

Влияние питательного препарата Viusid-жидкость на продуктивные и иммунологические показатели у бройлеров

Введение

Сегодня интенсивное птицеводство предполагает проведение комплекса мероприятий для достижения максимальной производительности в кратчайшие сроки. К таким мероприятиям относятся качественные программы биобезопасности, сбалансированное питание, оптимальные графики вакцинации, применение стимуляторов роста и препаратов, повышающих иммунную реакцию (иммуномодуляторов).

Viusid® - препарат, разработанный компанией Dermaceutical, S.A. de C.V., который может улучшить параметры производительности и укрепить иммунную систему бройлеров.

Viusid-жидкость® - питательный препарат, содержащий антиоксиданты, витамины, примесные элементы; его главный активный компонент – экстракт солодкового корня (глицирризиновая кислота). Он обладает потенциальными антивирусными характеристиками, чье действие *in vitro* и *in vivo* блокирует репликацию ДНК и РНК вируса (вирус герпеса, грипп А и В, гепатит В, коронавирус атипичной пневмонии и т.д.) **(1,2,3,4)**. Он также не даёт вирионам покидать капсиды, которые затем проникают в клетки. **(5,6)** Данное воздействие связано с выбранной дозировкой ингибитора, зависящей от фосфорилирования киназы-Р. **(7,8)** **Viusid®** также может стимулировать выработку интерферона гамма в лимфоцитах Т и В, когда они активированы, что в результате укрепляет иммунную систему **(12, 13)**.

Молекулярная активация основных ингредиентов стимулирует их биологические функции (антивирусный и антиокислительный эффект), не меняя их молекулярной структуры; это означает, что защитные реакции организма существенно усиливаются.

Цель

Данное клиническое испытание имеет целью доказать эффективность Viusid® для бройлеров, оценив его воздействие на продуктивные и иммунологические параметры органов и лимфатических клеток бройлеров.

Материалы и методы

Животные и лечение

Клиническое испытание проводилось на коммерческой ферме “Bandolón”, принадлежащей Grupo Abrego и расположенной в штате Керетаро, Мексика. 60000 птиц кросса РоссхРосс возрастом один день были разделены на 2 группы А и В, в каждой из них по 30000 птиц; далее эти группы подразделили и поместили в два птичника, в каждом из них по 15000 бройлеров (итого 4 птичника по 15000 цыплят). Птицам в двух птичниках давали **Viusid-жидкость®** в соотношении 270 мл препарата/1000 л. воды во всём производственном цикле; два птичника, где птицам не давался препарат, составляли контрольную группу.

Охрана здоровья птиц была типичной для данного типа коммерческой птицефермы. Бройлеров выращивали в контролируемых условиях, с автоматической системой подачи питания и безчашечными капельными поилками. Питание было ориентировано на коммерческую марку породы и состояло из престартера, стартера (0-21 дней), ростового рациона (22-42 дня) и заключительного рациона до коммерческого веса (43-49 дней).

Группа А – лечебная группа

Всем птицам давали воду и питание в неограниченном количестве. Им также провели вакцинации в соответствии с графиком фермы, и давали **Viusid-жидкость®** в соотношении 270 мл /1000 л. воды, ежедневно проходящей полный цикл.

Группа В – контрольная группа

Всем птицам давали воду и питание в неограниченном количестве. Им также провели вакцинации в соответствии с графиком фермы.

Оцениваемые производственные параметры

Для подсчёта процента жизнеспособности в возрасте 49 дней были записаны веса всех птиц, их еженедельная конверсия корма и суммарная конверсия корма в возрасте 49 дней, а также количество пищи, поглощаемой каждые две недели.

Гуморальный иммунный ответ

Чтобы доказать, что **Viusid-жидкость®** выступает в качестве иммуностимулятора для органов, были взяты образцы крови у бройлеров в возрасте 23 дней после вакцинации (15 образцов/группу). Была получена сыворотка и заморожена при температуре -20°C, так чтобы можно было обнаружить титры специфических антител сыворотки против ньюкаслской болезни при помощи теста ингибирования гемагглютинации.

Клеточный иммунный ответ

Аллергическая реакция кожной гиперчувствительности – данная реакция была проверена, когда бройлерам было 22 дня, при помощи теста гиперчувствительности замедленного типа (Stadecker et al., 1977; Edelman et al., 1985; Corrier и DeLoach, 1990) в ответ на подкожную прививку в межпальцевую перепонку фаланги 3 и 4 на правой ноге для 5 цыплят на группу с использованием Фитогемагглютинаина (РНА-А3) в концентрации 0,1 мг/0,1 мл. Та же процедура была проведена для контрольной группы на межпальцевой перепонке левой ноги с использованием стерильного физиологического раствора (0,1 мл.). Через 24 часа после введения была измерена толщина межпальцевой перепонки при помощи цифрового раздвижного калибра.

Гематология

Из радиальных вен 10 цыплят на лечебную группу в возрасте 23 и 49 дней были собраны образцы крови при помощи системы s-monovette EDTA (фирма Sarsted**). Был проведён дифференциальный подсчёт лейкоцитов в мазках крови, окрашенных краской Райта. Общее количество было определено опосредованно при подсчёте процента клеток и общего количества (Campbell TW, 1988).

Были собраны образцы сыворотки при помощи системы s-monovette EDTA (фирма Sarsted**) для определения: аспартатаминотрансферазы (AST), глюкозы, кальция, креатин-киназы (СК), глютаминатдегидрогеназы (GLDH), общих белков плазмы, альбумина и глобулинов (Campbell TW, 1988), с целью оценить **Viusid®** в отношении ферментов и белков, производимых печенью.

Гистология

10 цыплят из каждой лечебной группы были забиты в возрасте 23 и 49 дней. Были взяты образцы фабрициевой сумки, селезёнки и зубной железы, их поместили в 10% буферный формалин для дальнейшей обработки, установили на стеклянных пластинках и окрасили краской Н&Е для анализа и рассмотрения под микроскопом.

Относительная массовая доля селезёнки, зубной железы и фабрициевой сумки

Из каждой лечебной группы отобрали и препарировали 15 цыплят; их селезёнки, зубные железы и фабрициевы сумки были взвешены по отдельности. Затем индивидуальный вес

этих органов был рассчитан и выражен как относительная доля к общему весу рассматриваемой птицы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Статистический анализ

Результаты, полученные по показателям в клиническом испытании, были статистически проанализированы при помощи вариационного анализа наряду с полностью рандомизированным планом согласно процедуре GLM статистического модуля SAS (SAS 1990). Следует отметить, что титры антител были трансформированы с использованием логарифма по основанию 2 для статистического анализа. В конкретном случае с гистологией полученные показатели были проанализированы при помощи ранговых критериев Уилкоксона.

Значения производственных показателей, полученные в течение периода откорма, приведены ниже:

Параметры продуктивности:

Таблица 1 – Параметры продуктивности цыплят, которым давали VIUSID, по сравнению с контрольной группой

СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ

Неделя	VIUSID	Контроль		VIUSID	Контроль		VIUSID	Контроль	
	Вес	Вес		% Падёжа	% Падёжа		Сум. конв. корма	Сум. конв. корма	
1	0,1475	0,1440	2%	0,67%	0,64%	4%	1,0130	1,0885	-7%
2	0,3075	0,3150	-2%	1,27%	1,18%	8%	1,2490	1,2565	-1%
3	0,6520	0,6310	3%	1,63:	1,90%	-14%	1,4380	1,4815	-3%
4	1,180	1,160	2%	2,45%	3,36%	-27%	1,508	1,660	-9%
5	1,638	1,655	-1%	4,15%	5,74%	-28%	1,636	1,806	-9%
6	2,234	2,205	1%	4,27%	6,98%	-39%	1,783	1,991	-10%
7	2,947	2,905	1%	5,95%	8,17%	-27%	1,940	2,148	-10%

Прослеживалась тенденция улучшения параметров при применении VIUSID.

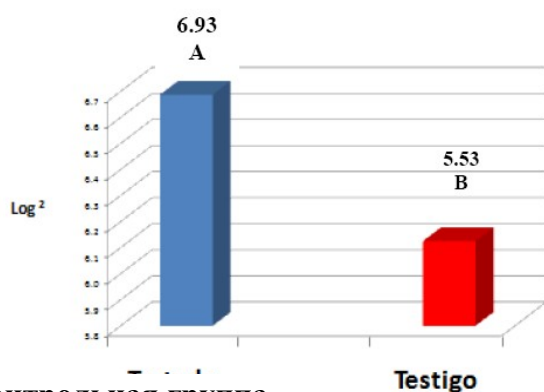
Разница в весе составила 41,5 г., процент падёжа снизился на 27%, а конверсия корма снизилась на 0,208 г., т.е. на 10%.

Результаты

Оценка гуморального иммунитета в 21 и 49 дней

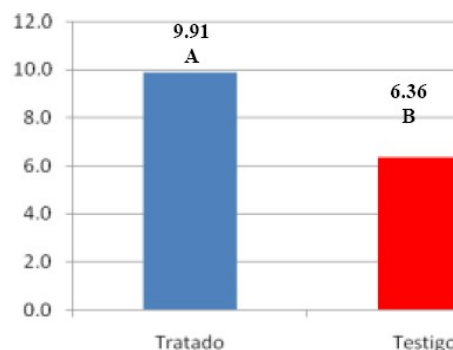
Титры антител против вируса ньюкаслской болезни

21 день 49 дней



Контрольная группа

($P < 0.05$)



Лечебная группа

($P < 0.01$)

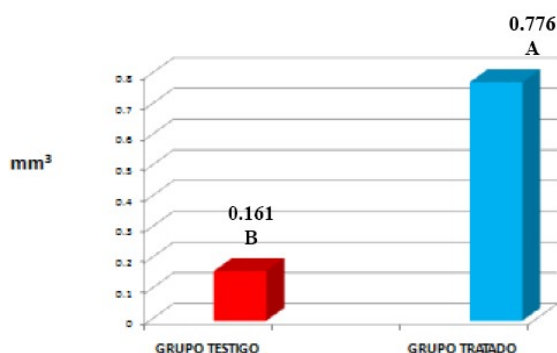
Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: группа, которой давали VIUSID®, имела более высокую концентрацию титров антител ($P < 0,05$) против вируса ньюкаслской болезни, чем контрольная группа, и это означает, что бройлеры, которым давали VIUSID®, в возрасте 21 день имели логарифм с большим количеством антител, чем контрольная группа. Данная тенденция продолжилась до 49 дня, когда концентрация антител увеличилась в 3 логарифмах.

Оценка клеточного иммунитета в 21 и 49 дней

Тест гиперчувствительности замедленного типа

21 день 49 дней



($P < 0.01$) ($P < 0.01$)

($P < 0.01$)



($P < 0.01$)

Лечебная группа

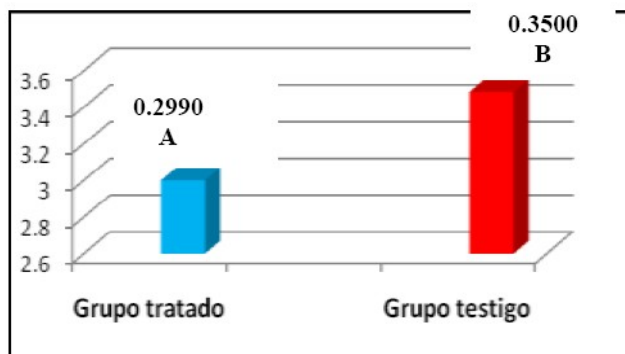
Контрольная группа

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: для клеточного ответа, оцениваемого при помощи теста гиперчувствительности замедленного типа, на начальном этапе клинического испытания у бройлеров, которым давали VIUSID®, межпальцевая толщина увеличилась ($P < 0,01$). Это значит, что толщина межпальцевой перепонки у бройлеров, потреблявших VIUSID®, была в 4,8 раз больше, чем толщина перепонки у контрольной группы.

Гематология

Гематокрит - это доля эритроцитов в общем объеме плазмы.



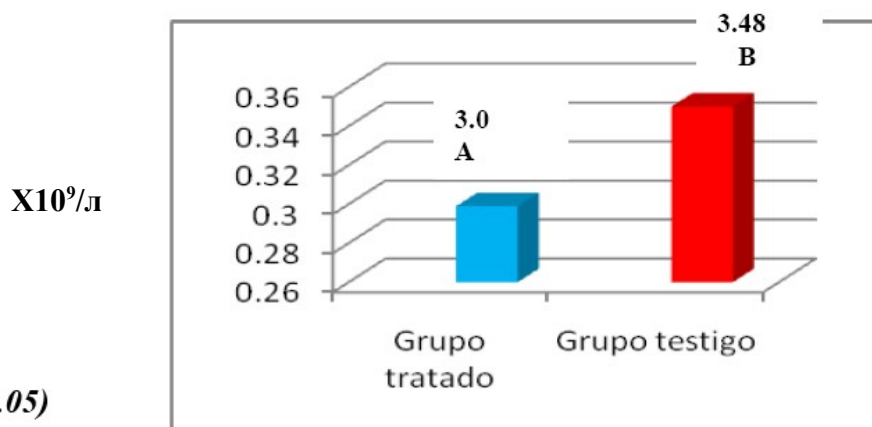
($P < 0.05$)

Лечебная группа
Контрольная группа

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: в данном разделе гематокрит контрольной группы, не принимавшей препарат, был в норме ($P < 0,05$); тем не менее, гематокрит в лечебной группе был ниже. Данный низкий уровень гематокрита может объясняться: анемией, болезнями костного мозга (радиация, токсины, фиброз, опухоли и т.д.), кровотечением или гипогидрией.

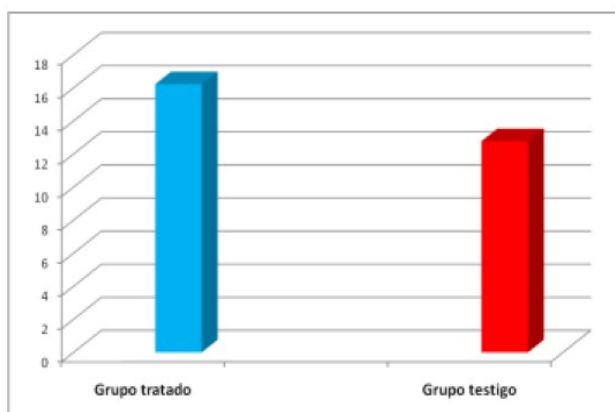
Эритроциты: красные кровяные клетки содержат гемоглобин. Красные кровяные тельца являются основными поставщиками кислорода в клетки и ткани организма.



($P < 0.05$)

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: в данном разделе гематокрит контрольной группы, не принимавшей препарат, был в норме; тем не менее, гематокрит в лечебной группе был ниже ($P < 0,05$). Сниженные значения количества эритроцитов могут объясняться: анемией, общими заболеваниями, болезнями костного мозга или кровотечениями.
Лейкоциты: лейкоциты, или белые кровяные тельца, в основном находятся в крови, по которой они передвигаются для борьбы с инфекциями.



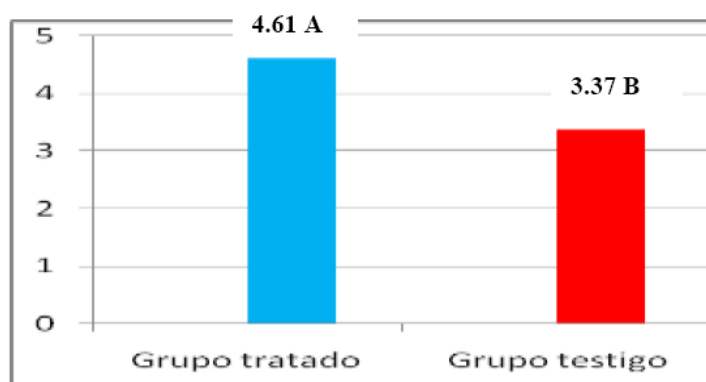
Лечебная группа

Контрольная группа

Пояснение: изменение количества лейкоцитов может быть сигналом инфекционного заболевания, воспалительного заболевания, рака и лейкемии или другой болезни. В данном разделе видно, что у лечебной группы больше белых кровяных телец (лейкоцитов), чем у контрольной группы; это может означать, что лечение влияет на процесс лейкопоэза.

Лимфоциты: относятся к группе лейкоцитов. Эти клетки имеют яйцеобразные ядра, которые занимают большую часть внутриклеточного пространства. Они управляют иммунным ответом.

$\times 10^9/\text{л}$



$(P < 0.05)$

Лечебная группа
Контрольная группа

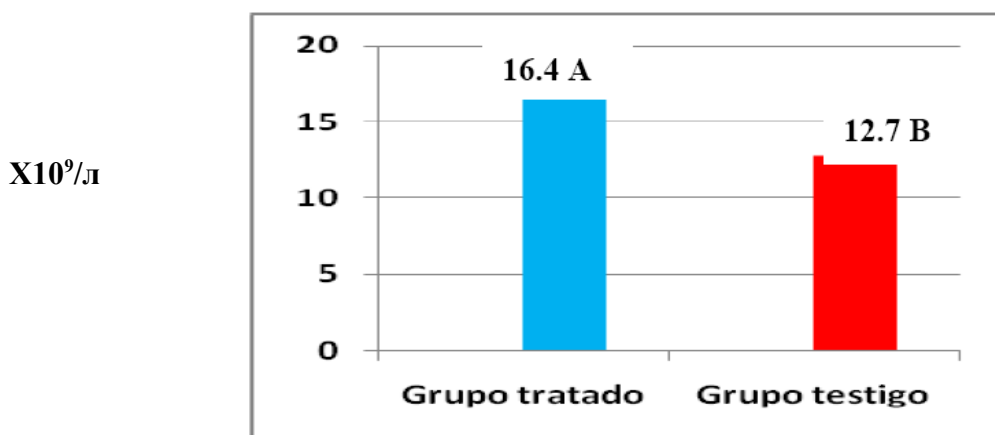
Пояснение: лимфоцитоз (увеличение числа лимфоцитов), наблюдаемый у лечебной группы, может быть реакцией на лечение, применённое к группе ($P < 0,05$); лечение могло активировать процесс лимфопоэза.

Базофилы: любая клетка, которая легко окрашивается основными красителями (в основном гематоксилином), называется базофилом.

Между группами **не было выявлено значительных статистических различий** (у контрольной группы $0,48 \times 10^9/\text{л}$, у лечебной группы $0,50 \times 10^9/\text{л}$).

Моноциты: моноциты – это одна из форм белых кровяных клеток агранулоцитов. Это крупнейший лейкоцит в крови. Ядро почкообразное или зернистое, которое окрашивается фиолетово-голубым цветом в соотношении 2:1 к остальной клетке, и явно подавляется. Имеется много цитоплазмы голубо-серого цвета, она может сопровождаться беловатыми вакуолями. Моноциты образуются в костном мозге; после этого они перемещаются по крови и поступают в различные ткани, например, в печень, селезёнку, лёгкие, лимфоузлы, кости, лимфатические пространства и т.д. Через 24 часа моноциты покидают кровяной ток и перемещаются к соединительным тканям, где быстро превращаются в макрофаги. Между группами **не было выявлено значительных статистических различий** (у контрольной группы $0,45 \times 10^9/\text{л}$, у лечебной группы $0,34 \times 10^9/\text{л}$).

Тромбоциты: мелкие, неправильной формы фрагменты цитоплазмы, лишённые ядра; играют ведущую роль в гемостазе и являются естественным источником фактора роста.



($P < 0.05$)

Лечебная группа
Контрольная группа

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: у группы, которой давали VIUSID®, более высокий уровень тромбоцитоза ($P < 0,05$), чем у контрольной группы. (Более обширный источник естественных факторов роста).

Гетерофилы: это первая линия защиты у птиц; их аналогами у млекопитающих являются нейтрофилы.



($P < 0.05$)

Лечебная группа
Контрольная группа

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: у контрольной группы наблюдалось больше гетерофилов, чем у группы, которой давали VIUSID® ($P < 0,05$). Это может означать, что в контрольной группе была небольшая инфекция, так как гетерофилы являются первой линией защиты.

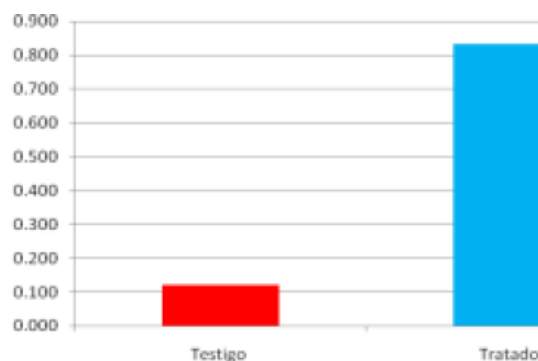
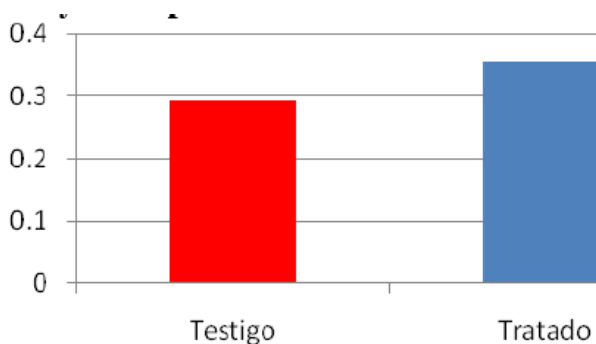
ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ (21 день)

Между группами **не было выявлено значительных статистических различий** при оценке следующих параметров: аспаратаминотрансферазы (AST), глюкозы, кальция, креатин-киназы (СК), глутаминатдегидрогеназы (GLDH), общих белков плазмы, альбумина и глобулинов.

МАССОВОЕ СООТНОШЕНИЕ В ПРОЦЕНТАХ

21 день

Зобная железа Селезёнка



Лечебная группа
Контрольная группа

(P<0,05)

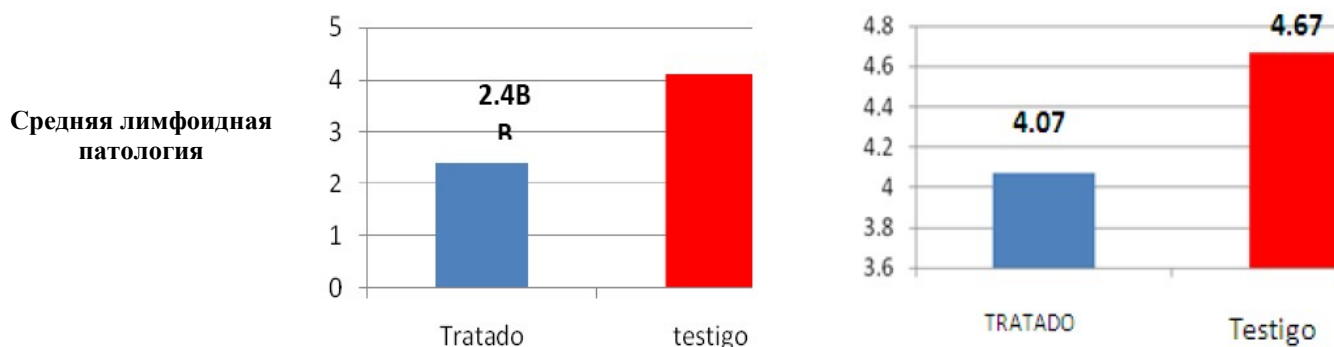
Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: результаты исследований относительной массы зобной железы и селезёнки показали более высокие значения у лечебной группы (VIUSID®), и это означает, что существуют значительные статистические различия (P<0,05). На этом основании можно предположить, что препарат оказывает положительное влияние, так как увеличение веса данных лимфоидных органов свидетельствует о лучшем здоровье птиц.

ГИСТОЛОГИЯ (21 и 49 дней)

Гистопатологическая оценка фабрициевой сумки

21 день 49 дней



(P<0,05)

Лечебная группа
Контрольная группа

(P<0,05)

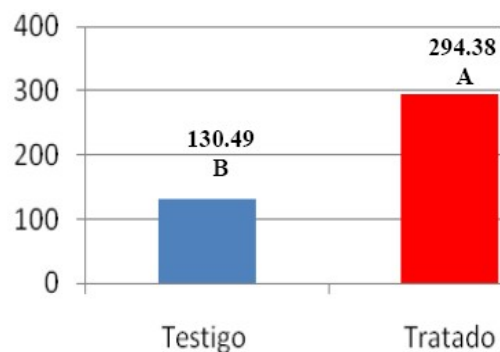
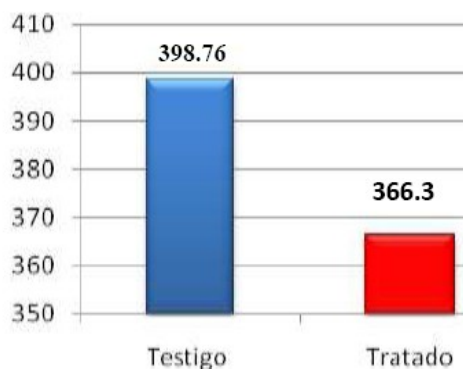
Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: при оценке фабрициевой сумки, когда цыплята были в возрасте 21 и 49 дней, у контрольной группы было в среднем больше лимфоидных патологий; они варьировались от лёгкой до тяжёлой атрофии, в то время как у лечебной группы (VIUSID®) со статистической точки зрения число лимфоидных патологий в среднем было значительно ниже (P<0,05).

Гистопатологическая оценка зобной железы в 21 и 49 дней

Кора измерена
Cortex measured

21 день 49 дней



($P < 0.05$)

Лечебная группа Контрольная группа

Со статистической точки зрения, средние значения с различными литерами a,b,c на одном и том же графике отличаются друг от друга.

Пояснение: оценка зобной железы проводилась при помощи измерения коры зобной железы в микронах, когда птицам был 21 день. Полученные числовые различия оказались несущественными. Однако после 49 дней со статистической точки зрения у лечебной группы (VIUSID®) была гораздо более толстая кора зобной железы ($P < 0,05$), чем у контрольной группы.

Библиография

1. Campbell TW: Птичья гематология и цитология. Ames, Iowa State University Press, 1988.
2. Dein F.J: Методические указания к лабораторным работам по птичьей гематологии. American Association of Avian Veterinarians (ed). New York, 1984.
3. Corrier, D.E., DeLoach., 1990. Эволюция клеточно-опосредованной кожной базофильной гиперчувствительности у молодых цыплят при межпальцевом кожном тесте. Poultry Sci. 69, 403-408.
4. Edelman, A.S., Sánchez, L.P., Robinson, E.M., Hochwald, M.G., Thorbecke, J.G. Первичный и вторичный ответ набухания серёжки на фитогемагглютинин как средство иммунной активности у цыплят. 1985 Avian Dis. 30, 105-111.

Комментарии

Прежде чем обсуждать результаты, стоит отметить тот факт, что мы не последовали первоначальной схеме, как планировалось. Её пришлось изменить, так как ферма не позволила нам включить какую-либо невакцинированную породу из-за высокого риска от присутствия незащищённых птиц, не прошедших вакцинацию, на ферме.

Учитывая результаты, полученные у бройлеров на начальном этапе жизни (23-49 дней), можно сказать, что VIUSID® выступает в качестве иммуностимулятора по определённым параметрам, и это было окончательно подтверждено в ходе исследования оценки гуморального иммунитета, выполненной за счёт измерения защитных титров

антител против вируса ньюкаслской болезни, когда птицам было соответственно 23 и 49 дней.

Тест, проведённый с целью оценки клеточного иммунного ответа (тест гиперчувствительности замедленного типа), также показал значительные положительные результаты, проявившиеся в увеличении толщины межпальцевой перепонки у бройлеров, которым давали **VIUSID®**, в возрасте 23 и 49 дней, что является признаком улучшенного иммунного ответа.

Также наблюдалось положительное воздействие в сохранении гистологической структуры фабрициевой сумки, когда птицам был 21 день, а затем – 49 дней.

Другим важным открытием стало увеличение относительной массовой доли лимфоидных органов, таких как зобная железа и селезёнка, что говорит о лучшем здоровье птиц.

Необходимо провести больше тестов и исследовательской работы по препарату, поскольку важно иметь возможность измерить **повторяемость и воспроизводимость** действия препарата. Кроме того, было бы неплохо выяснить, какие механизмы действия активируют эффективную работу препарата.

В связи с этим необходимо организовать по крайней мере ещё два полевых исследования, чтобы испытать две дозировки, напр., 450 мл/1000 л и 600 мл/1000 л., чтобы выраженные иммунологические параметры были выше. Тесты запланированы на конец мая.

Иммунологические результаты, полученные здесь, должны быть использованы в качестве основания для заключения, которое уже было одобрено научным комитетом конгресса, на котором оно и будет представлено, а именно XVII Международный ветеринарный конгресс по птицеводству, который будет проходить в Канкуне, Мексика, 14-18 августа 2011 г.

Дополнительная информация

Препарат можно применять только до 5 недели, так как предполагается, что к этому моменту иммунная система получила достаточно стимуляции, чтобы завершить полный производственный цикл без возникновения инфекции.

На основании данных, полученных с фермы Milagros, и иммунологических данных, полученных от Grupo Abrego, можно выводить препарат на рынок.

Наконец, несмотря на то, что массы были одинаковы во всех группах, следует отметить, что суммарная конверсия корма и суммарный падёж были ниже в лечебных группах.

1. **Viusid-жидкость** улучшает производственные параметры, такие как еженедельный и суммарный вес, на 42 г. (+1%) в возрасте 49 дней.
2. **Viusid-жидкость** улучшает еженедельную и суммарную конверсию корма в 49 дней на 20 пунктов (+10%). Значительно повышает жизнеспособность на 2,22%, больше, чем у группы, которой не давали Viusid-жидкость (+27%).
3. **Viusid-жидкость** – индекс продуктивности по формуле: (жизнеспособность% x кг. веса)/(возраст в днях x суммарную конверсию) x 100.
Контрольная группа: 255
Лечебная группа: 291

Повышение индекса продуктивности на 41 пункт по сравнению с группой, которой не давали Viusid-жидкость.

4. **Viusid-жидкость** постоянно повышает гуморальный иммунитет за счёт уровня антител против ньюкаслской болезни в более чем 2 логарифмах HI-ENC.
5. **Viusid-жидкость** также оказывала положительное воздействие в отношении производства большего количества лимфоидных клеток, большего веса и, соответственно, больших лимфоидных бляшек в лимфоидных органах, селезёнке, зобной железе и фабрициевой сумке, что может являться подтверждением лучшего здоровья птиц.

6. **Viusid-жидкость** – учитывая все преимущества, полученные для производственных параметров, и её эффективности в сохранении и улучшении иммунного ответа в органах и лимфоидных клетках, гипотеза о том, что Viusid-жидкость имеет иммуномодулирующее воздействие на коммерческих бройлеров, является подтверждённой.