мозкового-коркове співвідношення (МКС) шарів. У контрольній групі цей показник дорівнював 0,93±0,005, а в групі, де застосовували чорнушку, через два тижні цей показник знижувався до 0,81±0,008 за рахунок розширення коркової зони. Це свідчило про активний стан органу. При порівнянні відмічено, що під дією метилурацилу потовщення коркового шару було трохи менше, а МКС відповідало 0,84±0,007.

Стимулююче впливала чорнушка посівна на бурсу Фабриціуса, де спостерігалося збільшення площі фолікулів, а корковий шар фолікулів помітно товщав при відсутності патологічних змін

У мозковій речовині фолікулів відзначалося у піддослідних і контрольних курчат рівномірне за щільністю розташування клітин з наявністю помірної кількості плазматичних клітин. Строма фолікулів і поділяючий епітеліальний шар чітко виражені у всіх фолікулах.

Таким чином, за вмістом імуноглобулінів та збільшенням вмісту загального білка і імуноморфологічними показниками на макроскопічному і гістологічному рівнях виявлялися імуностимулююча дія чорнушки посівної і підвищення імунного статусу у піддослідних курчат. У центральних лімфоідних органах і селезінці відзначається виражена активізація, яка буде близька до імуностимулюючого впливу метилурацила.

**Визначення імуностимулюючої дії різних доз чорнушки посівної.** Чорнушка

посівна, за літературними даними, застосовується як загальстимулюючий засіб із розрахунку 10 г на людину. Виходячи з цього, була взята усереднена доза насіння, а саме 140 мг/кг живої маси.

Для визначення оптимальної імуностимулюючої дози були взяті завищена доза – 210мг і мінімальна доза – 70мг. Експеримент проводився на двотижневих курчатах, з

7

яких було сформовано 4 групи по 6 курчат у кожній групі. У першій групі курчатам давали чорнушку посівну в мінімальній дозі 70мг. Курчата другої групи одержували чорнушку посівну в дозі 140 мг, а третьої групи – по 210 мг на кг/живої маси курчати. Четверта група залишалася контрольною.

Облік результатів був проведений через два тижні. Проводили зважування курчат і визначали індекси центральних лімфоідних органів – тимуса, відповідального за клітинний імунітет, і бурси Фабриціуса, що контролює гуморальний імунітет у птахів. Отримані результати свідчили про стимулюючий вплив насіння чорнушки посівної у курчат всіх трьох груп. Але за показниками вмісту загального білка і класів імуноглобулінів у сироватці крові і за результатами імуноморфологічних досліджень оптимальною варто вважати дозу, одержану курчатами другої групи. Індекс тімусу у курчат цієї групи порівняльно з контролем був вищім на 36,75%, а індекс бурси Фабриціуса – на 32%. Такі показники свідчать про досить високу ефективність такої дози препарату. Збільшення дози в третій групі не привело до помітної переваги, а витрата імуностимулятора значно збільшилась, тому при визначенні імуностимулюючої дози оптимальною варто вважати дозу 140 мг/кг живої маси.

**Визначення оптимальної схеми імуностимуляції.** В експерименті було випробувано кілька схем застосування на двотижневих курчатах, що були за принципом аналогів розділені на 4 групи по 6 курчат у кожній групі. Першій групі давали зерна чорнушки одноразово із розрахунку 140 мг/кг живої маси. Другу групу піддали одноциклічній обробці з даванням курчатам зерен чорнушки щоденно на протязі 5 днів в тій же дозі. Третю групу обробили двоциклічно. Перший цикл проводили аналогічно з другою групою, а через чотири дні повторювали цикл. Облік результатів проводили в 30-денному віці.

Підводячи підсумок досліджень різних схем застосування чорнушки посівної, можна відзначити, що всі схеми застосування чорнушки посівної виявилися досить ефективними у порівнянні з контрольною групою інтактних курчат. Результати застосування різних схем стимуляції свідчать про незначні розбіжності. Перевага відзначена при двоциклічній обробці. Їй поступається одноциклічна схема й одноразова обробка. Хоча при різних схемах обробки стимулятором був отриманий позитивний результат, який значно перебільшував показники контрольної інтактної групи.

**Імуностимулюючі властивості олії чорнушки посівної.** Дослідження імуностимулюючої дії олії чорнушки посівної проводилося на курчатах 2-тижневого віку. Було сформовано чотири групи по 10 курчат у кожній групі. Першій групі олію насіння чорнушки закапували в ніс по дві краплі в одну ніздрю. Другу групу обробляли безпосередньо в трахею шляхом закапування в гортанний отвір олії чорнушки по дві краплі на курча. Курчатам третьої групи олію 0,2 мл вводили внутрішньом’язово в грудний м'яз. Курчата четвертої, контрольної, групи залишалися інтактними. Облік результатів проводили через 15 днів після обробки курчат.

У загальному підсумку проведених досліджень за результатами визначення рівня вмісту імуноглобулінів, загального білка в сироватці крові і за імуноморфологічними показниками установлено, що всі три способи застосування олії чорнушки посівної –

інтраназальне, інтратрахеальне і внутрішньом’язове введення, діють імуностимулююче на курчат при невеликих розходженнях у результатах використаних тестів без вираженої переваги того або іншого способу застосування. За показниками індексів тимуса і бурси Фабриціуса найбільш ефективним було внутрішньом'язове застосування, при якому ці показники дорівнювалися відповідно 5,46 ± 0,017 (р<0,001) и 4,6 ± 0,015. (р<0,001) А за іншими показниками перевагу мало інтратрахеальне введення, при якому

8

вміст IgG перевищував показник контрольної групи на 10% і відповідав 9,95 ± 0,119 (р<0,001), а при інтраназальному введенні цей показник не набагато відрізнявся від таких показників інших груп і дорівнювався 9,86 ± 0,0118 (р<0,001) і таким чином перевищував показник контрольної групи на 9%.

**Вивчення бактеріостатичних властивостей олії чорнушки посівної.** У проведеному експерименті були вивчені бактеріостатичні властивості олії чорнушки посівної, що є комерційним препаратом.

З фільтрувального паперу готували диски стандартного діаметру, які просочували олією. У чашки Петрі з МПА робили методом суцільного газону висів культур Salm. cholerae suis, E. coli, Str. epidermidis і Micrococcus lysodeicticus.

Після посіву для підсихання чашки Петрі витримували 15 хвилин у відкритому стані, а потім на поверхню посіву за допомогою пінцета поміщали паперові диски, просочені олією чорнушки. Диски за загальноприйнятою методикою розташовували на рівній відстані один від одного і не ближче 2 см від краю, по 6 дисків на одну чашку Петрі. Для порівняння використовували комерційні диски з антибіотиком поліміксином. Облік результатів проводили через добу шляхом виміру зон затримки росту посіяних бактеріальних культур. Антимікробну дію визначали за величиною діаметру зони затримки росту культур навколо паперових дисків. За отриманими результатами встановлювали середній показник.

Найбільш чуттєвою до дії олії чорнушки виявилася E. coli, у якої зона затримки росту відповідала діаметрові в межах 11,2±0,22 мм. Така ж висока чутливість була виявлена й у Str. epidermidis, у якого ріст культури затримувався в діаметрі 10,3±0,53 мм.

У культурі Micrococcus lysodeicticus зона затримки росту була 8,8±0,35 мм, а в Salm. cholerae suis ще менше, діаметр такої зони відповідав 7,8±0,35 мм.

Отримані результати свідчать про чутливість грампозитивних і грамнегативних бактеріальних форм без великого розходження в показниках. А між грамнегативними E. coli і Salm. cholerae suis цей показник виявився найбільш значним. Отже, чутливість до дії олії не залежала від здатності мікробів фарбуватися за Грамом.

У контролі з антибіотиком поліміксином зона затримки росту культур у E. Coli становила 13,6±0,35мм, Str. epidermidis 13,3±0,22мм, Micrococcus lysodeicticus 11,8±0,53мм, Salm. cholerae suis 10,0±0,22мм.

Найбільш вираженими в цьому випадку також виявилися розходження показників за E. coli і Salm. cholerae suis, які дорівнювалися 13,6 мм і 10,0 мм відповідно.

Отримані результати свідчать про досить високу бактеріостатичну активність олії чорнушки посівної. За даними проведених досліджень, антибіотик поліміксин за своїми бактеріостатичними властивостями лише незначно перевершує чорнушку посівну.

Отже, олія чорнушки посівної має добре виражені бактеріостатичні властивості у відношенні як до грампозитивних, так і грамнегативних бактеріальних культур.

**Імуностимулюючі властивості екстракту насіння чорнушки посівної.** В експерименті було використано 35 курчат 15-денного віку, що були порівну поділені на

5 груп. Першій групі екстракт вводили шляхом закапування в носовий отвір по 2 краплі Другу групу обробляли аерозолем з екстракту насіння чорнушки. Обробляли курчат протягом 20 хв. з розрахунку 1,5мл/м³. Третій групі екстракт вводили внутрішньом’язово за допомогою шприця в грудний м'яз по 0,4 мл на голову. Четвертій групі екстракт давали per os з кормом дозою 0,8 мл на голову. П'ята група залишалася контрольною без обробки імуностимулятором.

9

Отримані результати свідчать про деякі відмінності в імуностимулюючій дії в залежності від методу введення екстракту .

Результати проведеного експерименту свідчать про стимулюючий вплив водяно-спиртового екстракту чорнушки за всіх способів його застосування при невеликих розходженнях у показниках використаних тестів. Перевага була відмічена за інтраназального введення, із збільшенням індексу тимуса до 4,78± 0,033. (р<0,001). Однак, останні показники кращими були за інших методів застосування. За індексом бурси Фабриціуса і за вмістом загального білка кращі показники виявилися за внутрішньом’язового введення 4,1±0,027 (р<0,001), 26,9±0,27 (р<0,001). За вмістом імуноглобулінів класу IgG найвищий показник був при пероральному введенні 9,805±0,13 (р<0,001). IgA – при аерозольному застосуванні єкстракту 0,72±0,01. (р<0,001).

В цілому отримані дані показали ефективність застосування всіх способів введення. Результати виявилися вищими в порівнянні з інтактними контрольними курчатами. При виборі способу застосування варто враховувати практичну доступність перорального методу.

**Показники імунного статусу курчат при щепленні проти ньюкаслської хвороби.** Вірус ньюкаслської хвороби має імунодепресивні властивості. Вони, за літературними даними, зберігаються і у живої вірус-вакцини. У наших дослідах було необхідно визначити ступінь вираження імунодепресивних властивостей у застосовуваної вірус вакцини. Для цього було сформовано дві групи двотижневих курчат по 10 голів у кожній. Першу групу (дослідну) вакцинували інтраназально за загальноприйнятою методикою вірусом-вакциною Ла-Сота. Друга група (контрольна) залишалась інтактною. Матеріал для дослідження відбирали через 7 та 15 діб після щеплення.

Отримані результати свідчать про наявність імунізуючої дії вже через 7 днів, коли титри антитіл в РЗГА відповідали 3,8 log2, а кількість Т- лімфоцитів підвищилась до 50,8%. Відмічені зміни також інших показників. Але найбільш виражені зміни виявились через 15 днів після обробки. Коли титри антигемаглютининів підвищилися до 5,6 log2, а кількість Т-лімфоцитів збільшилас до 53%. Ці дані свідчать про виражений антигенний вплив і достатню імунну відповідь.

Про стан імунокомпетентної системи судили за імуноморфологічним параметром центральних лімфоідних органів. Індекс тимуса у піддослідних курчат через 15 днів відповідав 3,9 ± 0,042. У порівнянні з контрольною групою цей показник знизився на 9,3% у бік наближення до імунодефіцитного стану.

Індекс бурси Фабриціуса дослідної групи знизився до 3,28 ± 0,03, у порівнянні з даними контрольної групи (3,7 ± 0,026) на 11,4%, що свідчило про імунодепресивну дію вірус-вакцини.

**Стимуляція імунної відповіді насінням чорнушки посівної.** Дослід був поставлений на двотижневих курчатах, з яких було сформовано 4 групи по 8 курчат у кожній.

Першій групі давали зерна чорнушки посівної внутрішньо із розрахунку 140 мг/кг живої маси. Курчат інтраназально імунізували вакциною Ла-Сота виробництва

Сумської біофабрики.

Другу групу вакцинували без давання імуностимулятора. Третій групі давали тільки зерна чорнушки, а четверту групу провакцинували проти ньюкаслської хвороби з

10

одночасним згодовуванням з кормом широко застосовуваного імуностимулятора – метилурацила, дозою 0,2 г/кг живої маси.

Поствакцинальну імунну відповідь оцінювали за результатами РЗГА, що ставили за загальноприйнятою методикою. Популяціі Т-лімфоцитів визначали в реакції спонтанного розеткоутворення. Про стан імунокомпетентних органів судили за величеною індексів тимуса, бурси Фабриціуса і селезінки. Відбирали патматеріал після взяття крові із серця курчат під ефірним наркозом.

Отримані в експерименті дані серологічних досліджень свідчили про виражену стимулюючу дію чорнушки посівної, при згодовуванні якої титри антигемаглютининів у РЗГА через два тижні після вакцинації досягали 8,25 log2. Ці показники виявилися значно вищими в порівнянні з другою групою, де вакциновані курчата не одержували імуностимулятори - 5,5 log2.

В отриманих результатах за вмістом імуноглобулінів класу IgG найбільш високий рівень відзначений у третій групі, де курчат обробляли тільки насінням чорнушки посівної. IgG у цій групі накопичувалися до 9,80±0,133мг/мл (р<0,001). У першій піддослідній групі, де застосовували чорнушку разом з проведенням вакцинації, цей показник був трохи нижче і відповідав 9,7±0,12мг/мл (р<0,001)., а при обробці вакцинованих курчат метилурацилом рівень IgG був незначно нижче, ніж у курчат першої групи.

Найбільший вміст IgM також був у курчат третьої групи, що одержували тільки чорнушку посівну (1,69±0,029мг/мл) (р<0,001). Під дією вакцини цей показник у першій групі дещо знизився до 1,68±0,024мг/мл (р<0,001).

Кількість секреторних імуноглобулінів - IgA у сироватці крові першої групи була найбільшою (0,49±0,013мг/мл) (р<0,001). У другій групі, де вакцинували курчат без імуностимуляції, цей показник був нижче і становив 0,38±0,01мг/мл.

При вакцинації із імуностимуляцією насінням чорнушки посівної вміст Т-лімфоцитів підвищився до 61%, а у другій групі курчат до 53%. Вміст у сироватці крові загального білка при застосуванні чорнушки посівної досягав (26,8±0,45г/л) (р<0,001), а в групі курчат, вакцинованих живою вірусом-вакциною Ла-Сота, цей показник був значно нижче – 23,1±0,35г/л.

При імуноморфологічних дослідженнях маса бурси Фабриціуса була найбільш високою у невакцинованих курчат третьої групи, яким давали тільки чорнушку посівну (1146±9,84мг) (р<0,001). Маса тимуса в першій групі у вакцинованих курчат при застосуванні чорнушки посівної дорівнювала 1292,.5±9,44мг (р<0,001), а у вакцинованих курчат без стимулятора цей показник був менше і становив 1012,13±2,4мг.

Індекс бурси при вакцинації вірус-вакциною Ла-Сота дорівнював 3,6±0,02 (р<0,001). Одночасна вакцинація з даванням чорнушки посівної підвищила цей показник до 4,34±0,017 (р<0,001) (р<0,001). Цей індекс виявився трохи вищий у четвертій групі в курчат, де як імуностимулятор застосовувався метилурацил (4,42±0,015) (р<0,001). Більш високий індекс тимуса і бурси був у курчат третьої групи, що одержували тільки чорнушку посівну 5,43±0,022 (р<0,001), 4,62±0,025 (р<0,001). А поєднання імуностимуляції з вакцинацією знижувало показник індексу тимуса у курчат

першої групи до 5,32±0,023 (р<0,001).

При гістологічному дослідженні в бурсі Фабриціуса відзначалося зменшення фолікулів у розмірі та зменшення кількості лімфоідних клітин, що зазнавали

11

руйнування. Поряд з деструктивними змінами виявлялися збережені фолікули. У них були чітко виражені шари із лімфоцитів, в основному однотипних, величиною близько 3,5 мкм та досить щільним ядром, що відповідають середнім лімфоцитам. У корковому шарі кількість рядів лімфоцитів знижувалась до 6-7 рядів та зменшувалось число клітин з ознаками пікнозу і рексису ядра.

У тимусі курчат, вакцинованих вірус-вакциною, показник співвідношення мозкового і коркового шарів піднімався до 1,2, що вказувало на зниження функціональної активності органа. У інтактних курчат цей показник був менше 1,5, тобто відповідав ознакам функціонально активному органу.

Після вакцинації в мозковому шарі часточок тимусу спостерігалося зменшення кількості клітин, відбувалося розпушення структур при збільшенні числа ретикулоепітеліальних клітин. Відзначалося виникнення тимусних тілець із клітин, що мали вигляд округлих порожніх утворень, заповнених напівзруйнованими клітинними елементами цитоплазми та ядер.

Застосування чорнушки посівної, як це було видно на гістологічному рівні, знижувало прояви ознак імунної недостатності. Підсумовуючи отримані результати з урахуванням усіх проведених досліджень, є підстави відмітити стимулюючу дію чорнушки посівної на підвищення рівня імунної відповіді, що має важливе значенння у захисті тварин.

**Визначення оптимальних термінів імуностимуляції чорнушкою посівною при вакцинації проти ньюкаслської хвороби.** Дослід поставили на 28 двотижневих курчатах, з яких за принципом аналогів було сформовано 4 групи. Піддослідних і контрольних курчат вакцинували у 14-денному віці вакциною з штаму Ла-Сота відповідно до інструкції. Перші три групи отримували імуностимулятор чорнушку посівну одноциклічно на протязі п’яти днів у кількості 140 мг/кг живої маси на добу.Курчата першої групи отримали чорнушку за 5 днів до щеплення.Курчатам другої групи почали давати чорнушку посівну за 2 доби до щеплення.Третя група отримувала стимулятор після щеплення 5 днів поспіль.Четверта група залишилась контрольною.облік результатів проводили через два тижні після імунізації.

Отримані результати свідчили про імуностимулюючу дію чорнушки посівної при різних строках її застосування. Але найбільш єфективним виявилося проведення вакцинації сумісно із застосуванням чорнушки, коли титри антигемаглютининів в РЗГА збільшились на 2,72 log2, вміст Т-лімфоцитів підвищився на до 63%, також значно підвищились індекси маси тимуса і бурси Фабриціуса.на 13,3% і 15,4% відповідно.

**Порівняльне вивчення препаратів чорнушки посівної при вакцинації.** Вивчали імуностимулюючу дію зерна, водяно-спиртового екстракту і олії насіння чорнушки при різних способах застосування.

В експерименті імуностимулюючий ефект визначали за рівнем імунної відповіді після вакцинації. Було сформовано шість груп по 7 голів у кожній, які були провакциновані вірусом-вакциною Ла-Сота інтраназально відповідно до інструкції. Одночасно з вакцинацією у перших п’яти групах були застосовані препарати чорнушки посівної. Курчатам першої групи по 2 краплі вводили інтраназально олію. Другу групу курчат обробляли аерозолем екстракту з розрахунку 1,5мл/м³ камери при 20-хвилинній експозиції. Курчатам третьої групи по 0,2 мл олії насіння чорнушки вводили

внутрішньом’язово в грудний м'яз, четвертій групі внутрішньом’язово вводили екстракт насіння чорнушки по 0,4 мл. П'ята група отримувала насіння чорнушки усередину. Шостій групі имуностимулятори не застосовували (табл. 2).

12

При визначенні рівня гуморального імунітету за РЗГА результати свідчать про те, що найбільш ефективним було внутрішньом’язове введення олії чорнушки посівної курчатам третьоїї групи, у яких середній титр антигемаглютинінів досягав 8,71 log2.

Вміст імуноглобулінів класу IgG найбільше підвищувався при інтраназальному введенні олії чорнушки посівної і досягав 9,826±0,118мг/мл (р<0,001).

Таблиця 2

***Результати серологічних і біохимічних дослідів***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ групи** | **Класи імуноглобулінів** | **Серомукоіди, мг/мл, (%від контролю)** | **ЦІК, мг/мл, (%від контролю)** | **Лізоцим, мкг/мл, (% від контролю)** | **Загальний білок, г/л, (% від контролю)** | **Титри РЗГА log2** |
| **IgG, мг/мл, (% від контролю)** | **IgM, мг/мл, (% від контролю)** | **IgA, мг/мл, (% від контролю)** |
| 1д | 9,826 ± 0,118 **(11,3%)** | 1,443 ± 0,021 **(11%)** | 0,685 ± 0,014 **(14,2%)** | 3,3 ± 0,061 **(-10,2%)** | 0,14 ± 0,005 **(6,9%)** | 1,62 ± 0,011 **(10,2%)** | 24,5 ± 0,266 **(6,5%)** | 8,6 |
| 2д | 9,17 ± 0,05 **(4%)** | 1,313 ± 0,02 **(1%)** | 0,68 ± 0,012 **(13,3%)** | 3,48 ± 0,026 **(-5,3%)** | 0,14 ± 0,007 **(6,9%)** | 1,55 ± 0,011 **(5,4%)** | 24,2 ± 0,28 **(5,2%)** | 8,43 |
| 3д | 9,566 ± 0,08 **(8,4%)** | 1,61 ± 0,03 **(23,8%)** | 0,667 ± 0,011 **(11,2%)** | 3,0 ± 0,03 **(-18,4%)** | 0,16 ± 0,008 **(22,1%)** | 1,77 ± 0,017 **(20,4%)** | 27,0 ± 0,452 **(17,4%)** | 8,71 |
| 4д | 8,995 ± 0,041 **(2%)** | 1,648 ± 0,035 **(26,8%)** | 0,67 ± 0,011 **(11,7%)** | 3,45 ± 0,025 **(-6,12%)** | 0,15 ± 0,009 **(14,5%)** | 1,69 ± 0,013 **(15%)**  | 25,0 ± 0,36 **(8,7%)** | 8,14 |
| 5д | 9,478 ± 0,065 **(7,4%)** | 1,61 ± 0,029 **(23,8%)** | 0,678 ± 0,001 **(0,13%)** | 3,2 ± 0,197 **(-13%)** | 0,176 ± 0,010 **(34,4%)** | 1,67 ± 0,011 **(13,7%)** | 26,2 ± 0,178 **(13,9%)** | 8,43 |
| 6к | 8,825 ± 0,076 | 1,3 ± 0,0182 | 0,6 ± 0,011 | 3,675 ± 0,017 | 0,131 ± 0,004 | 1,47 ± 0,08 | 23,0 ± 0,23 | 5,71 |

Д – дослідні групи.

К – контрольна група

Імуноглобуліни класу IgM у найбільш високій концентрації виявлялися при внутрішньом’язовому введені екстракту насіння чорнушки у курчат четвертої групи, де цей показник дорівнював 1,648±0,035мг/мл (р<0,001).

Імуноглобуліни класу IgA у сироватці крові виявляли у високій концентрації у всіх піддослідних групах, але найвищий вміст був при інтраназальному введенні олії чорнушки.

 Олія чорнушки впливала на вміст загального білка в сироватці крові. Найбільш ефективним виявилося внутрішньом'язове введення олії, при якому вміст білка підвищився до (27,0±0,452г/л) (р<0,001).

Вміст лізоциму у сироватці крові також свідчив про посилення імунної відповіді. В нашому експерименті вміст лізоциму під впливом імуностимуляторів підвищився при

внутрішньом’язовій обробці на 20,4%. У порівнянні з контролем, це найвищий показник вмісту лізоцима. Такий же рівень лізоциму був у курчат, оброблених екстрактом насіння при внутрішньом‘язовому введенні. В інших групах піддослідних курчат цей показник був нижче, але перевищував контрольну групу на 5,4%-13,7%.

13

Порівняльне вивчення структурних змін імунокомпетентних органів проводили на піддослідних і контрольних курчатах. (табл.3)

Індекс тимуса виявився меншим у контрольних (3,7±0,015), а при імуностимуляції він досяг (5,23±0,012) (р<0,001). Маса тіла у піддослідних курчат була більшою, ніж у контрольних. Маса тимуса також зменшувалася у контрольних курчат до 843,6±6,35 при імуностимуляції маса тимуса досягла 1302±7,87 (р<0,001)

Бурса Фабриціуса під дією вірус-вакцини зменшувала свою масу з1095,3±5,9 мг (р<0,001) до 665,9±16,19 мг , а індекс бурси Фабриціуса знизився з 4,42±0,012 (р<0,001) до 2,92±0,062.

Таблиця 3

|  |
| --- |
| ***Імуноморфологічні показники імуностимуляції вакцинованих курчат*** |
| **№ групи** | **Жива вага, г,**  **(% від контролю)** | **Тимус** | **Бурса Фабриціуса** | **Селезінка** |
| **Маса, мг** | **Індекс,** **(% від контролю)** | **МКС,**  **(% від контролю)** | **Маса, мг** | **Індекс,**  **(% від контролю)** | **Кількість рядів клетин,** **(% від контролю)** | **МФП,**  **(% від контролю)** | **Маса, мг** | **Індекс,** **(% від контролю)** |
|
|
|
|
| 1 д | 245±1,59 **(7,5%)** | 1254,6 ± 11,5 | 5,12 ± 0,012 **(38,4%)** | 0,90± 0,014 **(-17,4%)** | 1083.3 ± 9,985 | 4,42 ± 0,012 **(51,4%)** | 12,125 ± 0,453 **(16,3%)** | 66,6 ± 0,353 **(31,4%)** | 335,5 ± 4,24 | 1,37 ± 0,009 **(3,8%)** |
| 2 д | 241,5±1,29 **(5,9%)** | 1195,4 ± 8,93 | 4,95 ± 0,011 **(33,8%)** | 0,93±0,008 **(-14,7%)** | 1043,1 ± 7,26 | 4,32 ± 0,011 **(47,9%)** | 11,86± 0,453 **(13,7%)** | 66 ± 0,397 **(30,7%)** | 322,9 ± 2,57 | 1,34 ± 0,008 **(1,5%)** |
| 3 д | 249± 0,98 **(9,2%)** | 1302 ± 7,87 | 5,23 ± 0,012 **(41,4%)** | 0,87± 0,011 **(-20,2%)** | 1095,3 ± 5,9 | 4,4 ± 0,0111 **(50,7%)** | 13 ± 0,61 **(24,6%)** | 68 ± 0,422 **(34,7%)** | 353,3 ± 3,03 | 1,42 ± 0,008 **(7,6%)** |
| 4 д | 243 ± 121 **(6,6%)** | 1136,4 ± 5,6 | 4,68 ± 0,014 **(26,5%)** | 0,95 ± 0,015 **(-12,8%)** | 960 ± 3,48 | 3,95 ± 0,012 **(35,3%)** | 11,43 ± 0,3 **(9,6%)** | 60 ± 0,318 **(18,8%)** | 337,7 ± 2,42 | 1,39 ± 0,008 **(5,3%)** |
| 5 д | 246±1,44 **(7,9%)** | 1244,7 ± 9,834 | 5,06 ± 0,14 **(36,8%)** | 0,89 ± 0,012 **(-18,3%)** | 1050,6 ± 8,77 | 4,27 ± 0,02 **(46,2%)** | 12,6 ± 0,454 **(20,8%)** | 65 ± 0,285 **(28,7%)** | 334,3 ± 3,03 | 13,6 ± 0,005 **(3%)** |
| 6к | 228± 0,98 | 843,6 ± 6,35 | 3,7 ± 0,015 | 1,09 ± 0,013 | 665,9 ±16,19 | 2,92 ± 0,062 | 10,43 ± 0,45 | 50,5 ± 0,237 | 300.7 ± 3.03 | 1,32 ± 0,006 |

Д – дослідні групи.

К – контрольна група.

У вакцинованих курчат у тимусі при відсутності виражених макроскопічних відмінностей на гістологічному рівні відзначене зменшення коркового шару, із

зниженням щільності розташування лімфоцитів. У зовнішній частині коркової речовини розташовуються лімфобласти з великими ядрами. Ближче до мозкової речовини в

14

корковому шарі переважають малі лімфоцити, а середні лімфоцити розташовуються по всій площі коркового шару. Зміни в тимусі у вакцинованих проти ньюкаслської хвороби курчат свідчать про прояв імунодепресивної дії, а застосування імуностимулюючих препаратів у такій ситуації дозволяє знизити ці прояви.

У бурсі Фабриціуса в курчат через два тижні після вакцинації відзначалося зменшення розмірів фолікулів, помітне потоншення коркового шару з ділянками повного його зникнення.

У мозковому шарі відзначена наявність дрібних вакуольних пухирців розміром 15-20 мкм, що з'являються в збільшених напівзруйнованих ретикулярних клітинах. У таких фолікулах у мозковому шарі цілком були відсутні лімфоцити або залишалися в незначній кількості. У деяких фолікулах у дуже деградованому корковому шарі відзначалося майже повне зникнення лімфоцитів при збереженні незначної їхньої кількості на межі з мозковим шаром.

Результати імуностимуляції враховувалися за імуноморфологічними змінами.

При внутрішньом’язовому введенні олії чорнушки індекси тимуса і бурси Фабриціуса були високими і відповідали 5,23±0.012 (р<0,001) і 4,4±0,011 (р<0,001).

МКС у тимусі імуностимульованих курчат помітно знижувалося у порівнянні з контрольною групою, яку тільки провакцинували, у цій групі МКС дорівнювало 1,095±0,013. При внутрішньом’язовому введенні олії та внутрішньому застосуванні насіння чорнушки цей показник знижувався відповідно до 0,87±0,011 і 0,89±0,012. За інтраназального введення олії і аерозольної та внутрішньом’язової обробки екстрактом МКС збільшилося відповідно до 0,9±0,014 і 0,93±0,008, та 0,95±0,015 зі зменшенням коркового шару тимуса.

У бурсі Фабриціуса вакцинованих курчат,які отримали імуностимулятори, спостерігалося збільшення площі поперечного перерізу бурси, величина фолікулів і ширина коркового шару фолікулів збільшувалися в порівнянні з цими морфофункціональними показниками в контрольних курчат,яких лише вакцинували.

Звертала увагу нерівномірність товщини коркового шару , що спостерігалась у фолікулів. При чіткій розмежованості мозкового і коркового шарів спостерігається локальне потовщення коркового шару при значному збільшенні рядів клітин. При цьому корковий шар локально випинається у бік мозкової речовини, утворюючи зірчасті і хрестоподібні фігури.

Таким чином, імуноморфологічні дослідження показують чіткі реактивні зрушення в поствакцинальний період у імунокомпетентних органах як відповідну імунну реакцію на антигенний вплив застосовуваної живої вірус-вакцини.

При обробці вакцинованих курчат препаратами чорнушки посівної за імуноморфологічними показниками відзначається стимулюючий вплив на імунокомпетентні органи як прояв посилення імунної відповіді.

# 15

# ВИСНОВКИ

1. Імуностимуляція в птахівництві має важливе значення і перспективність за широкого розповсюдження імунодефіцитів. Проведеними дослідами встановлені імуностимулюючі властивості насіння чорнушки посівної, а також олії і екстракту із цього насіння. Застосування цих препаратів підвищує імунний статус, поствакцинальну імунну відповідь при щепленні проти ньюкаслської хвороби і тим самим зменшує імунодепресивний вплив цього вірусу. Крім того, вказані препарати стимулююче впливають на неспецифічні фактори захисту і на продуктивність поголів'я курчат при різних способах застосування.
2. Імунний статус курчат значно підвищується при дачі усередину насіння чорнушки посівної. Вміст імуноглобулінів класу IgG у сироватці крові збільшується на 14,9%, індекс бурси Фабриціуса підвищується на 27% і складає 4,89 ± 0,030, а індекс тимуса на 22% і дорівнює 5,4 ± 0,023.
3. При щепленні проти ньюкаслської хвороби застосування чорнушки посівної у вигляді насіння значно підвищує імунну відповідь за показниками гуморального і клітинного імунітету. Вміст антигемаглютинінів по РЗГА при цьому збільшується на 2,7 log2 і досягає 8,2 log2, кількість Т-лімфоцитів підвищуються до 61%, а у контролі - 53%.
4. Добре виражені імуностимулюючі властивості має олія з насіння чорнушки посівної при внутрішньом'язовому та інтраназальному введенні. Найбільш високим вміст імуноглобулінів класу IgG був при інтраназальному введенні, коли він підвищився на 11,3% порівняно з контролем, і становив 9,826 ± 0,118 мг/мл, а при внутрішньом'язовому введенні олії на 8,4%, тобто 9,566 ±0,08 мг/мл. Найбільш високі титри антигемаглютинінів при щепленні проти ньюкаслської хвороби спостерігалися при внутрішньом'язовому введенні, які у порівнянні з контрольними курчатами підвищувались на 3 log2 і дорівнювали 8,71 log2. При інтраназальному застосуванні імуностимулююча ефективність олії була також високою і відповідала 8,6 log2.
5. Бактеріостатичні властивості олії чорнушки посівної проявляються у відношенні як грампозитивних, так і грамнегативних мікробів. При порівнянні з бактеріостатичними властивостями антибіотиків встановлена досить висока антимікробна активність олії чорнушки посівної щодо E. coli (11,2 ± 0,29 мм), яка лише незначно поступалась антибіотику поліміксіну, а відносно грампозитивної культури Str. epidermidis, зона затримки росту при використанні олії була однакова з грамнегативною культурою E. Coli.
6. Екстракт насіння чорнушки посівної доступний для отримання у виробничих умовах, має виражені імуностимулюючі властивості при аерозольному і внутрішньом'язовому застосуванні. При поєднаному застосуванні екстракту насіння чорнушки посівної і щепленні проти ньюкаслської хвороби встановлено значне посилення імунної відповіді з підвищенням титрів антигемаглютинінів при аерозольному та внутрішньом'язовому введенні відповідно до 8,43 log2 та 8,14 log2, що значно вище, ніж при вакцинації без імуностимуляції, коли цей показник дорівнював 5,7 log2.
7. Загальностимулюючі властивості насіння чорнушки посівної, а також олії і екстракту з нього при внутрішньом'язовому застосуванні проявилися збільшенням вмісту загального протеіна у сироватці крові відповідно до 26,2 ± 0,178 г/л, 27,0 ± 0,452

16

г/л і 25,0 ± 0,36 г/л, лізоциму до 1,671 ±0,011мкг/мл, 1,77 ± 0,017 мкг/мл, 1,69 ± 0,013 мкг/мл. Вміст протеіну при застосуванні насіння, олії та екстракту в порівнянні з контролем збільшився відповідно на 13,9%, 17,4%, 8,7%, а вміст лізоциму на 13,7%, 20,4%, і на 15%.

**Практичні пропозиції**

1. Для підвищення імунного статуту молодняка і для посилення імунної відповіді при щепленні проти ньюкаслської хвороби птиці можна використовувати у птахівництві як імуностимулятор насіння чорнушки посівної (Nigella sativa), а також олію інтраназально та інтрамускулярно і екстракту з цього насіння аерозольно і перорально.
2. Результати дослідження з теми дисертації використовуються у навчальному процесі в Харківській державній зооветеринарній академії і Луганському національному аграрному університеті.

**Перелік наукових робіт, опублікованих за темою дисертації.**

1. Альфахури Имад, Апатенко В.М. Фитоиммуностимуляция при вакцинации цыплят // Вісн. Сумськ. держ. аграр. ун-ту. – Суми: СДАУ. – 2000. – Вип.5. – С. 11-12. Дисертант вивчав ефективність фітоімуностимуляції при вакацинації курчат.
2. Альфахурі Імад, Апатенко В.М. Новий засіб імуностимуляції // Наук. вісн. Львівськ. держ. акад. вет. мед. ім. С.З. Гжицького. – Львів: ЛДАВМ. – 2000. – Т.2. – №2. – Ч.1. – С.8-12. Дисертант запропонував новий імуностимулюючий засіб.
3. Апатенко В.М., Альфахури Имад Иммуноморфологические показатели фитоиммуностимуляции // Зб. ст. международ. науч.-практ. конференции "Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными экзотическими и зооантропонозными болезнями животных" 15-16 август. 2000. – Покров: ВНИИВВиМ. - 2000. – С. 102-103. Дисертант вивчав імуноморфологічні показники у курчат.
4. Альфахури Имад ( науковий керівник - Апатенко В.М.) Фитопрепараты как иммуностимуляторы для цыплят //Материалы науч. Междунар. Конференции студентов и молодых ученых, посвященной 150-ти летию ХЗВИ "Биоэтика в высшей школе" – Х.: ХЗВИ. – 2001. – С. 20.
5. Альфахури Имад, Апатенко В.М. Об иммунном ответе у цыплят под воздействием чернушки посевной (Nigella sativa) // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини/ Зб. наук. пр. Харків. зоовет. н-ту,присвяченій 5-му з'їзду паразитоцинологів України. – Х.: ХЗВІ. – 2001. – Вип. 7(31). – С. 168-169. Дисертант вивчав імунну видповідь у курчат.
6. Апатенко В.М., Альфахури Имад Иммуноморфологические параметры фитоиммуностимуляции // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини / Зб. наук. пр. Харків. зоовет. ін-ту – Х.: ХЗВІ. – 2001. – Вип. 8(32). – Ч.2. – С. 210-213. Дисертант

17

вивчав структурні зміни при фітоімуностимуляції.

1. Альфахури Имад Интестинальные иммуноморфологические параметры иммуностимулирующего действия чернушки посевной (Nigella sativa) // Проблеми зооінженериії та ветеринарної медицини / Зб. наук. пр. Харків. зоовет ін-ту – Х.: ХЗВІ. – 2001. – Вип. 9(33). – Ч.1. – С. 238-240.
2. Apatenko V.M., Alfahuri I. Immunostimulation at parasitocenosis of birds // Archiv fur Geflugelrunde / European Poultry Scenct / Revue dew Scence Avicole Europeene.- Bd 66, September 2002.- Verlag Euden.Ulmer, Stutgart / European Poultry Conference –Abstracts.- 6 – 10 September 2002.- Bremen.- P. 182 – 183. Дисертант вивчав імуностимуляцію при паразитоценозах.
3. Альфахури Имад, Апатенко В.М. Применение иммуностимуляции при заболеваниях, вызываемых комплексом паразитов // Тез. докл. ХІІ-тої конференції Україн. наук. товариства паразитологів, Севастополь, 10-12 вересня 2002. – К.: 2002. – С. 6-7. Дисертант вивчав застосування імуностимуляторів при захворюваннях.
4. Альфахури Имад Антимикробные свойства чернушки посевной (Nigella sativa) // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини / Зб. наук. пр. Харків. держ. зоовет акад. – Х.: ХДЗВА. – 2003. – Вип. 11(35). Ч.2. - С. 184-187.
5. Альфахури Имад, Апатенко В.М. Бактериостатические свойства масла чернушки посевной (Nigella sativa) в сравнении с антибиотиками // Вет. медицина: Міжвід. тем. наук. зб. – Х.: ІЕКВМ. – 2003. – Вип. 82. – С. 44-47. Дисертант вивчав бактеріостатичні властивості олії чорнушки посівної.
6. Альфахури Имад Иммуностимулирующие свойства при разных способах применения различных препаратов чернушки посевной (Nigella sativa) // Зб. наук. пр. Луганського аграр. ун-ту. – Луганськ: ЛНАУ. – 2003. – Вип.№ 31-43. – С. 597-601.

**Імад Альфахурі. Імуностимулюючі властивості чорнушки посівної (Nigella sativa), її препаратів і їх застосування при вакцинації проти ньюкаслської хвороби. - Рукопис**

Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – мікробіологія і вірусологія.

Інститут експериментальної ветеринарної медицини УААН, м. Харків, 2004.

Проведено вивчення доступного і широко розповсюдженого фітоімуностимулятора чорнушки посівної, олії і водяно-спиртового екстракту насіння цієї рослини при різних способах застосування і при вакцинації проти ньюкаслскої

хвороби курчат. Насіння чорнушки посівної виявляє імуностимулюючу дію при згодовуванні дозою 140 мг/кг живої маси при наявності виражених імунологічних зрушень у показниках гуморального і клітинного імунітету. Про це свідчать показники нагромадження поствакцинальных антитіл, зростання рівня вмісту імуноглобулінів класів IgG, IgM і IgA , також Т-лімфоцитів. Крім того, імуностимулююча дія підтверджена імуноморфологічними дослідженнями на макро- і мікроскопічному рівнях.

Дія насіння чорнушки посівної та отримані з нього олія та екстракт за своїми імуностимулюючими властивостями подібна до широко застосовуваного і загальновизнаного імуностимулятора метилурацила. Препарати чорнушки посівної виявляють загальностимулюючу дію на організм курчат. Під дією препаратів

18

відзначається збільшення приростів маси тіла, вмісту білка, зменшується вміст серомукоідів і циркулюючих імунних комплексів.

Олія чорнушки посівної проявляє бактеріостатичні властивості у відношенні як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій.

При вакцинації проти ньюкаслської хвороби застосування препаратів чорнушки посівної підсилює імунну відповідь за показниками серологічних, біохімічних і імуноморфологічних досліджень.

***Ключові слова:*** курчата, фітоімуностимулятор, чорнушка посівна, імунна відповідь, вакцинація, імуноморфологія, центральні лімфоідні органи.

**Имад Альфахури. Иммуностимулирующие свойства чернушки посевной (Nigella sativa), её препаратов и их применение при вакцинации против ньюкаслской болезни. - Рукопись**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 – микробиология и вирусология.

Институт экспериментальной ветеринарной медицины УААН, г. Харьков, 2004.

В диссертации изучены иммуностимулирующие свойства чернушки посевной, которая широко применяется на Ближнем Востоке и распространена во многих странах, в том числе и в Украине.

Иммуностимуляция и поиск новых иммуностимуляторов приобретает особую актуальность в птицеводстве в связи с широким распространением иммунодефицитов. Проведенными исследованиями установлены иммуностимулирующие свойства у семян чернушки посевной, а также у масла и экстракта из этих семян. Применение данных препаратов повышает иммунный статус, поствакцинальный ответ при вакцинации против ньюкаслской болезни и таким образом снижает иммунодепрессивное действие данного вакцинного вируса. Отмечено общестимулирующее влияние изучаемых препаратов.

Иммунный статус цыплят значительно повышается при скармливании семян чернушки посевной. Содержание иммуноглобулинов класса IgG в сыворотке крови увеличивается на 14,9%, индекс бурсы Фабрициуса повышается на 27% и соответствует 4,89 ± 0,030, а индекс тимуса на 22% и равняется 5,4 ± 0,023.

При вакцинации против ньюкаслской болезни применение семян чернушки

посевной повышает иммунный ответ по показателям гуморального и клеточного иммунитета. Содержание антигемагглютининов по РЗГА повышается при этом на 2,7 log2 и достигает 8,2 log2, количество Т-лимфоцитов повышается до 61%, а в контроле этот показатель соответствует 53%.

Масло семян чернушки посевной имеет хорошо выраженные иммуностимулирующие свойства при внутримышечном и интраназальном введении. Наиболее высоким содержание иммуноглобулинов класса IgG было при интраназальном введении, когда их содержание повышалось на 11,3% по сравнению с контролем и составило 9,826 ± 0,118 мг/мл, а при внутримышечном введении – на 8,4%, т.е. 9,566 ± 0,08 мг/мл. Наиболее высокие тиры антигемагглютининов при вакцинации против ньюкаслской болезни наблюдались при внутримышечном введении, которые по сравнению с контрольными цыплятами повышались на 3 log2 и соответствовали 8,71 log2. При интраназальном применении иммуностимулирующая эффективность масла была также высокой и соответствовала 8,6 log2.

19

Экстракт семян чернушки посевной доступен для получения в производственных условиях. Он имеет выраженные иммуностимулирующие свойства при аэрозольном и внутримышечном применении. При сочетании применения экстракта семян чернушки посевной и вакцинации против ньюкаслской болезни установлено значительное повышение титров антигемагглютининов при аэрозольном и внутримышечном введении соответственно до 8,43 log2 и 8,14 log2, что значительно выше, чем в контроле, когда это показатель соответствовал 5.7 log2.

Бактериостатические свойства масла чернушки посевной проявляются в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микробов. При сравнении с бактериостатическими свойствами антибиотиков установлена достаточно высокая антимикробная активность масла чернушки посевной в отношении E. сoli (11,2 ± 0,29 мм), лишь незначительно уступая антибиотику полимиксину. На грамположительной культуре Str. еpidermidis бактериостатическое действие масла проявилось также, как на кишечной палочке.

Общестимулирующие свойства семян чернушки посевной, а также масла и экстракта из этих семян, при внутримышечном введении проявилось увеличением содержания общего белка в сыворотке крови соответственно до 26,2±0,178 г/л, 27,0 ± 0,452 г/л и 25,0 ± 0,36 г/л, а лизоцима до 1,671 ± 0,011 мкг/мл, 1,77 ± 0.017 мкг/мл и 1,69 ± 0,013 мкг/мл. Содержание белка под действием семян масла и экстракта по сравнению с контролем увеличилось соответственно на 13,9%, 17,4% и на 8,7%, а содержание лизоцима на 13,7%, 20,4% и на 15%.

***Ключевые слова:*** цыплята, фитоиммуностимулятор, чернушка посевная, иммунный ответ, вакцинация, иммуноморфология, центральные лимфоидные органы.

**Imad Аlfahuri. Immunostimulatyioned properties Nigella sativa, its preparations and their application at vaccination against newcastl disease. - the Manuscript**

The thesis for a candidate of veterinarian science degree competition on speciality 16.00.03 - microbiology and virology.

The Institute of experimental and clinical veterinary medicine UAAS, Kharkov, 2004.

Studying accessible and widely distributed the Fitoimmunostimulator Nigella sativa, oils and the extract water-alcoholic of the Seeds of this plant is lead at different ways of application and at vaccination against newcastle disease of chickens. Simeon Nigella sativa show immunostimultioned action in a doze of alive weight of 140 mg / kg at presence expressed immunostimulationed shifts in parameters humoral and cellular immunity. Parameters of accumulation testify to it antibodies, increase of a level of the contents of the immunoglobulin of classes IgG, IgM and IgA,on Т-lymphocytes. Besides immunostimulationed action is confirmed immunomorfological with researches on macro-and microscopic levels.

Grains, oil and extract water-alcoholic of seeds of Nigella sativa on the immunostimultioned properties are similar with widely used and immunostimulatorthe metiluracyl. Preparations of Nigella sativa show stimulated action on an organism of chickens. Under action of preparations the increase in daily average weights, contents of protein is marked, the contents of seromucoides and circulating immune complexes decreases.

Oil of Nigella sativa possesses bacteriostatic properties in the relation both grampositiv, and gramnegativ bacteria.

20

At vaccination against newcastle disease application of preparations of nigella sativa strengthens the immune answer on parameters serological, biochemical and immunomorhpological researches.

***Key words:*** chickens, fitoimmunostimulator, Nigella sativa, the immune answer, vaccination, immunomorphology, central lymphoidical organ.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>