

УДК: 636.09-051:614.4:636.5

DOI: 10.31073/onehealthjournal2024-I-01

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОЇ ІМУНОСТИМУЛЮЮЧОЇ ДОЗИ ПРЕПАРАТУ ЕТР ДЛЯ КУРЧАТ

Бурдейний Р. А. (ORCID 0009-0007-2330-0777), **Грінченко Д. М.** (ORCID 0000-0001-7617-1576), **Северин Р. В.** (ORCID 0000-0003-2217-8582), **Саламашенко А. С.,**
Домашич К.А.

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

E-mail: grinchencodimamycol@gmail.com

Резюме. Імунна система курчат, особливо добового віку, є ще недостатньо сформованою і, відповідно, вона не може повноцінно функціонувати, що може супроводжуватись виникненням імунодефіцитних станів. Для їх подолання перспективним є застосування імуностимуляторів, оскільки вони підвищують імунний статус організму, підсилюють природну резистентність і знижують відхід поголів'я, перш за все молодняка. Крім того, застосування імуностимуляторів дозволяє підсилювати імунну відповідь при вакцинації поголів'я. Розроблений нами імуностимулятор ЕТР містить у своєму складі багато незамінних амінокислот, ферментів, жир- та водорозчинних вітамінів та мікроелементів. У попередніх дослідженнях нами було виготовлено препарат ЕТР та встановлено його імуностимулюючий вплив при вакцинації курчат проти ньюкаслської хвороби. У даній роботі було проведено визначення оптимальної дози імуностимулюючого препарату – екстракту трутневого розплоду (ЕТР) за щеплення курчат проти ньюкаслської хвороби. З метою визначення оптимальної дози імуностимулятора ЕТР на організм курчат імунний статус вираховували за серологічними, біохімічними та імуноморфологічними показниками. Для дослідження було сформовано 5 груп курчат породи білий леггорн 14-добового віку по 10 голів у кожній групі, яким було введено інтраназально живу вакцину проти ньюкаслської хвороби зі штаму Ла-Сота. Перша група була контрольною, курчат з неї її були лише щеплені, другій групі курчат було введено ентерально ЕТР у дозі 0,1 см³, третій – 0,3 см³, четвертій – 0,5 см³, п'ятій – 0,7 см³, шостій – 0,9 см³. За результатами серологічних досліджень, досить ефективною імуностимулюючою дозою для курчат виявилася доза 0,9 см³, але дози 0,5 см³ та 0,7 см³ є також проявляли імуностимулюючий ефект, оскільки різниця між показниками четвертої, п'ятої та шостої групами була незначною, і титр антигемаглютинінів відповідно складав в четвертій групі – $7,58 \pm 0,03 \log_2$, в п'ятій – $7,60 \pm 0,06 \log_2$ та шостій групі – $7,64 \pm 0,04 \log_2$. За результатами біохімічних досліджень встановлено, що найвищі рівні IgG, Ig M та Ig A виявлялися у курчат 6 групи, які отримували імуностимулятор у дозі 0,9 см³, і складали відповідно $9,12 \pm 0,013 \text{ мг/см}^3$, $1,60 \pm 0,04 \text{ мг/см}^3$ та $0,65 \pm 0,012 \text{ мг/см}^3$. Але дози 0,5 см³ та 0,7 см³ є також імуностимулюючими, оскільки різниця показників 4-ї, 5-ї та 6-ї груп була незначною. За результатами імуноморфологічних досліджень індекси лімфоїдних органів, підвищувалися зі збільшенням дози імуностимулятора. Дозу 0,5 см³ слід вважати оптимальною, оскільки подальше збільшення дози справляло незначний ефект на організм піддослідної птиці.

Ключові слова: екстракт трутневого розплоду, імуностимулятор, курчата, ньюкаслська хвороба, оптимальна доза.

Підвищення збереженості курчат та забезпечення високої інтенсивності їх росту на всіх стадіях вирощування є однією з найбільш актуальних проблем сучасного птахівництва (Lin, 2020; Hasted Teri-Lyn, 2021).

Боротьба з інфекційними захворюваннями є дуже важливою для отримання здорового поголів'я птиці, і це, як правило, досягається шляхом проведення вакцинації для зниження ризиків щодо виникнення інфекційних хвороб (Bhadouriya, 2019; Talazadeh, 2022; Bagheri, 2023). До основних негативних наслідків вакцинації є «виснаження» і передчасна деградація лімфоїдних органів і тканин, оскільки імуноткомпетентна система курчат, особливо добового віку, є ще недостатньо сформованою і відповідно, вона не може повноцінно функціонувати і можуть виникати імунodefіцитні стани (Ali, 2019).

Для подолання імунodefіцитних станів перспективним є застосування імуностимуляторів, оскільки вони підвищують імунний статус організму, підсилюють природну резистентність і знижують відхід поголів'я, перш за все молодняка. Крім того, застосування цих препаратів дозволяє підсилювати імунну відповідь при проведенні профілактичних щеплень поголів'я (Ahmad, 2020; Bazekin, 2021).

У попередніх дослідженнях нами було виготовлено препарат ЕТР та вивчено його імуностимулюючу дія при вакцинації курчат проти ньюкаслської хвороби (Бурдейний, 2023).

Запропонований імуностимулятор ЕТР містить у своєму складі багато незамінних амінокислот, ферментів, жир- та водорозчинних вітамінів та мікроелементів.

Мета роботи. Визначення оптимальної дози імуностимулятора екстракту трутневого розплоду (ЕТР) при щепленні курчат проти ньюкаслської хвороби.

Матеріали та методи. З метою визначення оптимальної дози імуностимулятора ЕТР на організм курчат імунний статус вираховували за серологічними, біохімічними та імуноморфологічними показниками.

Для дослідження було сформовано 5 груп курчат породи білий легорн 14-добового віку по 10 голів у кожній групі, яким було введено інтраназально живу вірус-вакцину з штаму Ла-Сота проти ньюкаслської хвороби. Перша група була контрольною, курчата її були лише щеплені, другій групі курчат було введено ентерально ЕТР у дозі 0,1 см³, третій – 0,3 см³, четвертій – 0,5 см³, п'ятій – 0,7 см³, шостій – 0,9 см³.

Сироватки крові досліджували за загальноприйнятою методикою - реакцією затримки гемаглютинації (РЗГА). Визначення імуноглобулінів основних класів А, М, G у сироватці крові проводили у реакції простої радіальної імунодифузії в гелі за методом G.Mancini et al.

Імуноморфологічні дослідження проводилися на макроскопічному рівні та розраховували індекси тимуса, бурси Фабриціуса та селезінки.

Визначення оптимальної дози імуностимулятора ЕТР проводили на 14 добу після щеплення.

Результати досліджень. За результатами проведених досліджень (таблиця), найвищий титр антигемаглютининів у РЗГА був у шостій групі, де препарат ЕТР було введено в дозі 0,9 см³ і складав $7,64 \pm 0,04 \log_2$. У третій, четвертій та п'ятій групах цей показник становив відповідно $6,54 \pm 0,04 \log_2$, $7,58 \pm 0,03 \log_2$ та $7,60 \pm 0,06 \log_2$. Нижчим цей показник виявився у другій групі курчат, яким імуностимулятор був введений в дозі 0,1 см³ та складав $6,52 \pm 0,04 \log_2$.

У контрольній групі цей показник мав найменше значення – $5,2 \pm 0,02 \log_2$.

Отже, за результатами РЗГА досить ефективною імуностимулюючою дозою для курчат є 0,9 см³, але доза 0,5 см³ та 0,7 см³ є також імуностимулюючими, оскільки різниця між результатами четвертої, п'ятої та шостої групами є незначною.

Результати визначення імуностимулюючої дії ЕТР в залежності від дозування ($M \pm m$, $n=10$)

Критерії оцінки	Контроль	Доза ЕТР в см^3				
		0,1	0,3	0,5	0,7	0,9
	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група	6 група
Титр антигем-аглютининів, $\log_2$	$5,2 \pm 0,02$	$6,52 \pm 0,04^*$	$6,54 \pm 0,04^*$	$7,58 \pm 0,03^*$	$7,60 \pm 0,06^*$	$7,64 \pm 0,04^*$
Рівень IgG, $\text{мг}/\text{см}^3$	$8,42 \pm 0,02$	$8,42 \pm 0,02^*$	$8,98 \pm 0,012^*$	$9,02 \pm 0,014^*$	$9,06 \pm 0,012^*$	$9,12 \pm 0,013^*$
Рівень IgM, $\text{мг}/\text{см}^3$	$1,27 \pm 0,03$	$1,48 \pm 0,04^*$	$1,51 \pm 0,006^*$	$1,55 \pm 0,012^*$	$1,56 \pm 0,002^*$	$1,60 \pm 0,04^*$
Рівень IgA, $\text{мг}/\text{см}^3$	$0,60 \pm 0,011$	$0,61 \pm 0,012^*$	$0,62 \pm 0,011^*$	$0,63 \pm 0,02^*$	$0,64 \pm 0,014^*$	$0,65 \pm 0,012^*$
Індекс тимусу	$4,60 \pm 0,011$	$5,49 \pm 0,016^*$	$5,72 \pm 0,018^*$	$5,73 \pm 0,016^*$	$5,82 \pm 0,013^*$	$5,86 \pm 0,014^*$
Індекс бурси	$4,26 \pm 0,012$	$5,40 \pm 0,012^*$	$5,43 \pm 0,014^*$	$5,65 \pm 0,016^*$	$5,76 \pm 0,019^*$	$5,80 \pm 0,015^*$
Індекс селезінки	$1,30 \pm 0,02$	$1,38 \pm 0,05^*$	$1,40 \pm 0,06^*$	$1,42 \pm 0,05^*$	$1,41 \pm 0,04^*$	$1,41 \pm 0,03^*$
Жива маса, г	$229 \pm 3,21$	$232 \pm 2,8$	$236 \pm 4,42$	$248 \pm 3,58$	$256 \pm 4,28$	$258 \pm 4,56$

Примітка: $^* - P < 0,001$

Що стосується доз $0,1 \text{ см}^3$ та $0,3 \text{ см}^3$, то результати в групах з такими дозами значно відрізнялися за показниками рівня накопичення антитіл за даними РЗГА. Ці дози вважали менш ефективними.

За результатами біохімічних досліджень рівень IgG був вищий у шостій групі і склав $9,12 \pm 0,013 \text{ мг}/\text{см}^3$. Нижчим цей показник виявився у третій, четвертій та п'ятій групах, де він становив відповідно $8,98 \pm 0,012 \text{ мг}/\text{см}^3$, $9,02 \pm 0,014 \text{ мг}/\text{см}^3$ та $9,06 \pm 0,012 \text{ мг}/\text{см}^3$. У контрольній групі рівень IgG складав $8,42 \pm 0,02 \text{ мг}/\text{см}^3$, та у другій – $8,42 \pm 0,02 \text{ мг}/\text{см}^3$.

Рівень імуноглобуліну IgM у четвертій та п'ятій групах був майже однаковим і складав $1,55 \pm 0,012 \text{ мг}/\text{см}^3$ та $1,56 \pm 0,002 \text{ мг}/\text{см}^3$ відповідно. Вищий показник був у шостій групі – $1,60 \pm 0,04 \text{ мг}/\text{см}^3$. Нижчим цей показник виявився у другій та третій групі і склав відповідно $1,48 \pm 0,04 \text{ мг}/\text{см}^3$ та $1,51 \pm 0,006 \text{ мг}/\text{см}^3$. У контрольній групі рівень IgM дорівнював $1,27 \pm 0,03 \text{ мг}/\text{см}^3$.

Рівень IgA був найвищим у тій групі, де імуностимулятор вводився у дозі $0,9 \text{ см}^3$ і дорівнював $0,65 \pm 0,012 \text{ мг}/\text{см}^3$. Незначно нижчим цей показник у п'ятій групі курчат – $0,64 \pm 0,014 \text{ мг}/\text{см}^3$. У другій, третій та четвертій групах рівні IgA були майже однаковими і складали відповідно $0,61 \pm 0,012 \text{ мг}/\text{см}^3$, $0,62 \pm 0,011 \text{ мг}/\text{см}^3$ та $0,63 \pm 0,02 \text{ мг}/\text{см}^3$. У контрольній групі цей показник дорівнював $0,60 \pm 0,011 \text{ мг}/\text{см}^3$.

При проведенні досліджень по визначенню індексу тимуса, було встановлено, що цей показник був вищим у 6 групі і складав $5,86 \pm 0,014$. Незначно нижчим цей показник був у 5 групі і складав $5,82 \pm 0,013$. У третій та четвертій групах індекс тимуса складав відповідно $5,72 \pm 0,018$ та $5,73 \pm 0,016$. У контролі $4,60 \pm 0,011$.

Індекс бурси у контрольній групі був найменшим і складав $4,26 \pm 0,012$. У другій групі – $5,40 \pm 0,012$, у третій – $5,43 \pm 0,014$, у четвертій – $5,65 \pm 0,016$ та п'ятій – $5,76 \pm 0,019$. Найвищим цей показник був у шостій групі і складав $5,80 \pm 0,015$.

Індекс селезінки найвищим був вищим у курчат 4 групи і складав $1,42 \pm 0,05$. Незначно нижчими були результати у 5 та 6 групі і складли відповідно $5,80 \pm 0,015$ та $1,41 \pm 0,03$. У курчат 2 та 3 групи індекс селезінки складав відповідно $1,38 \pm 0,05$ та $1,40 \pm 0,06$. Та найнижчим цей показник був у курчат 1 групи і складав $1,30 \pm 0,02$.

Проведеними досліднями встановлено позитивний вплив імуностимулятора ЕТР на продуктивність курчат. Приріст живої маси піддослідних курчат корелював зі збільшенням дози застосованого імуностимулятора.

За результатами проведених досліджень щодо встановлення оптимальної дози ЕТР при щепленні, доза 0,1 см³ викликає лише незначні зміни в імунокомпетентній системі, але є позитивні зміни у порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, дозу 0,5 см³ треба вважати оптимальною, виходячи з економного використання матеріалу та отриманих показників. Дози 0,7 см³ та 0,9 см³ можуть бути застосовані за умови достатньої кількості ЕТР.

Висновки:

1. За широким розповсюдженням імунодефіцитів виникла необхідність застосування імуностимулюючих препаратів, оскільки імунокомпетентна система курчат, особливо добового віку, є ще недостатньо сформованою і відповідно, вона не може повноцінно функціонувати і можуть виникати імунодефіцитні стани.

2. За результатами серологічних досліджень, досить ефективною імуностимулюючою дозою для курчат є доза 0,9 см³, але дози 0,5 см³ та 0,7 см³ є також імуностимулюючими, оскільки різниця між результатами четвертої, п'ятої та шостої групами є незначною, і титр антигемаглютининів відповідно складав в четвертій групі – $7,58 \pm 0,03 \log_2$, в п'ятій – $7,60 \pm 0,06 \log_2$ та шостій групі – $7,64 \pm 0,04 \log_2$.

3. За результатами біохімічних досліджень виявили, що кращі рівні IgG, Ig M та Ig A були у курчат 6 групи, які отримували імуностимулятор у дозі 0,9 см³ і складали відповідно $9,12 \pm 0,013 \text{ мг/см}^3$, $1,60 \pm 0,04 \text{ мг/см}^3$ та $0,65 \pm 0,012 \text{ мг/см}^3$. Але дози 0,5 см³ та 0,7 см³ є також імуностимулюючими, оскільки різниця показників 4-, 5- та 6-ї груп була незначною.

4. За результатами імуноморфологічних досліджень індекси лімфоїдних органів, підвищувалися зі збільшенням дози імуностимулятора. Відмічено, що дозу 0,5 см³ у курчат 4-ї групи слід вважати оптимальною, тому що подальше збільшення дози було менш ефективним, хоч невеликий приріст цих показників спостерігався у курчат 5- та 6-ї груп відповідно.

REFERENCES

1. Burdeinyi, R., Hrinchenko, D., Severyn, R., & Hontar, A. (2023). Vyvchennia imunostymuliuiuchoi dii ekstraktu trutnevoho rozplodu (ETR) pry shcheplenni kurchat proty niukaslskoi khvoroby. *One Health Journal*; 1(1):53–56. <https://doi.org/10.31073/onehealthjournal2023-1-06>.
2. Ahmad. S., Graça. M., Fratini. F., Altaye. S. and Li. J. (2020) New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. *Int. J. Mol. Sci.*; 21(2):1-26. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21020382>
3. Bagheri S, Mitra T, Paudel S, Abdelhamid MK, Könnnyü S, Wijewardana V, Kangethe RT, Cattoli G, Lyrakis M, Hess C, Hess M & Liebhart D. (2023) Aerosol vaccination of chicken pullets with irradiated avian pathogenic *Escherichia coli* induces a local immunostimulatory effect. *Front Immunol*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1185232>.
4. Bazekin. G., Skovorodin. E., Dolinin. I., Gatiyatullin. I., Chudov. I. and Ezhkova. A. (2021). The Effect of new immunostimulants of tissue and plant origin on the morphological characteristics of the immune system's central organs and the dynamics of serum immunoglobulins. *Adv. Anim. Vet. Sci.*; 9(11):1800-1809. doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.11.1800.1809>
5. Bhadouriya S, Sharma BK, Kakker NK, Chhabra R. (2019). Toll like receptors and cytokines as immunostimulatory adjuvants in poultry vaccines: current status and future trends. *World's Poultry Science Journal*; 75(3):417-428. <https://doi.org/10.1017/S0043933919000242>.
6. Hasted Teri-Lyn, Sharif Shayan, Boerlin Patrick & Diarra Moussa Sory. (2021) Immunostimulatory Potential of Fruits and Their Extracts in Poultry. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.641696>.
7. Talazadeh, F., Mayahi, M., & Fathi, M. (2022). Evaluation of immunostimulatory effects of a commercial herbal extract on avian influenza subtype H9N2 and Newcastle disease vaccination in

chickens. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*; 73(2):4023–4030. <https://doi.org/10.12681/jhvms.26157>.

8. Lin SY, Yao BY, Hu CMJ, Chen HW. (2020). Induction of Robust Immune Responses by CpG-ODN-Loaded Hollow Polymeric Nanoparticles for Antiviral and Vaccine Applications in Chickens. *Int J Nanomedicine*; 15:3303–3318. <https://doi.org/10.2147/IJN.S241492>.

9. Ali, M.F., Abdel Hafez, M.S. & Mohamed, M.A. (2019). The ameliorating effect of some immune-stimulants on bursal and tracheal lesions of broiler chickens challenged with ND virus. *JoBAZ*; 80:4. <https://doi.org/10.1186/s41936-019-0073-7>.

DETERMINATION OF THE OPTIMAL IMMUNOSTIMULATORY DOSE OF ETR FOR CHICKENS

Bourdeiniy R. A. (ORCID 0009-0007-2330-0777), **Hrinchenko D. M.** (ORCID 0000-0001-7617-1576), **Severyn R. V.** (ORCID 0000-0003-2217-8582), **Salamashenko A. S., Domashych K. A.**

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine,
e-mail: grinchencodimamycol@gmail.com

Abstract. *The immunocompetent system of chickens, especially day-old chicks, is not yet sufficiently formed and, accordingly, it cannot fully function and immunodeficiency conditions may occur. The use of immunostimulants is promising for the treatment of immunodeficiency states, as they increase the immune status of the body, strengthen natural resistance and reduce the loss of livestock, especially young animals. In addition, the use of immunostimulants makes it possible to strengthen the immune response when vaccinating livestock. The ETR immunostimulator developed by us contains many essential amino acids, enzymes, fat- and water-soluble vitamins and trace elements. In previous studies, we prepared the ETR preparation using a special method and established its immunostimulating effect during the vaccination of chickens against Newcastle disease. In this work, the optimal immunostimulating dose of drone brood extract (ETR) was determined when vaccinating chickens against Newcastle disease. In order to determine the optimal dose of ETP immunostimulator for the body of chickens, the immune status was calculated based on serological, biochemical and immunomorphological indicators. For the study, 5 groups of 14-day-old Leghorn chickens, 10 heads in each group, were formed, which were injected intranasally with a live vaccine virus from the La Sota strain against Newcastle disease. The first group was a control, its chickens were only vaccinated, the second group of chickens was injected enterally with ETR in a dose of 0,1 cm³, the third – 0,3 cm³, the fourth – 0,5 cm³, the fifth – 0,7 cm³, the sixth – 0,9 cm³. According to the results of serological studies, a fairly effective immunostimulating dose for chickens is a dose of 0,9 cm³, but doses of 0,5 cm³ and 0,7 cm³ are also immunostimulating, since the difference between the results of the fourth, fifth and sixth groups is insignificant, and the titer of antihemagglutinins respectively, it was 7,58±0,03 log₂ in the fourth group, 7,60±0,06 log₂ in the fifth group, and 7,64±0,04 log₂ in the sixth group. According to the results of biochemical studies, it was found that the best levels of IgG, Ig M and Ig A were in chickens of group 6, which received an immunostimulant in a dose of 0,9 cm³ and were, respectively, 9,12±0,013 mg/cm³, 1,60±0,04 mg/cm³ and 0,65±0,012 mg/cm³. But doses of 0,5 cm³ and 0,7 cm³ are also immunostimulating, since the difference in the indicators of the 4-th, 5-th and 6th groups was insignificant. According to the results of immunomorphological studies, the indices of lymphoid organs increased with an increase in the dose of the immunostimulator. A dose of 0,5 cm³ in chicks of the 4-th group should be considered optimal, because further increases in the dose were less effective, although a small increase in these parameters was observed in the chicks of the 5-th and 6-th groups.*

Keywords: drone brood extract, immunostimulant, chickens, Newcastle disease, optimal dose.

DOI: 10.31073/onehealthjournal2024-I-01