



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 46377

(13) A

(51) 6 A61K31/425

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОСТИМУЛЯТОРА ДЛЯ МОДУЛЯЦІЇ ІМУНІТЕТУ ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ

1

2

(21) 2001074651

(22) 04 07 2001

(24) 15 05 2002

(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р.

(72) Красніков Геннадій Андрійович, Стегній Борис Тимофійович, Герман Вячеслав Валентинович, Келеберда Микола Іванович, Попов Анатолій Федорович, Спіцин Микола Вікторович

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

(57) Спосіб застосування імуностимулятора для модуляції імунітету при вакцинації сільськогосподарської птиці, що включає використання хлоропідрату двоводневого 6-фенілімідазо [2,1-б] тiazолідину, який відрізняється тим, що застосування проводять за схемою повторного введення з чергуванням різних за тривалістю інтервалів після щеплення сільськогосподарської птиці

Винахід відноситься до ветеринарії, а саме до засобів імуностимуляції для підвищення імунітету сільськогосподарської птиці, що використовуються при щепленні вакцинами.

В якості імуностимулятора застосовується хлоропідрат двухводний 6-фенілімідазо [2,1-в] тiazолідину (Патент № 13988 Україна МПК А61К31/425). Сполука 1 відноситься до групи імідотiazолів, представникам, якої властивий імуностимулюючий ефект.

Як імуностимулятор існує 2, 3, 5, 6-тетрагідро 6-фенілімідазо гідрохлорид (синонім- левамізол). Недоліком цього препарату є те, що він дорогий і не завжди достатньо ефективний.

Найближчим аналогом способу застосування імуностимулятора, що патентується є використання сполуки 1 (Патент №12587 Україна МПК С07Д277/80) як імуномодулятора, після щеплення вірус-вакциною проти хвороби Гамборо із штаму "БГ". Недоліком цієї схеми імуномодуляції є те, що стимулятор застосовують у дозі 1 мг/кг живої маси тіла дворазове з інтервалом 1 день безпосередньо після вакцинації і це не забезпечує стимуляції імунітету в період його максимального розвитку імунологічної реакції після щеплення.

В основу винаходу, що передбачається, поставлено завдання розробити спосіб застосування імуностимулятора для модуляції імунітету при вакцинації сільськогосподарської птиці.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування хлоропідрату двухводного 6-фенілімідазо [2,1-в] тiazолідину за схемою повторного

введення препарату з чергуванням різних за тривалістю інтервалів після щеплення сільськогосподарської птиці.

Приклад 1

Випробування відомого способу імуностимуляції і способу, що патентується проведено у порівняльних дослідженнях на курчатах, яких вакцинували в одnodенному віці проти хвороби Марека, а в 16-тиденному віці проти ньюкаслської хвороби вакциною зі штаму Ла-Сота і проти інфекційної бурсальної хвороби з вірусу атенуованого шляхом вирощування на культурі клітин НЕВ (нірка ембріона вівці).

Після вакцинації проти ньюкаслської та інфекційної бурсальної хвороб наступного дня вводять стимулятор по одноциклічній і двоциклічній схемах. При одноциклічній схемі стимулятор у дозі 1 мг на 1 кг живої маси випоюють з водою 2 дні підряд та два рази з інтервалом 1 день. При двоциклічній схемі, починаючи з наступного дня після вакцинації дають стимулятор двічі з інтервалом 1 день, потім роблять перерву 7 днів, після чого його знову застосовують двічі з одnodенним інтервалом. У контролі після вакцинації стимулятор не вводять. Забій курчат проводили через 9, 18 і 25 днів після вакцинації, тобто на 7 - 8, 14 - 15, 21 - 22 день після одnocиклічної стимуляції. Забій після повторного циклу застосування стимулятора проводили через 7 і 14 днів.

Визначають масу тіла, тимусу, селезінки, печінки і фабрицієвої бурси та рахують індекси відносної маси органів.

(13) A

(11) 46377

(19) UA

Дані, отримані при визначенні маси тіла і імуноткомпетентних органів при першому забої свідчать про те, що застосування стимулятора по однокіклічній схемі при вакцинації проти ньюкаслської хвороби та інфекційної бурсальної хвороби в цей період не викликає істотних позитивних зрушень у масі тіла, селезінки і фабрицевої бурси. Тільки маса печінки була чітко меншою, чим у курчат контрольної групи. Однак показники маси істотно змінюються при другому забої, тобто через 14 - 15 днів після застосування стимулятора. У цей період у дослідних групах показники маси тіла, селезінки і фабрицевої бурси вищі, але нижча чим у контролі є маса печінки.

Застосування стимулятора по двоциклічній схемі після 7 днів його повторного застосування не посилює ефект стимуляції. Через 14 днів після повторного введення по двоциклічній схемі виявлена найбільша стимулююча дія. Жива маса тіла при цьому, приблизно, така ж, як і в групах з однокіклічним застосуванням стимулятора, але всі інші показники вищі. Середній індекс відносно маси по сумі трьох забойів у групах контролю, однокіклічного і двоциклічного стимулювання, при живій масі в групах 184, 260 і 256 грамів, склав для маси селезінки 1,6, 2,51 і 3,05, для маси фабрицевої бурси 2,4, 4,99 і 7,81 і для маси печінки 33,8, 32,49 і 38,9 відповідно.

У такий спосіб застосування стимулятора дозволяє одержати підвищення маси органів, причому двоциклічне його застосування дає найбільше збільшення маси селезінки, фабрицевої бурси і печінки.

Заслужують на увагу дані отримані при зіставленні мас і індексів мас органів, встановлених при забої птахів в динаміці проведення дослідів. З цих даних видно, що в дослідних групах введення стимулятора, в порівнянні з контролем, прискорює приріст маси тіла і забезпечує збільшення маси селезінки, фабрицевої бурси і печінки. У дослідях із застосуванням двоциклічної схеми маса органів сягає максимальних розмірів: фабрицевої бурси до 2000мг, селезінки до 783мг і печінки до 9973мг (таблиця 1).

Приклад 2

Хід проведення досліду аналогічний прикладу 1, але вивчаються морфофункціональні зміни в імуноткомпетентних органах курчат за допомогою гістоморфометричних методів.

В фабрицевій бурсі вимірюють площу останньої, довжину її фолікулів, середню товщину коркового шару. Визначають морфофункціональний потенціал фолікулів (ПТФ).

У селезінці реєструють кількість і розміри ретикулярних муфт, лімфоїдних і гермінативних фолікулів, розвиток білої пульпи і присутність плазматичів.

В тимусі враховують вираженість піриніофільної підкапсулярної зони, кількість тимічних острівців, мозково-коркове співвідношення (МКС), щільність заповнення часточок клітинами, їхній характер і наявність ознак розпаду.

Отримані при морфометрії структур величини піддавалися статистичній обробці з використанням комп'ютерної техніки.

При вивченні зрізів органів від курчат першого

забою встановлено, що стан досліджених органів у різних групах був приблизно однаковим. У ранній період, судячи з площі фабрицевої бурси, розмірів фолікулів і ширини їхнього коркового шару, кращі показники були в групі курчат, що одержували стимулятор двічі з інтервалом один день. Кращим був показник МКС у тимусі в групі, де використовували двоциклічну схему стимуляції - 1,09 проти 1,2 у групі, що одержувала стимулятор два дні підряд і 1,31 у групі контролю.

При гістологічному вивченні матеріалів, одержаних при другому забої, тобто через 14 - 15 днів після стимуляції і 18 днів після проведення вакцинації в значній частині курчат було встановлено збільшення площі фабрицевої бурси і ширини коркової речовини. У 5 з 8 досліджених бурс від піддослідних груп курчат цього забою ширина коркової речовини складала від 10 до 13,7 рядів кліток, у той час як у контролі вона не перевищувала 8,8 рядів. Звертає на себе увагу та обставина, що в окремих курчат після стимуляції спостерігається збільшення фолікулів бурси, - вони стають широкими і мішкоподібними. Спостерігається сильне локальне розширення коркової речовини. Воно стає хвилястим чи горбистим, а іноді, формує високі випинання, що свідчить про птерплазію коркової речовини. У потовщеннях ширина кори досягає 30 і більш рядів кліток. Спостерігається посилення щільності прилягання клітин у мозковій речовині. В окремих курчат розподіл щільності має парадоксальний характер, тобто він в мозковій речовині вище, ніж у корковій.

У селезінці піддослідних курчат другого забою проявив посилення активності структур не спостерігається. Порівняно м'яку активізуючу дію стимулятора можна пояснити тим, що він діє на тлі слабкої супресії, що викликають вакцини, що використовувалися і про що говорили дані контролю.

При двоциклічній імунотстимуляції з повторним введенням стимулятора і забоем курчат через 14 днів після закінчення циклу по ряду гістологічних положень у більшості птахів отримані більш високі показники (таблиця 2). У цій групі зареєстрована максимальна площа фабрицевої бурси (41,4мм²), найбільша середня ширина коркової речовини цього органа (13,7 рядів клітин), морфофункціональний потенціал фолікулів (99,7). Фолікули великі мішкоподібні, а кора формує великі локальні потовщення і випинання. На відміну від попередніх груп, при двоциклічній схемі відзначається розпушення мозкової речовини. У ній зменшується кількість лімфоцитів і краще виділяється ретикулярна строма.

Очевидно, що застосування стимулятора за двоциклічною схемою приводить до прискорення завершення клітинної імунологічної реакції в цьому органі і розвитку зворотного процесу з загибеллю частини лімфоцитів, що настає слідом за клітинною птерплазією і раніше всього проявляється в мозковій речовині.

Застосування синтезованого похідного імідазотіазолу хлоралгідрату двухводного 6-фенілїмідазо [2-1-в] тіазолідона після вакцинації курчат проти ньюкаслської та інфекційної бурсальної хвороби чинить корегуючу дію на органи імунітету,

інтенсифікує і прискорює розвиток післявакцинальної імунологічної реакції, особливо при двоцик-

лічній схемі застосування імуностимулятора з інтервалом 5 - 10 днів

Таблиця 1

Порівняльні дані визначення маси тіла й органів при одноциклічній і двоциклічній схемах імуностимуляції (третій забій).

Критерії оцінки	Застосування стимулятора два дні підряд	Застосування стимулятора два дні з інтервалом 1 день	Двоциклічна схема застосування стимулятора	Контроль
Маса тіла, г	228±18,1	293±56,5	254±32,4	184±90,5
Абсолютна маса селезінки, мг	541±45,2	779±74,9	783±208,3	296±183,7
Відносний індекс маси селезінки	2,37	2,65	3,05	1,6
Абсолютна маса фабрицієвої бурси, мг	1057±389	1565±609,5	2000±887	443±372,8
Відносний індекс маси фабрицієвої бурси	463	5,34	7,81	2,4
Абсолютна маса печінки, мг	7618±469	9250±76,3	9973±1845	6225±2010
Відносний індекс маси печінки	33,41	31,56	38,95	33,83

Примітка Відносний індекс маси - частка від розподілу маси органа в мг на масу тіла в гр

Таблиця 2

Порівняльні дані морфометрії структур фабрицієвої бурси, селезінки, тимуса при одноциклічній і двоциклічній схемах імуностимуляції (третій забій).

Критерії оцінки	Застосування стимулятора два дні підряд	Застосування стимулятора два дні з інтервалом 1 день	Двоциклічна схема застосування стимулятора	Контроль
Площа фабрицієвої бурси, мм	34,99±7,6	40,43±2,7	41,4±1,5	16,48±11,3
Довжина фолікулів фабрицієвої бурси, мкм	671±78,4	739±158	724±145	386±205,1
Ширина кори фабрицієвої бурси (рядів клітин)	9,53±1,6	8,3±0,7	13,76±3,7	8,4±1,5
Морфофункціональний потенціал фолікулів (ПТФ)	63,8	61,35	99,7	32,43
Кількість гермінативних фолікулів селезінки	7	3,5	3,66	2,0
Мозково-коркове співвідношення (МКС)	1,38±0,12	1,66±0,1	1,03±0,08	3,7±0,03

Примітка 1 ПТФ - добуток довжини фолікулів на ширину їхньої коркової речовини, ділене на 100

МКС - зменшується при збільшенні ширини коркової речовини

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71