

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ АКТИВНО ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ ПРЕПАРАТУ «АВЕССТИМ» У СИРОВАТЦІ КРОВІ, М'ЯСІ ТА ОРГАНАХ ПТИЦІ

І. В. Бушуєва, к.мед.н., доцент, Запорізький державний медичний університет
Г. А. Фотіна, к.вет.н., доцент, Сумський національний аграрний університет
О. І. Панасенко, д.мед.н., професор, Запорізький державний медичний університет
Є. Г. Книш, д.мед.н., професор, Запорізький державний медичний університет
А. В. Березовський, д.вет.н., професор, Сумський національний аграрний університет

В статті наведені данні про те що введення препарату «Авесстим» дослідним групам курчат (оральне із розрахунку 0,5 мл на 1 літр води) щоденно, впродовж 5-ти діб, не мало негативного впливу на видимий клінічний стан птиці. Діюча речовина експериментального препарату «Авесстим» стимулює розвиток імунокомпетентних органів птиці, що забезпечує зростання імуномодельючої активності препарату. Через 12 годин після введення препарату «Авесстим» в досліджуваних дозах, як після першого, так і після наступних введень, не встановлено залишкових концентрацій діючої речовини препарату у сироватці крові, м'ясі та деяких органах птиці.

Ключові слова: курчата, кури-несучки, препарат «Авесстим», імуностимуляція, специфічна імунопрофілактика.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Численні повідомлення дослідників з різних країн, дають підставу висловити узагальнення про те, що здоров'я курей-несучок формується у перші три місяці вирощування курчат. При цьому найбільш критичний стан спостерігається у перші два тижні життя, впродовж яких виділяють два переломних (фізіологічних) періоди у курчат, обумовлених віковими імунодефіцитами. Перший – це 4-та і 5-та доби постнатального розвитку, пов'язаний з тим, що відбувається розсмоктування жовткового мішка, який служить головним органом кровотворення і лімфопоєзу в ембріональний період розвитку. Другий – це 14-та і 15-та доби життя, пов'язаний з розпадом оваріальних імуноглобулінів курки-несучки і морфо функціональної незрілістю імунної системи курчат цього віку [7, 8, 10, 11]. Необхідно відзначити, що саме в цей час курчата ще переносять значні антигенні навантаження за рахунок вакцинацій [1, 9, 10].

У зв'язку з цим використання імуностимуляторів, імуномодуляторів та інших біологічно активних речовин, є перспективним напрямком для створення напруженого противірусного імунітету, стимуляції неспецифічної резистентності організму птиці, зниження поствакцинальних ускладнень, підвищення збереження та продуктивності молодняку курей яйценосних порід [1, 7, 8, 10].

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми. Впродовж останній трьох років спеціалісти кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету, спільно з науковцями НВФ «Бровафарма», проводять широко планові експерименти по відпрацюванню схем та оптимальних доз експериментального препарату

«Авесстим», в якості імуномодулюючого засобу для посилення специфічної імунопрофілактики [2-6].

Зв'язок з важливими науковими і практичними завданням. Робота є складовою частиною ряду експериментальних досліджень кафедри ветеринарно-санітарної експертизи, мікробіології, зоогієни та якості і безпеки продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету, а саме: № ДР 0109U008171 «Оцінка ефективності застосування сучасних антисептиків та дезінфектантів для отримання екологічно-чистої та якісної продукції тваринного походження» (2009 – 2014 рр.).

Мета роботи. Метою наших досліджень було з'ясування термінів виведення залишків діючої речовини препарату «Авесстим» із м'язів та органів курчат, при застосуванні препарату відповідно схеми та рекомендованих доз в процесі проведення вакцинацій.

Матеріали і методи досліджень. В досліді використано півників 56 - добового віку породи «Ломан білий», середньою масою тіла 980 г (мін-мах60 г) та експериментальний препарат «Авесстим» з вмістом 2% морфоліній 2-[5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо] ацетатув якості АДР (активно діючої речовини), виготовленого в НВФ «Бровафарма», експериментальна серія №4.

Після адаптаційного періоду (5 діб) було сформовано 3 групи курчат по 7 голів. Напочатку досліді півників зважували на вагах, із похибкою 10 г, після чого здійснювали відбір крові для отримання сироватки.

Першу групу курчат залишали для контролю. Другий та третій дослідній групам вводили препарат «Авесстим» (оральне з водою із розрахунку 0,5 мл на 1 літр води) - що відповідно Листівки-вкладки виробника, адекватне добовій

дозі препарату для птиці. Птицям другої і третьої груп випоювали такий розчин щодобово впродовж 5 діб, після чого продовжували поїти водою без препарату. Через 3, 6, 12, 15, 18, 24, 30, 33, 36, 40, 44 та 48 години після першого введення препарату вибірково проводили зважування, відбір крові та забій птиці. Уведення сполуки було оцінено за впливом на масу тіла та органів (Фабрицієва бурса, тимус, селезінка). Бурсальний, селезінковий та тимусний індекси визначали за формулою:

$I = (w/M) \times 1000$, де: I – індекс; m – маса органу; M – маса тіла птиці;

Визначення препарату «Авесстим» у сироватці крові. Забір крові здійснювали у кількості 1 мл, вміщували у пробірку Еппендорфа, та центрифугували при 5000 об/хв продовж 10 хв. Потім 0,5 мл сироватки, вільної від формених елементів крові, вміщували в центрифужну пробірку, додавали 9,0 мл етанолу та центрифугували при 5000 об/хв. ще продовж 10 хв. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали при довжині хвилі 281 нм. В якості компенсаційного розчину використовували зразок сироватки, що не містив АДР (від птиць контрольної групи). Паралельно вимірювали оптичну густину розчину порівняння з концентрацією 1,00 мг у 100 мл. Розрахунок вмісту діючої речовини в 1 мл сироватки крові проводили за формулою:

$$C_{\text{мг/1мл}} = \frac{A \times C_0 \times 10,00}{A_0 \times 0,50 \times l \times 100}$$

де: A – оптична густина досліджуваного розчину; A_0 – оптична густина розчину порівняння; C_0 – концентрація спектрофотометрованого розчину порівняння «Авесстиму» (1,0 мг у 100 мл); l – товщина шару, см.

Методика кількісного визначення препарату «Авесстиму» в сироватці крові. До 1,0 мл сироватки крові, вільної від лікарських речовин, додавали від 1,0 до 2,0 мг препарату «Авесстим». Для депротеїнізації зразків додавали метанол до 5 мл. Перемішували близько 1 хв. та центрифугували при 5000 об/хв. продовж 10 хв. Після чого 1,0 мл центрифугату вміщували в мірну колбу та доводили дистильованою водою до відмітки 25,0 мл. Оптичну густину вимірювали на фоні води дистильованої при довжині хвилі 281 нм. Паралельно проводили визначення з 1,0 мл 0,01% розчину порівняння препарату «Авесстим», який готували шляхом розчинення точної наважки АДР у воді дистильованій.

Розрахунок вмісту АДР в 1 мл сироватки крові проводять за формулою:

$$C_{\text{г/1мл}} = \frac{A \times C_0 \times 5,00 \times 25,00}{A_0 \times p \times 1,00 \times l \times 100}$$

Валідація методики. Для встановлення специфічності аналізували УФ- спектри

поглинання сироватки крові, вільної від лікарських речовин, і сироватки, що містила відому кількість препарату «Авесстим». Лінійність оцінювали у межах концентрацій 1,0 - 2,0 мг/100 мл препарату. Для цього проводили визначення семи зразків сироватки крові, що містили відому кількість препарату «Авесстим». За даними будували графіки залежності оптичної густини від концентрації АДР експериментального засобу. Правильність та збіжність встановлювали шляхом проведення трьох визначень кожного з семи зразків сироватки крові з відомим вмістом препарату «Авесстим». Збіжність оцінювали за RSD , яке не повинно перевищувати 15%. Правильність оцінювали за відхиленням результатів визначень препарату «Авесстим» у сироватці крові від номінального значення. Середнє відхилення у відсотках RE має бути $\pm 15\%$.

Селективність. УФ - спектри поглинання сироватки крові, вільної від лікарської речовини, та сироватки, що містила відому кількість препарату «Авесстим» наведені на рис. 1. Відсутність поглинання сироватки крові в області 281 нм, де поглинає речовина препарату, підтверджує можливість визначення препарату у сироватці крові прямою УФ-спектрофотометрією,

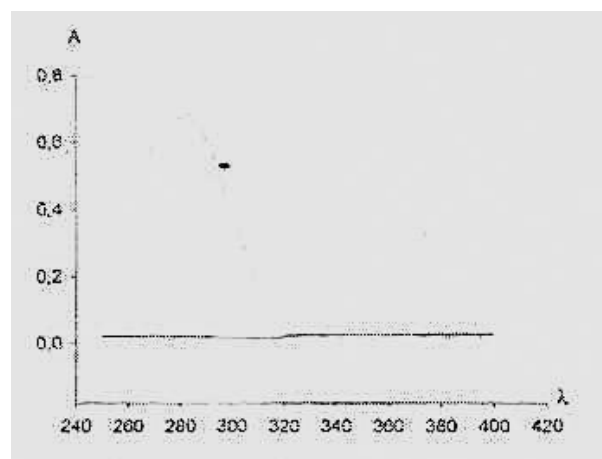


Рис. 1. Спектри поглинання сироватки крові, вільної від лікарської речовини (1), сироватки, що містила відому кількість препарату «Авесстим».

Визначення препарату «Авесстим» в сироватці крові курчат. За визначення механізмів дії речовини був проведений аналіз залишкових концентрацій АДР у сироватці крові курчат. На спектрах поглинання зразків сироватки крові, одержаних після введення розчину препарату «Авесстим» через 24 години та 48 годин, не було зареєстровано характерної смуги поглинання при 273 нм (рис.2), що може свідчить про відсутність діючої речовини у сироватці крові.

Після дослідження спектрів сироватки крові, яку отримали в інтервалах 3, 6, 12, 15, 18, 24, 30, 33, 36, 40, 44 та 48 години після введення препарату, встановили, що на спектрах поглинання зразків сироватки крові, одержаних

після введення розчину препарату «Авесстим» (інтервал 24 години) не було зареєстровано характерної смуги поглинання при 281 нм (рис. 2),

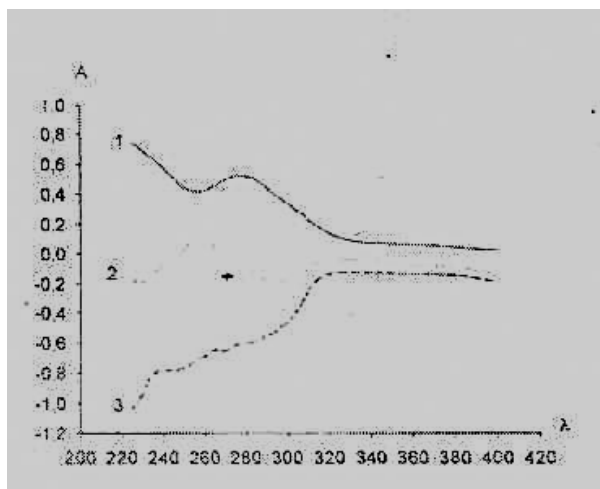


Рис. 2. Спектри поглинання:

- 1 – розчину порівняння препарату «Авесстим»;
- 2 – зразок сироватки крові (інтервал 24 години) після введення розчину препарату «Авесстим»;
- 3 – зразок сироватки крові (інтервал 48 години) після введення розчину препарату «Авесстим».

що може свідчити про відсутність діючої речовини у сироватці крові. Подальші дослідження не виявили наявності діючої речовини. В подальшому було досліджено кров та деякі органи птахів. Для підрахунку еритроцитів у пробірку вносили 4 мл 0,9 % розчину натрію хлориду і додавали по 0,02 мл крові та перемішували. Клітини підраховували в рахунковій камері Горяєва за загальноприйнятим методом. Кількість еритроцитів обчислювали за формулою:

$$X = \frac{a \times 4000 \times 200}{80}$$

X – число еритроцитів у 1 мм крові;
 a – загальна кількість клітин у 80 квадратах;
 200 – ступінь розведення крові.

Підрахунок тромбоцитів проводили за схемою: у пробірку вносили по 0,4 см³ 0,01 % розчину метилвіолету на основі 0,9 % розчину натрію хлориду, а потім додавали 20 мм³ крові, перемішували та ставили в термостат за температури 37°C на 15 хвилин. Підрахунок тромбоцитів проводили в камері Горяєва у 100 великих квадратах, із використанням об'єктива - х 40. Для підрахунку лейкоцитів використовували рідину Тюрка. Кількість тромбоцитів та лейкоцитів обчислювали за формулою:

$$X = \frac{a \times 250 \times 20}{100}$$

X – число лейкоцитів (тромбоцитів) в 1 мм³ крові;
 a – загальна кількість клітин у 100 великих квадратах;
 20 – ступінь розведення крові.

Лейкограму виводили методом розрахунку в мазках крові пофарбованих за Паппенгеймом. На нефіксований мазок наносили 2 см³ фарби Май-Грюнвальда на 3 хв., потім додавали 2 см³ дистильованої води. Через 2 хвилини фарбу зливали та наносили 2 см³ розчину азур-еозину. Препарати витримували на впродовж 15 хв., промивали у проточній воді та висушували. Рівень гемоглобіну у крові встановлювали за допомогою гемометра Салі. Після встановлення рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у крові розраховували кольоровий індекс крові за формулою:

$$J = \frac{NR \times Hb}{NHb \times R}$$

J – кольоровий індекс;
 NR – середня кількість еритроцитів у даного виду (Т/л);
 NHb – середня кількість гемоглобіну в даного виду (г/л);
 Hb – встановлена кількість гемоглобіну (г/л);
 R – встановлена кількість еритроцитів (Т/л).

Швидкість осідання еритроцитів вивчали за допомогою уніфікованого мікрометоду Панченкова. Для цього капіляр з апарату Панченкова відбирали по 50 мм³ (до мітки Р) 5 % розчину цитрату натрію і видували у пробірку. Потім два рази капіляр набирали по 100 мм³ (до мітки К) крові видували її у пробірку з розчином та перемішували. Після чого отриману суміш набирали до мітки К та встановлювали капіляр у штатив Панченкова. Через одну годину враховували швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) за висотою стовпчика еритроцитів та виражали в міліметрах.

При дослідженні фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові використовували завісь мікробної культури мікрококусу. При цьому у пробірку наливали 0,9 см³ стабілізованої крові і додавали 0,1 мл завісі мікробної культури (1 млрд. за оптичним стандартом мутності). Потім перемішували та витримували в термостаті за температури 37°C впродовж 30 хв. Під час інкубації періодично струшували. Після контакту клітин з мікробною культурою центрифугували при 1500 об/хв. продовж 5 хв. Плазму крові відсмоктували, а з осаду готували мазки. Потім мазки фіксували у 96 % етиловому спирті продовж 20 хв., висушували та фарбували азур-еозином. Оцінку фагоцитарної реакції проводили за такими показниками: 1 – відсоток фагоцитуючих клітин по відношенню до загальної кількості нейтрофільних лейкоцитів (ФП); 2 – фагоцитарне число (ФЧ) – середнє число фагоцитованих мікробів, яке припадає на один активний фагоцит.

Проводили тест відновлення нітросинього тетразолію (НСТ - тест) у мазках крові. Реакція ґрунтується на відновленні нітросинього тетразолію при його взаємодії з активованим

нейтрофілом. Імунологічні дослідження крові проводили з визначенням Т і В - лімфоцитів методом розеткоутворення із еритроцитами барана згідно методики за Jondaly модифікації А.Н. Чередєєвої та співавторів. Виділення лімфоцитарної фракції крові проводили за методом Војум, М. Н. Wansbrough- Jones. При визначенні загальної кількості: Т - лімфоцитів звертали увагу на кількість еритроцитів, що приєдналися впродовж 40 - 60 хв. Кількість В - лімфоцитів визначали за методом N. F. Mendes, у модифікації А. Н. Чередєєвої, комплементарним розеткоутворенням з еритроцитами барана, що містять активні компоненти. Кількість О - клітин підраховували при відніманні від 100 % суми лімфоцитів загальної кількості Т - лімфоцитів та В - лімфоцитів. Активні Т - лімфоцити ідентифікували як клітини з загального складу Т - лімфоцитів, які утворюють розетки з еритроцитами барана в системі Е-акт - РУК за методом Asmituta ін. (1995 р.). Активні розетки утворюються протягом 10 хв. при певному співвідношенні кількості еритроцитів барана та лімфоцитів без інкубації і центрифугування. Визначення кількості теофілінчутливих (Т - супресорів) та резистентних до дії теофіліну (Т - хелперів) клітин виконували за методом М.Н. Wansbrough- Jonesta S. Limatibu (1995 р.). Кількість теофілін - чутливих Т-клітин з переважно супресивною активністю визначали шляхом віднімання теофілін - резистентних Т-клітин із загальної кількості Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ГРІ) розраховували як співвідношення Т-хелперів до Т-супресорів. Термостабільні Т-лімфоцити ідентифікуються як клітини з загальної кількості Т-лімфоцитів, які утворюють розетки з еритроцитами барана при 37°С за методом А. Н. Чередєєва. Загальний рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та їх фракційний склад за молекулярною масою визначали методом преципітації з 3,5 % розчином поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 Д (ПЕГ – тест ОП280). Суть методу полягає у здатності розчину ПЕГ осаджувати імунні комплекси агреговані імуноглобуліни і сироватки крові. Зміни щільності розчину реєстрували на фотоелектричному концентраційному колориметрі КФК-2 МП проти фосфатного буферу при довжині хвилі 449 нм. Рівень ЦІК виражали в одиницях оптичної щільності.

Статистична обробка отриманих результатів. Статистичну обробку отриманих даних проводили на комп'ютерному комплексі за

допомогою електронних таблиць Microsoft Excel XP Professional. Середню арифметичну величину M розраховували за формулою:

$$M = \frac{\sum V}{n}$$

V – значення ознаки у кожної особини в групі;

\sum – знак суми;

n – загальна кількість особин в групі.

Середнє квадратичне відхилення δ :

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum V^2 - \frac{(\sum V)^2}{n}}{n - 1}}$$

$\sum V^2$ – сума квадратів значень ознак;

n – загальна кількість особин в групі;

$n - 1$ – число ступенів свободи;

$(\sum V)^2$ – квадрат суми.

Значення помилки середньої арифметичної

m :

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}}, \text{ де:}$$

Критерій вірогідності t_d

$$t_d = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_{M_1}^2 - m_{M_2}^2}}$$

M_1 та M_2 – середні арифметичні відповідно першого та другого варіаційних рядів;

$m_{M_1}^2$ – квадрат помилки середньої арифметичної першого варіаційного ряду;

$m_{M_2}^2$ – квадрат помилки середньої арифметичної другого варіаційного ряду.

Ознаку вважали: - слабовірогідною (*) якщо $t_d \geq 2,101$, то рівень вірогідності $P \leq 0,05$ (95%); - середньовірогідною (**) якщо $t_d \geq 2,878$, то $P \leq 0,01$ (99%); - високовірогідною (***) якщо $t_d \geq 3,920$, то $P \leq 0,001$ (99,9%).

Імунологічні показники на початку досліджень знаходилися у межах фізіологічних параметрів для даного віку птиці (табл. 2). Вже через 12 годин після введення курчатам сполуки зареєстровано деякі відмінності гематологічних показників відносно контролю. Кількість еритроцитів відносно контрольної групи курчат в усіх групах через 12 годин після введення сполуки вірогідно знизилася. Так у групі №2 відмічали зниження абсолютної кількості еритроцитів на 0,89 тис./мкл. ($p < 0,001$), у групі №3 встановлено зниження на 0,72 тис./мкл. ($p < 0,001$). Вірогідне зниження кількості гемоглобіну відбувалося у курчат обох дослідних груп, відносно контролю, на 17,1 та 19,1; г/л відповідно.

Результати власних досліджень.

Введення препарату «Авесстим» курчатам за вибраною схемою не мало негативного впливу на видимий клінічний стан птиці (табл. 1).

Таблиця І

Показники маси тіла та органів курчат у динаміці після введення препарату «Авесстиму» ($M \pm t$, $n=3$)

Показники	Групи курчат		
	контроль (перша група)	друга група	третья група

	(0,9 % фізіологічний розчин)		Авесстим, 2 % (0,01 мг/мл)		Авесстим, 2% (0,01 мг/мл)	
	введення сполук					
Абсолютна маса курчат, г	93,66±8,29	122,7±14,43	96,336±,4	118,3±10,36	101,3±9,68	114,71±0,171
бурса Фабриціуса						
Абсолютна : маса, г	0,068±0,01	0,062±0,002	0,06±0,01	0,061±0,004	0,07±0,007	0,068±0,002
Відносна маса, %	0,07±0,008	0,052±0,007	0,070±,008	0,05±0,0	0,069±0,0038	0,057±0,004
Індекс	0,72 ± 0,08	0,52 ± 0,07	0,62±0,04	0,51 ±0,01	0,70±0,04	0,6±0,03
тимус						
Абсолютна маса, г	0,61 ±0,028	0,78±0,14	1,21±0,11	0,8±0,13	0,71±0,046	0,81±0,07
Відносна маса, %	0,65±0,01	0,62±0,05	1,17±0,16	0,67±0,06	0,71±0,08	0,71±0,096
Індекс	6,56±0,028	6,24±0,49	11,69±1,1	6,2±0,6	7,16±0,78	7,16±0,96
селезінка						
Абсолютна маса, г	0,044±0,003	0,047±0,001	0,048±0,0026	0,045±0,002	0,043±0,003	0,046±0,001
Відносна маса, %	0,047±0,001	0,039±0,004	0,049±0,001	0,041±0,004	0,043±0,002	0,04±0,003
Індекс	0,47±0,02	0,39±0,04	0,5±0,01	0,38±0,015	0,43±0,02	0,4±0,027

На початку експерименту маса тіла курчат у дослідних групах не мала різниці з масою курчат контрольної групи. При цьому маса курчат контрольної групи склала 985±20 г, у групі №2 – 1015±24 г та у групі №3 – 1000±22 г. Через 24 години після першого введення сполук також не виявлено вірогідної різниці абсолютної маси курчат між дослідними групами. Водночас у 2-й групі зареєстроване незначне підвищення цього показника (на 15,0 г), у порівнянні з контролем. В цей же час встановлено вірогідне підвищення (P<0,001) абсолютної маси бурси Фабриціуса. Після введення препарату «Авесстим» вірогідно (P<0,001) підвищилася абсолютна та відносна маса тимусу. Вірогідну різницю (P<0,001) мав індекс тимусу відносно контролю. В 2-й та 3-й групі вірогідно вищою (P<0,001) була абсолютна та відносна маса селезінки. Після 5-ї доби введення сполуки абсолютна маса курчат у групах не відрізнялася. Проте відбувалося

підвищення абсолютної та відносної маси бурси Фабриціуса, індексу бурси Фабриціуса у групі №2 (P<0,001). Відносна маса тимусу була вищою (P<0,001) в обох дослідних групах по відношенню до контролю. Також збільшилася відносна маса селезінки (P<0,001) птиць із груп №2 та №3. Індекс селезінки в 2-й групі вірогідно відрізнявся від контролю. Зниження кількості тромбоцитів виявлене у курчат відносно контролю на 17 тис./мкл. (p<0,001). Кількість лейкоцитів у групі контролю була вищою за показник у дослідних групах курчат (p<0,001), при цьому найбільша різниця виявлена у групі №2. Кольоровий індекс вірогідно знизився (p<0,001) у групі 2 відносно контролю, тоді як у 3-й групі не відбувалося вірогідних коливань. У 2-й та 3- й групі вірогідно знизився рівень еозинофілів (p<0,001) відносно контрольної групи. Підвищення показника відбувалося на 2,1 та 1,5 % відносно групи контролю (табл.2).

Таблиця 2

**Гематологічні показники курчат
через 12 годин після закінчення введення препарату, (n=10)**

Показники крові	Група №1 (контроль)	Дослідна група №2	Дослідна група №3
Еритроцити, Т /л	3,51±0,07	2,62±0,09***	2,79±0,02***
ШОЕ, мм / год.	2,9±0,28	3,5±0,43	2,8±0,29
Гемоглобін, г/л	108,6 ± 1,01	91,5 ±0,76***	89,5± 1,17***
Тромбоцити, Г/л	80 ± 5,16	61,4 ±5,37	57,0 ± 3,27
Лейкоцити, Г /л	18,3 ±0,15	13,5 ± 0,48***	15,9 ± 0,5***
Кольоровий індекс	0,89 ±0,01	0,79 ± 0,01	0,82 ± 0,01***
Лімфоцити, %	64,5 ± 1,38	63,6 ±0,58	64,9 ± 0,35
Базофіли, %	0,3±0,15	0,5±0,17	0,3±0,15
Моноцити, %	2,3±0,15	3,8±0,13	4,4±0,27
Еозинофіли, %	2,0±0	1,4±0,16***	4,1 ±0,23
Псевдоеозинофіли, %	30,9± 1,53	30,7±0,45	26,3±0,75*

*- порівняно до контрольної групи курчат

Контроль імунологічних показників курчат через 12 годин після введення сполуки (табл. 3) виявив зниження загальної кількості Т-лімфоцитів, порівняно до контрольної групи, (p

<0,01). Кількість Т- супресорів була нижчою в усіх дослідних групах відносно контролю (p < 0,01). Вірогідне збільшення кількості Т- 0 клітин відбулося в групі №3 – p <0,01.

Таблиця 3

**Імунологічні показники курчат
через 12 годин після закінчення веденняпрепарату (n=10)**

Показники	Група №1, контроль	2 дослідна група	3 дослідна група
T - загальні, %	42,2±0,42	35,1±0,81	35,7±0,52**
T - хедгіери, %	27,7±0,4	24,8±0,42	25,8±0,47
T - еупресори, %	4,5 ±0,43	10,3±0,52**	10,2±0,29**

<i>T</i> - нульові, %	38,6±0,7	48,8±0,74**	47,6±0,65**
<i>IPI</i> , ум.од.	1,9±0,07	2,43±0,073	2,7±0,06
<i>B</i> - загальні, %	19,2±0,33	16,1 ±0,23	16,7±0,26
великомолекулярні	3,2±0,84	2,4±0,26	4,5±0,4
середньомолекулярні	6,7±0,15	4,6±0,58**	13,8±0,95**
дрібномолекулярні	10,8±1,08	12,2±0,59	24,4±2,96***
Фагоцитарна активність, %	60,0±0	66,0±0,67**	65,0±2,11**
Фагоцитарне число, од.	3,7±0,05	2,4±0,26	4,5±0,4*

Примітки: - слабовірогідно (*) якщо $t_d > 2,101$, то рівень вірогідності $P < 0,05$ (95%);
- середньовірогідною (**) якщо $t_d > 2,878$, то $P < 0,01$ (99%);
- високовірогідною (***) якщо $t_d > 3,920$, то $P < 0,001$ (99,9%).
• порівняно до контрольної групи курчат.

При цьому виявлено зниження кількості В-лімфоцитів відносно контрольної групи курчат, але тільки у курчат 3-ї групи цей показник мав вірогідну різницю ($p < 0,1$). Підвищення середньомолекулярних ІДІК ($p < 0,01$) відбулося в усіх дослідних групах, порівняно до контролю. Вірогідне підвищення рівня дрібно молекулярних ЦІК зареєстровано у групах курчат №2 та №3 ($p < 0,001$) порівняно до контролю. Встановлено стимуляцію фагоцитарної активності нейтрофілів в усіх групах ($p < 0,01$). Число фагоцитованих клітин було вище в дослідних 2-й та 3-й групах ($p < 0,1$) та нижче в 1-й контрольній групі.

Для виявлення можливих залишкових концентрацій діючої речовини у м'ясі та органах птиці було досліджено проби білого (грудинка), червоного (окорок) м'яса, печінки та нирки. Дослідження кожної проби проводили окремо. Після гомогенізації проби, дослідження зразку проводили за загальною методикою хіміко-токсикологічного аналізу (за В.І. Крамаренка). Спектрофотометричне вивчення екстракту свідчить про відсутність діючої речовини в об'єктах дослідження. За результатами досліджень слід зазначити, що сполука є нетоксичною та не накопичується у сироватці крові, м'ясі та органах птиці впродовж дослідженого терміну, зумовлюють позитивний вплив на резистентність курчат.

Висновки

1. Діюча речовина експериментального препарату «Авесстим» у концентрації 0,01 мг/мл, при пероральному введенні птиці з питною водою є нетоксичною сполукою, вона стимулює розвиток імунокомпетентних органів птиці, що позитивно впливає на імуномодельючу активність препарату.

2. Доведено, що вже через 12 годин після введення препарату «Авесстим» в досліджуваних дозах, як після першого, так і після наступних введень, не встановлено залишкових концентрацій діючої речовини сполуки у сироватці крові, м'ясі та деяких органах птиці.

Список використаної літератури:

1. Алиева А. К. Иммунобиологические свойства живых вакцины против инфекционной бурсальной болезни птиц / А. К. Алиева, В. И. Смоленский // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 4. – С. 16-18.
2. Березовський А.В. Вплив препарату Авестим™ на резистентність курчат-бройлерів / А.В. Березовський, Г.А. Фотіна // Науково-технічний бюлетень. – Львів, 2012. – Вип. 13. - №1-2. – С. 378-381.
3. Березовський А.В. Застосування препарату Авесстим™ для підвищення ефективності вакцинопрофілактики ремонтного молодняку яйценосних курей / А.В. Березовський, Г.А. Фотіна, О.М. Олефір // Птахівництво: Міжвід. тем. наук. зб. – Харків, 2012. – Вип. 69. – С. 155-160.
4. Березовський А.В. Використання препарату Авесстим™ з метою підвищення резистентності курчат у виробничих умовах / А.В. Березовський, Г.А. Фотіна, О.М. Олефір // Науковий вісник Сумського НАУ. – Суми, 2013. – Вип. 1 (32). – С. 41-43.
5. Березовський А.В. Визначення оптимальної дози препарату Авесстим™ та його вплив на організм курчат / А.В. Березовський, Г.А. Фотіна, О.М. Олефір // Птахівництво. – Харків, 2013. – Вип. 69. – С. 34-40.
6. Березовский А.В. Воздействие препарата «Авесстим» на формирование поствакцинального иммунитета цыплят-бройлеров / А.В. Березовский, А.А. Фотина, А.Н. Олефир // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири – Улан-Уде: Издательство БГСХА, 2013. – Ч. 2. – С. 118-121.
7. Бирман Б.Я. Иммунодефициты у птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск: Бизнесофест, 2001. – 139 с.
8. Джавадов Э. Д. Особенности вакцинопрофилактики в промышленном птицеводстве / Э. Д. Джавадов, М. Е. Дмитриева // Птица и птицепродукты – 2011. - №5. – С. 37-39.
9. Задорожная М. В. Влияние бетулина на иммунную систему цыплят при вакцинациях / М. В. Задорожная // Птицеводство. – 2011. – №4. – С. 61.
10. Колотницький В. А. Імунофізіологічний стан організму птиці у різнікові періоди та при застосуванні імуномодуляторів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук : 03.00.13 «Фізіологія людини і тварини» / В. А. Колотницький. — Львів, 2009. — 20 с.
11. Самуйленко А. Я. Пробиотики и симбиотки для повышения вакцинопрофилактики цыплят-бройлеров против ньюкаслской болезни / А. Я. Самуйленко, Л. А. Неминущая, Т. А. Скотникова и др. // Ветеринария, 2012. - №6. – С. 31-34.
12. Van den Berg T.P. Acute infections bursal disease in poultry: a review / T. P. Van den Berg // Avian Pathology. – 2000. – V. 29, № 4. – P. 175–194.

Бушувеева И.В., Фотина А.А., Панасенко О.И., Кныш Е.Г., Березовский А.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АКТИВНОГО ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА ПРЕПАРАТА «АВЕССТИМ» В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, МЯСЕ И ОРГАНАХ ПТИЦЫ

В статье приведены данные о том, что введение препарата «Авесстим» исследовательским группам цыплят (оральное из расчета 0,5 мл на 1 литр воды) ежедневно, в течение 5-ти суток, не имело негативного влияния на видимый клинический состояние птицы. Действующее вещество экспериментального препарата «Авесстим» стимулирует развитие иммунокомпетентных органов птицы, обеспечивает рост иммуномодулирующей активности препарата. Через 12 часов после введения препарата «Авесстим» в исследуемых дозах, как после первого, так и после следующих введений, не установлено остаточных концентраций действующего вещества препарата в сыворотке крови, мясе и некоторых органах птицы.

Ключевые слова: цыплята, куры - несушки, препарат «Авесстим», иммуностимуляция, специфическая иммунопрофилактика.

Bushueva I.V., Fotina G.A., Panasenko O. I., Knish E.G., Berezovskiy A. V. DETERMINATION OF RESIDUAL QUANTITIES OF ACTIVE DRUG AVESSTYM SUBSTANCE IN SERUM, MEAT AND ORGANS OF POULTRY

Introduction of Avesstym to experimental chickens group (orally at a rate of 0.5 ml in 1 liter of water) daily for 5 days, it had no negative impact on visible clinical condition of birds. The active ingredient of the experimental drug Avesstym stimulates the development of birds immune, providing growth of immunomodulating activity of the drug. 12 hours after introduction Avesstym in experimental doses, as after the first introductions and after the next introductions it has not set the residual concentration of the active substance of drug in serum and meat and some organs of the bird.

Key words: chicken, hens, Avesstym, immunostimulation.

Рецензент: д.вет.н, професор Фотіна Т.І.
Дата надходження до редакції: 03.02.2014 р