

УДК 636.5.033.087.8:615.273:612.017

## ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ ПРЕПАРАТА ИФО 6 ЕТ НА СОСТОЯНИЕ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

<sup>1</sup>Крапивина Е.В., <sup>1</sup>Шалегин В.Н., <sup>2</sup>Галочкин В.А.

<sup>1</sup>Брянская госсельхозакадемия, Брянск, Россия

<sup>2</sup>ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных, Боровск, Россия

Исследовали влияние нового антиоксиданта ИФО 6 ЕТ (производное этоксилина) на состояние естественной резистентности, иммунный статус и скорость роста у цыплят-бройлеров. Трём опытным группам цыплят скармливали основной рацион с добавкой ИФО 6 ЕТ в дозе 20, 70 и 200 мг/кг корма соответственно в период от 5- до 40-дневного возраста. Перед убоем птицу взвешивали и брали кровь для анализа из яремной вены. При использовании дозы 70 мг/кг выявлено увеличение числа лимфоцитов в лейкограмме в связи с увеличением количества малодифференцированных Т-лимфоцитов. При использовании доз 20 и 200 мг/кг увеличились адаптивные резервы поглотительной способности нейтрофилов крови, на что указывает повышение под действием стимуляции зимозаном фагоцитарного индекса (на 97,4 и 59,4%), фагоцитарного числа (на 166,7 и 94,8%) и абсолютного фагоцитоза (на 119,7 и 110,4% соответственно). При этих дозах также была выше кислородзависимая микробицидность нейтрофилов крови. Живая масса увеличилась ( $P < 0.05$ ) при использовании доз 70 и 200 мг/кг в сравнении с контролем.

*Ключевые слова:* цыплята-бройлеры, кормовые добавки, антиоксиданты, естественная резистентность, иммунный статус, скорость роста

*Проблемы биологии продуктивных животных, 2008, 1: 87 -92.*

### Введение

Использование жиров в рационах цыплят-бройлеров повышает интенсивность перекисления липидов и свободнорадикальную активность в тканях, снижает сопряженность окисления и фосфорилирования в митохондриях. При использовании этоксилина интенсивность этих негативных процессов резко снижается (Двинская, 1977). Активизация свободнорадикального перекисления липидов возникает и при действии различных неблагоприятных факторов (ионизирующее излучение, стрессы), что приводит к функциональным нарушениям в органах и тканях (Журавлев, 1999). Препарат ИФО 6 ЕТ производится ООО «Ифохим» и является гидрированным аналогом этоксилина, но по своим антиоксидантным качествам может превосходить его.

Целью исследования являлось изучение влияния скармливания препарата ИФО 6 ЕТ на состояние защитных систем организма цыплят-бройлеров и на их рост.

### Материал и методы

Для эксперимента на птицефабрике ОАО «Снежка» методом групп-аналогов были сформированы 4 группы цыплят бройлеров по 300 голов в каждой: 1 группа – контрольная, 2, 3 и 4 – опытные. Все подопытные цыплята получали основной рацион (ОР), который был составлен с учетом живой массы, возраста и сбалансирован по основным питательным и биологически активным веществам согласно принятым нормам. В рацион цыплят 2, 3 и 4 опытных групп с 5- до 42-суточного возраста дополнительно включали препарат ИФО 6 ЕТ в дозах 20 мг/кг, 70 мг/кг и 200 мг/кг комбикорма соответственно. Содержание подопытных

цыплят-бройлеров соответствовало ветеринарно-зоогигиеническим требованиям. Для оценки роста и физиологического состояния птицу перед убоем взвешивали (индивидуально по 100 голов из группы) и брали пробы крови из подкрыльцовой вены (после голодной выдержки).

Количество лейкоцитов и эритроцитов в крови подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу определяли в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза. Фагоцитарный показатель (ФП, %) рассчитывали как процент нейтрофилов, способных к поглощению частиц латекса. Фагоцитарный индекс (ФИ, у.е.) – среднее число частиц латекса, поглощенных одним активным нейтрофилом, абсолютный фагоцитоз крови (АФ,  $10^9/\text{л}$ ) – общее количество частиц латекса, поглощаемое нейтрофилами в литре крови (Чумаченко и др., 1990). Функционально-метаболическую активность нейтрофилов оценивали по результатам реакции восстановления нитросинего тетразолия (Шубич и др., 1978, 1980). Индекс активации нейтрофилов (ИАН) вычисляли согласно инструкции "Риакомплекс" по использованию НСТ-тест набора. Поглотительную способность нейтрофилов (ФП, %, ФИ, у.е., АФ,  $10^9/\text{л}$ ) и активность их оксидазных систем (+НСТ, %,  $10^9/\text{л}$  – абс. количество клеток, ИАН) оценивали в двух состояниях: базальном (баз.) - в свежеснятой крови, стабилизированной гепарином, и стимулированном (стим.) - после внесения в пробы крови зимозана, что моделирует условия бактериального заражения и характеризует адаптационные резервы поглотительной и микробицидной способности нейтрофильных гранулоцитов (Хаитов и др., 1995). Фагоцитарное число (ФЧ) рассчитывали как среднее число частиц латекса на общее количество нейтрофилов (Чумаченко и др., 1990). Кислородонезависимую микробицидность нейтрофилов периферической крови оценивали по содержанию в них катионных белков по методу Жибинова (1983), рассчитывая средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле, предложенной Макаревичем (1988). Содержание популяции Т-лимфоцитов (Е-РОЛ, %) определяли с помощью реакции розеткообразования лимфоцитов с эритроцитами барана, В-лимфоцитов (М-РОЛ, %) - с эритроцитами мыши (Понякина и др., 1982). Субпопуляции иммунорегуляторных Т-лимфоцитов (теофиллинрезистентных), обладающих преимущественно хелперной (Е-РОЛ<sub>тр</sub>, %) и супрессорной (Е-РОЛ<sub>тч</sub>, %) активностью (теофиллинчувствительных), определяли в тесте с теофиллином (Петров и др., 1989). В качестве значений физиологической нормы принимали интервалы соответствующих показателей, приведенные в литературе (Чумаченко и др., 1990).

## Результаты и обсуждение

В результате изучения гемограммы цыплят-бройлеров установлено, что содержание в крови эритроцитов и гемоглобина у птиц всех подопытных групп соответствовало нормативным значениям (табл. 1).

Таблица 1. Гемограмма цыплят-бройлеров (М±m)

Показатели	1-я группа (n=5)	2-я группа (n=5)	3-я группа (n=6)	4-я группа (n=6)
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	2,06±0,06	2,11±0,10	2,13±0,10	2,19±0,12
Гемоглобин, г/л	118,43±5,84	124,00±3,94	120,17±4,21	119,83±4,42
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	30,97±1,99	32,33±1,58	33,90±1,79	36,27±2,24
Σ нейтрофилов, %	36,29±3,18	26,49±5,12	26,46±2,48*	33,64±4,30
Σ нейтрофилов, $10^9/\text{л}$	11,39±1,54	8,50±1,56	9,14±1,29	12,28±2,01
Эозинофилы, %	2,54±0,62	1,75±0,40	1,27±0,29	1,96±0,29
Базофилы, %	0,13±0,08	0,10±0,03	0,11±0,05	0,14±0,06
Моноциты, %	1,83±0,48	2,67±0,77	2,10±0,39	1,89±0,30
Лимфоциты, %	59,17±3,14	68,98±5,31	70,07±2,85*	62,36±4,23
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	18,22±1,12	22,38±2,18	23,56±0,75*	22,54±1,89

Примечание. \*  $P < 0,05$  по отношению к 1-й группе.

Отмечена устойчивая тенденция к повышению содержания лейкоцитов в крови у цыплят-бройлеров опытных групп с увеличением уровня препарата IFO 6ЕТ в рационе (на 4,39, 9,46 и 17,11% у цыплят 2-й, 3-й и 4-й групп по отношению к контролю соответственно). Следует отметить, что у цыплят 2-й и 3-й групп, при наличии тенденции к повышению уровня лейкоцитов в крови, соотношение отдельных форм лейкоцитов в лейкоформуле в большей степени соответствовало нормативным значениям, а уровень нейтрофилов в крови у цыплят 1 и 4 групп превышал их. Однако в лейкоформуле цыплят 3 группы содержание лимфоцитов превышало как нормативные значения, так и аналогичные значения этого показателя у птицы контрольной группы (на 18,42%), что характерно для реакции активации адаптационного синдрома (Гаркави и др., 1990). Пониженный относительно нормативных значений уровень в крови у подопытных птиц эозинофилов и базофилов является косвенным показателем высокой активности коры надпочечников и щитовидной железы соответственно. Повышенная функциональная активность щитовидной железы связана, видимо, с активными обменными процессами при интенсивном типе выращивания цыплят-бройлеров, а коры надпочечников – с предубойным стрессом. С другой стороны, в исследованиях Гаркави и соавт. (1990) при стрессе отмечали повышение функциональной активности коры надпочечников, но и щитовидной железы. На основании показателей гемограммы подопытных цыплят-бройлеров можно заключить, что в большей степени стрессорная реакция была выражена у птиц 1 и 4 групп, в меньшей – у 2-й и 3-й групп. В условиях стресса, в том числе и предубойного, повышение уровня лейкоцитов, в частности – нейтрофилов, является адекватной защитной реакцией организма.

Анализ показателей, характеризующих поглотительную способность нейтрофилов крови (табл. 2) выявил, что абсолютное и относительное количество нейтрофилов, способных к поглощению чужеродного материала, как в базальных условиях, так и после стимуляции проб крови зимозаном у цыплят, получавших с кормом препарат IFO 6 ЕТ, существенно не отличалось от контроля ( $P > 0,05$ ). При этом у цыплят 2-й и 4-й групп были достоверно выше, чем в контроле как адаптационные резервы поглощения чужеродного материала нейтрофилами крови в условиях стимуляции зимозаном, так и интегральные показатели способности нейтрофилов поглощать чужеродный материал – абсолютный фагоцитоз и фагоцитарное число (на 97,37, 119,66 и 166,67 %, и на 59,47, 110,43 и 94,77% соответственно). Следовательно, наиболее благоприятное воздействие на адаптационные резервы поглотительной способности нейтрофилов крови цыплят оказывали дозы препарата IFO 6 ЕТ – 20 мг/кг и 200 мг/кг.

Таблица 2. Поглотительная способность нейтрофилов крови цыплят-бройлеров ( $M \pm m$ )

Показатели	1-я группа (n=5)	2-я группа (n=5)	3-я группа (n=6)	4-я группа (n=6)
ФП баз., %	22,80±5,56	16,10±2,34	32,17±5,83	23,67±5,97
ФП баз., $10^9$ /л	2,53±0,66	1,34±0,29	2,84±0,54°	3,32±1,43
ФП стим., %	40,40±4,35	54,60±5,86	41,17±8,01	46,75±7,40
ФП стим., $10^9$ /л	4,63±0,80	4,84±1,27	4,09±1,21	5,74±1,36
Δ ФП, %	17,60±9,24	38,50±7,14	9,00±12,84	23,08±5,54
Δ ФП, $10^9$ /л	2,09±1,06	3,47±1,14	1,25±1,20	2,42±0,54
ФИ баз., у.е.	5,50±0,95	4,05±0,23	4,22±0,38	4,35±0,39
ФИ стим., у.е.	3,80±0,36	7,50±0,44*	4,75±0,46	6,06±0,48*
АФ баз., $10^9$ /л	12,49±3,19	5,38±1,10	10,30±3,08	16,40±8,37
АФ стим., $10^9$ /л	16,68±2,01	36,64±3,80*	20,42±6,45	35,10±7,35*
ФЧ баз., у.е.	1,09±0,20	0,64±0,09	1,41±0,34	1,13±0,35
ФЧ стим., у.е.	1,53±0,23	4,08±0,42*	2,03±0,44°	2,98±0,55*

Примечание. \*  $P < 0,05$  по отношению к 1-й группе, °  $P < 0,05$  по отношению ко 2-й группе.

В результате изучения способности нейтрофилов крови уничтожать чужеродный материал было установлено (табл. 3), что относительное количество НСТ-позитивных нейтрофилов крови в базальных условиях у цыплят-бройлеров всех подопытных групп было выше нормативных значений, которые могут достигать 10%, что следует расценивать как адекватную реакцию организма в условиях предубойного стресса. В наибольшей степени реактивность нейтрофилов крови была повышена у цыплят 2-й и 4-й групп, причем абсолютное количество НСТ-позитивных нейтрофилов было достоверно выше, чем у контрольных цыплят только у птицы, получавшей 200 мг препарата на 1 кг корма. При этом как относительное, так и абсолютное содержание этих клеток после стимуляции проб крови зимозаном у цыплят, получавших с рационом препарат (при всех использованных дозировках) не имело существенных отличий от аналогичных показателей у цыплят-бройлеров контрольной группы. Достоверно более высокое значение, относительно контроля, индекса метаболической активации оксидазных ферментных систем нейтрофилов крови (ИАН баз.) в базальном состоянии было отмечено у цыплят 2-й и 4-й групп (на 130,56 и 28,57% соответственно). После стимуляции проб крови зимозаном повышение активности оксидазных систем нейтрофилов крови, отвечающих за кислородозависимую микробицидность, отмечено у птиц всех подопытных групп, но наиболее значительное ( $P < 0,05$ ) – у цыплят 4-й группы (на 28,57% по отношению к контролю). Следовательно, скормливание цыплятам-бройлерам препарата IFO 6 ET в дозе 200 мг/кг обусловило наиболее существенное повышение кислородозависимой микробицидности нейтрофилов крови.

Таблица 3. Микробицидная активность нейтрофилов крови цыплят-бройлеров ( $M \pm m$ )

Показатели	1-я группа (n=5)	2-я группа (n=5)	3-я группа (n=6)	4-я группа (n=6)
+НСТ баз., %	22,80±2,99	50,40±8,08*	28,00±6,22	42,33±2,49*
+НСТ баз., $10^9$ /л	2,63±0,53	4,62±1,44	2,73±0,87	4,97±0,52*
+НСТ стим., %	48,60±5,18	59,40±6,85	53,67±7,07	59,33±3,92
+НСТ стим., $10^9$ /л	5,80±1,33	5,34±1,46	5,25±1,26	7,28±1,39
ИАН баз.	0,36±0,05	0,83±0,14*	0,46±0,12	0,73±0,07*
ИАН стим.	0,91±0,07	1,05±0,17	0,95±0,15	1,17±0,07*
СЦК	1,06±0,24	1,18±0,36	1,18±0,22	1,31±0,26

Примечание. \*  $P < 0,05$  по отношению к 1-й группе.

Кислородонезависимая бактерицидность нейтрофилов крови, о которой судят по содержанию в этих клетках катионных белков (СЦК), при внесении в корм птиц препарата во всех исследованных дозах практически не изменялась.

При изучении состояния клеточного звена иммунной системы установлено, что у птицы всех групп было понижено, относительно нормативных значений, содержание в крови Т-лимфоцитов и повышено – О-лимфоцитов (табл. 4).

Наблюдаемый дисбаланс клеточного звена иммунной системы у птиц обусловлен, видимо, предубойными стрессами, что подтверждается и таким косвенным признаком повышенной функциональной активности коры надпочечников, как низкий уровень эозинофилов в лейкоформуле (табл. 1).

Скормливание цыплятам-бройлерам препарата IFO 6 ET в дозе 20 мг/кг обусловило достоверно более высокое содержание Т-лимфоцитов в их крови, не достигавшее, однако, нормативных значений. Инверсный эффект теофиллина, ярко выраженный ( $P < 0,05$ ) у птиц других подопытных групп, у цыплят 2-й группы отсутствовал. При этом уровень малодифференцированных лимфоцитов (О-Л, %) у птиц этой групп был значительно (на 35,40%,  $P < 0,05$ ) ниже, чем в контроле, что указывает на повышение степени дифференцировки лимфоцитов под влиянием препарата в этой дозе.

Таблица 4. Характеристика клеточного звена иммунной системы цыплят-бройлеров (M±m)

Показатели	1-я группа (n=5)	2-я группа (n=5)	3-я группа (n=6)	4-я группа (n=6)
Е-РОЛ <sub>тц.</sub> , %	12,31±2,44	32,00±4,32*	9,50±1,01°	13,43±2,36°
Е-РОЛ <sub>тр.</sub> , %	25,18±5,04	22,50±6,09	37,00±1,09*°	34,00±8,42
М-РОЛ, %	15,33±4,31	21,25±3,28	18,92±1,72	19,3±1,80
О-Л, %	72,37±4,49	46,75±5,64*	71,58±2,25°	67,27±3,16°

Примечание. \* P<0,05 по отношению к цыплятам 1 группы, ° P<0,05 по отношению к цыплятам 2 группы.

Более высокая доза препарата IFO 6 ET в рационе (70 мг/кг) вызвала достоверное увеличение числа теofilлинрезистентных Т-лимфоцитов (обладающих преимущественно хелперной активностью) в крови у цыплят-бройлеров 3-й группы, что указывает на более выраженную, чем цыплят 1-й и 2-й групп, активацию клеточного звена иммунной системы при пониженном содержании в крови зрелых форм Т-лимфоцитов. У цыплят 4-й группы относительное содержание малодифференцированных лимфоцитов, как и у птиц 3-й группы, было выше, чем у цыплят 2-й группы, но в связи с высокими индивидуальными колебаниями достоверно значимая разница отсутствовала.

Следовательно, доза препарата IFO 6 ET 20 мг/кг в рационе цыплят-бройлеров обеспечила более высокую степень дифференцировки Т-лимфоцитов по сравнению как с контролем, так и с другими дозами этого препарата в рационе птиц, а более высокие дозы обусловили стимуляцию клеточного звена иммунной системы и повышение уровня малодифференцированных Т-лимфоцитов.

Установлено, что с увеличением дозы препарата в рационе живая масса цыплят-бройлеров имела устойчивую тенденцию к повышению (1878,75 ± 18,76 г, 1900,49 ± 47,69 г, 1938,48 ± 17,23\*г и 1950,48 ± 15,53\*г у птиц 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп соответственно), переходящую в достоверно значимую зависимость при использовании препарата в дозе 70 и 200 мг/кг комбикорма.

Следовательно, препарат IFO 6 ET, скармливаемый цыплятам-бройлерам во всех исследованных дозах, обусловил повышение уровня естественной резистентности и иммунного статуса их организма. В зависимости от использованной дозы препарата обнаружены различные эффекты:

- доза 70 мг/кг комбикорма вызвала повышение числа лимфоцитов в лейкограмме за счет малодифференцированных Т-лимфоцитов и увеличение живой массы на 3,18%;

- дозы 20 и 200 мг/кг комбикорма обусловили повышение адаптационного резерва поглотительной способности нейтрофилов крови, проявившееся в увеличении, после стимуляции проб крови зимозаном, фагоцитарного индекса на 97,37 и 59,47%, фагоцитарного числа на 166,67 и 94,77%, абсолютного фагоцитоза на 119,66 и 110,43%, а также вызвали увеличение активности кислородозависимых микробицидных систем нейтрофилов крови, о чем свидетельствует повышение числа НСТ-позитивных нейтрофилов на 121,05 и 85,67% и индекса их метаболической активации на 130,56 и 102,78%. При этом увеличение живой массы (на 3,82%) и повышение адаптационных резервов оксидазных ферментных систем нейтрофилов крови (на 28,57%) отмечено при дозе препарата 200 мг/кг комбикорма. Таким образом, доза препарата 200 мг/кг комбикорма оказала благоприятное влияние на более широкий спектр защитных механизмов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Двинская Л.М. Влияние качественно различных жиров, альфа-токоферола и антиоксидантов на морфофункциональные изменения в тканях, витаминную обеспеченность и продуктивность цыплят-бройлеров. Физиология и биохимия питания моногастричных животных. Научн. труды ВНИИФБиП, Боровск, 1977, 17: 134-149.

2. Журавлев В.Ф. Токсикология радиоактивных веществ. М.: Энергоатомиздат, 1999, 336 с.
3. Чумаченко В.Е., Высоцкий А.М., Сердюк Н.А., Чумаченко В.В. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных. Киев: Урожай, 1990, 136 с.
4. Шубич М.Г., Медникова В.Г. NBT-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях. Лаб. дело, 1978, 1: 663-666.
5. Шубич М.Г., Нестерова И.В., Старченко В.М. Тест с нитросиним тетразолием в оценке иммунологического статуса детей с гнойно-септическими заболеваниями. Лаб. дело, 1980, 7: 342-344.
6. Хаитов Р.Б., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: ВНИРО, 1995, 219 с.
7. Жибинов В.И. Применение лизосомально-катионного теста. Ветеринария, 1983, 8: 30-31.
8. Макаревич Н.А. Лизосомально-катионный тест для оценки уровня резистентности организма крупного рогатого скота. Ветеринария, 1988, 5: 26-28.
9. Понякина И.Д., Лебедев К.А., Васенович М.И. и др. Способ определения иммунологического состояния организма. А. с. 1090409 (РФ) МКИ<sup>3</sup> А 61 К 39/00, №3429. 198/28-13; заявл. 23.04.1982; опубл. 07.05.1984, Бюл. №17.
10. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. и др. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях (Методология и методические рекомендации). М.: Медицина, 1989, 153 с.
11. Иванов В.П., Крапивин И.А. Программа для статистической обработки результатов зоотехнических, физиологических и биохимических исследований. Новые формы и методы обучения студентов. Кострома, 1994, ч. 2: 90-91.
12. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: Изд.-во Ростовского ун-та, 1990, 224 с.

### **Effect of feeding preparation IFO 6 ET on the functional state of protective mechanisms in broiler chickens**

<sup>1</sup>Krapivina E.V., <sup>1</sup>Shalegin V.N., <sup>2</sup>Galochkin V.A.

<sup>1</sup> *Bryansk Agricultural Academy, Bryansk, Russia*

<sup>2</sup> *Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Farm Animals, Borovsk, Russia*

The aim was the study the effects of a new antioxidant IFO 6 ET (derivative of ethoxyquin) on the natural resistance, immune status and growth rate in broiler chickens. Three experimental groups were fed basic ration with additive of IFO 6 ET at doses 20, 70 and 200 mg/kg of feed respectively from 5 up to 42 d of age. Before slaughter the chickens were weighted and the blood probes were obtained from the jugular vein. The dose of 70 mg/kg resulted in an increase of ratio of lymphocytes in leucogram owing to increased quantity of low differentiated T-lymphocytes. At doses of 20 and 200 mg/kg the adaptive reserves of absorption capacity of blood neutrophils were increased, indicated by the increase, after stimulation by simosan, in phagocytic index (by 97.4 and 59.4%), phagocytic number (by 166.7 and 94.8%) and absolute phagocytosis (by 119.7 and 110.4% respectively). The reactivity of oxygen dependent microbicidicy of blood neutrophils was also increased at these doses. The live weight gain was increased ( $P < 0.05$ ) at doses 70 and 200 mg/kg in comparison to control.

*Key words: broiler chickens, feed additives, antioxidants, natural resistance, immune status, growth rate*

*Prob. Prod. Anim. Biol. (Russia), 2008, 1: 87-92.*