

Вакцинация и стимуляция биопрепаратами

Основные аспекты иммунизации цыплят методом *in ovo*

Войтек ХОДОРОВИЧ
Phibro Animal Health SA



Достижения науки всегда были движущей силой развития и промышленности, и сельского хозяйства. Ученые всего мира создают технологии, применение которых способствует улучшению условий содержания и кормления сельскохозяйственных животных и птицы, позволяет реализовать их генетический потенциал и тем самым удовлетворить потребность человека в белке животного происхождения. К числу прогрессивных методов относят иммунизацию цыплят методом *in ovo*.

Сфера применения

Вакцинация методом *in ovo* — не что иное, как инъекция вещества (например, вакцины) непосредственно в эмбрион или в воздушную камеру оплодотворенного яйца на финальной стадии инкубации, примерно на 18-й день. Первоначально таким способом вводили только вакцину против болезни Марека, но со временем стали использовать аминокислоты, углеводы, витамины и другие питательные вещества, необходимые цыпленку в постэмбриональный период. Введение вакцины методом *in ovo* способствует выработке активного иммунитета в раннем возрасте и помогает защищать поголовье от болезней Гамборо, Ньюкасла или инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ).

Сегодня инъекции методом *in ovo* играют важную роль в антибактериальной терапии. Таким способом вводят полезные бактерии. Это положительно сказывается на целостности пищеварительного тракта цыпленка в первые дни жизни.

Кроме того, метод *in ovo* используют в лабораториях при исследовании новых препаратов (определяют, оказывает ли то или иное средство канцерогенное и тератогенное действие), при изучении влияния гормонов на эмбрион на разных стадиях его развития, а также при определении пола зародыша путем анализа состава околоплодных вод.

Способы введения вещества методом *in ovo*

Инъецирование методом *in ovo* вручную — достаточно трудоемкий процесс. Он включает дезинфекцию яйца, сверление скорлупы, введение вещества и закрытие отверстия в скорлупе воском или препаратом, обладающим аналогичными свойствами. Из-за этого ручной метод применяется только в лабораторных условиях.

Второй способ инъецирования методом *in ovo* — использование автоматизированных устройств. Их производят известные во всем мире компании Embrex, Viscon-Vinovo и Ecat. Качество, принцип действия и механизмы выпускаемого ими оборудования сопоставимы. На первом этапе вакцинации методом *in ovo* яйцо автоматически позиционируется и дезинфицируется, а машина сама выбирает подходящее место для инъекции. Затем скорлупа прокалывается внешней иглой, а внутренняя игла вводит вещество на необходимую глубину. После инъекции отверстия закрываются с помощью химических препаратов, а иглы дезинфицируются.

Качество вакцинации

Основной фактор, влияющий на качество вакцинации, — правильный подбор яиц (все они должны быть приблизительно одного размера). Это обусловлено

программированием глубины инъекции и длиной применяемых игл: слишком короткие (11 мм) не позволяют ввести вещество в нужное место, слишком длинные (24 мм) могут повредить эмбрионы. Поэтому целесообразно использовать универсальные иглы длиной 13 мм.

Новейшие устройства для вакцинации методом *in ovo* работают по принципу двойного осаждения под давлением, что дает возможность индивидуально адаптировать глубину инъекции независимо от размера яйца: система точно вводит одну и ту же дозу вещества в одно и то же место в одно и то же время. Перед началом процедуры удаляется неоплодотворенное яйцо, а также яйцо с гниющим или мертвым эмбрионом. После каждой инъекции все части оборудования, контактирующие со скорлупой, а также яйцо и иглы дезинфицируются.

Кормление эмбрионов методом *in ovo*

Для улучшения выводимости яйца или для стимулирования роста цыпленка традиционно используют различные вещества, которые вводят методом *in ovo*. В последнее время для этого стали применять антибиотики, пробиотики, пребиотики, углеводы и аминокислоты.

Пребиотики растительного происхождения (пептиды, изофлавоны, углеводы и синбиотики) вводят в интраамниотическую жидкость, благодаря чему в организме цыпленка эффективнее усваиваются минералы, в кишечнике увеличивается популяция полезных микроорганизмов и улучшается синтез короткоцепочечных жирных кислот. В результате быстрее развивается кишечник и активизируются реакции иммунной системы.

Исследования по кормлению эмбрионов методом *in ovo* в дальнейшем, вероятно, будут проводить с целью тестирования новых видов биоактивных соединений и питательных веществ растительного происхождения, применение которых поможет поддерживать здоровье кишечника (в частности, функциональность его всасывающей поверхности) и оптимизировать в нем состав микрофлоры.

Данные последних экспериментов показывают, что методом *in ovo* можно ввести как одно вещество, так и комбинацию веществ и таким образом определить эффективность биологически активных компонентов с точки зрения их потенциальной питательной ценности.

Введение пробиотиков методом *in ovo*

К пробиотикам относят живые культуры бактерий *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus sp.*, *Lactococcus sp.* и некоторые штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Их вводят в воздушную камеру яйца через 12 дней после его закладки в инкубатор. Результаты исследований показали, что уже на 18-е сутки инкубации в пищеварительном тракте эмбриона появились бактерии родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*.

Одновременное введение вакцины и пробиотика методом *in ovo* и иммунизация спрей-методом суточных цыплят против болезни Ньюкасла и инфекционного бронхита способствовали повышению уровня специфических антител в крови бройлеров в возрасте шести недель.

Введение пробиотиков методом *in ovo*

К пробиотикам относят питательные вещества — полисахариды (крахмал, инулин, пектины, гуаровая камедь) или олигосахариды (фрукто-, галакто- и мальтоолигосахариды), которые не усваиваются в организме, но стимулируют рост или активность полезной кишечной микрофлоры (лакто- и бифидобактерии избирательно переваривают эти вещества).

В научной литературе опубликованы данные исследований, в ходе которых определяли влияние пробиотиков на здоровье и продуктивность цыплят. Смесь олигосахаридов вводили методом *in ovo* на 12-й день инкубации. Было установлено, что в пищеварительном тракте эмбрионов увеличилось количество полезных микроорганизмов. В ре-

зультате живая масса суточных цыплят опытной группы превысила живую массу аналогов контрольной группы в среднем на 13%. К тому же в опытной группе уровень падежа был в два раза ниже, чем в контрольной. Отмечено также, что у цыплят опытной группы быстрее, чем у сверстников контрольной, рассосался желточный мешок.

В более позднем возрасте у цыплят, получивших пребиотики в эмбриональный период, интенсивнее развивались некоторые элементы лимфатической системы. После введения вакцины в организме таких особей образовывалось больше специфических антител. Данные других исследований свидетельствуют о том, что в последнюю фазу откорма бройлеры, получившие в эмбриональный период пребиотики на основе олигосахаридов рафинозы, лучше конвертировали корм в живую массу.

Введение синбиотиков методом *in ovo*

К синбиотикам относят препараты, в состав которых входят и пребиотики, и пробиотики. Их применение методом *in ovo* в промышленном птицеводстве пока не пользуется популярностью и фактически находится на стадии исследований. Тем не менее результаты экспериментов показали, что после инъектирования (синбиотики вводили в воздушную камеру яйца на 12-й день инкубации) штаммов молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* и *Lactococcus cremoris* и производных рафинозы у цыплят интенсивнее формировались органы лимфатической системы (селезенка, тимус и bursa).

Введение аминокислот методом *in ovo*

Аминокислоты — строительный материал для белков, универсальные природные соединения, отвечающие за все жизненно важные функции организма.

Данные многих исследований подтвердили, что инъектирование аминокислот методом *in ovo* позволяет улучшить необходимые производственные показатели. Например, после введения на 10-й день инкубации L-аргинина увеличился процент вывода и живая масса цыплят, а после введения на 18-й день инкубации L-карнитина повысилась интенсивность роста мышц, уменьшилось количество мышечного жира и активизировался гликолиз в печени.

Введение витаминов методом *in ovo*

Эффективность витаминов — жирорастворимых (А, D, Е) и водорастворимых (С и группы В) — при введении методом *in ovo* доказана в ходе многочисленных экспериментов. Витамин С, самый известный из антиоксидантов, оказывает существенное влияние на функционирование всех систем организма, включая иммунную. Использование витамина С (его вводили в дозе 3 мг на одно яйцо методом *in ovo* на 15-й день инкубации) способствовало увеличению количества вылупившихся цыплят и одновременно уменьшению доли молодняка с врожденными аномалиями.

Хорошие результаты были получены после введения методом *in ovo* витамина В₆ (пиридоксин): снизилась эмбриональная смертность, благодаря чему улучшилась выводимость яйца. В то же время введение методом *in ovo* необходимого для правильного развития и функционирования нервной системы витамина В₁ (тиамин), а также витамина Е отрицательно сказалось на сохранности эмбрионов на поздней стадии инкубации. Вследствие этого ухудшилась выводимость яйца.

Отвечающий за состояние глаз и кожи витамин А (ретинол) и участвующий в формировании костей витамин D₃ (холекальциферол) вводили методом *in ovo* на 14-й день инкубации. Исследователи сообщили о том, что эти витамины не оказали существенного влияния на выводимость яйца, на качество вылупившихся цыплят и их развитие в дальнейшем. Тем не менее авторы предположили, что при введении витамина D₃ методом *in ovo* вывод цыплят и их качество могут повыситься.

Введение углеводов методом *in ovo*

Основные виды углеводов — глюкозу, фруктозу, декстрин и мальтозу — вводили как по отдельности, так и в комбинации на 18-й день эмбриогенеза. Нельзя сказать, что эксперимент оказался успешным: после вылупления живая масса цыплят опытной группы была больше, а объем их желточного мешка меньше по сравнению с такими же параметрами у сверстников контрольной группы, но при этом в опытной группе снизилась выводимость яйца из-за увеличения количества погибших эмбрионов.

Введение гормонов методом *in ovo*

Общеизвестно, что в странах Евросоюза введен запрет на применение биомодуляторов (в частности, гормонов) в промышленном животноводстве. Поэтому влияние гормонов на эмбриогенез определяли только по данным лабораторных исследований. Установлено, что использование инсулина (его вводили методом *in ovo* на 1-й или 4-й день инкубации) способствовало повышению интенсивности роста эмбриона, увеличению живой массы и сохранности вылупившихся цыплят, но никак не отразилось на их выводе. Инъецирование инсулина методом *in ovo* на 18-е сутки эмбриогенеза оказалось неэффективным.

Тестостерон вводили методом *in ovo* на 15-е или 18-е сутки инкубации. В результате живая масса вылупившихся цыплят увеличилась, но только у самцов. В момент вылупления живая масса самок опытной группы была на 7% ниже, чем живая масса аналогов, не получавших тестостерон на стадии эмбриогенеза. В период откорма самки контрольной группы превосходили сверстниц опытной по среднесуточным приростам живой массы.

Введение лекарственных препаратов методом *in ovo*

Данные экспериментов показали, что вводить методом *in ovo* противовоспалительные средства (например, парацетамол или ацетилсалициловую кислоту) нецелесообразно, поскольку они не оказывают влияния ни на выводимость яйца, ни на вывод цыплят. В то же время эффективность внутриклеточных инъекций антибиотиков была доказана, и их стали применять в промышленных масштабах. Так, цефалоспорины, которые вводили методом *in ovo* на 18-й день инкубации, достоверно подавляли развитие патогенных бактерий в организме цыплят в первую неделю жизни.

Защита птицекомплексов от проникновения возбудителей заразных болезней и проведение санитарно-гигиенических мероприятий способствовали уменьшению числа вторичных бактериальных инфекций в инкубаториях. Требования ограничить количество антибиотиков, используемых в животноводстве, и опасения по поводу появления резистентных бактерий привели к практически полному отказу от антибактериальных препаратов, которые

ранее применяли для обработки яйца и суточных цыплят.

Иммунизация методом *in ovo*

Сегодня вакцинация методом *in ovo* многообещающая и широко распространенная в промышленном птицеводстве биоманипуляция с эмбрионом. Благодаря правильно подобранной программе профилактической вакцинации родительского стада у потомства формируется пассивный иммунитет (он определяется соответствующим уровнем материнских антител, передаваемых родителями цыплятам). Однако материнские антитела, с одной стороны, гарантируют защиту от инфекций в первые дни жизни, а с другой — подавляют развитие у цыпленка полноценного иммунитета после вакцинации.

Модификация генов антител (преобразование соматических генов) в организме млекопитающих происходит на протяжении всей жизни. В организме птицы такой процесс протекает только в эмбриональный период: стволовые клетки, продуцирующие В-клетки (пребурсальные стволовые клетки), образуются с 8-го по 14-й день эмбриогенеза в желточном мешке, костном мозге и ткани печени, а затем мигрируют в бурсу, где они дифференцируются и реплицируются.

Этот процесс (образование и миграция стволовых клеток, их дифференцирование и репликация) запускается примерно на 12-й день эмбриогенеза и длится несколько недель, максимально усиливаясь непосредственно перед вылуплением и в течение двух дней после него. С 18-го дня эмбриогенеза до достижения цыпленком возраста 2–4 недель большинство В-лимфоцитов мигрирует из бursы в тимус и вторичные лимфатические органы. Таким образом у птицы вырабатывается полноценный иммунитет.

Независимо от времени проведения вакцинации (на 18-й день эмбриогенеза или сразу после вылупления), основной механизм противоинфекционного иммунитета развивается еще до перехода материнских антител в кровотоки цыпленка. После выполнения своих функций, связанных с пролиферацией и дифференцированием В-лимфоцитов, бурса атрофируется (этот процесс протекает в организме птицы с 7-й по 13-ю неделю жизни). На промышленных комплексах стараются иммунизировать именно молодую птицу, чтобы у

нее как можно раньше выработался активный иммунитет.

В начале 1980-х годов некоторые исследователи из США сообщали о том, что активный иммунитет против болезни Марекка может развиваться у эмбрионов на 17–19-й день инкубации. Эти выводы послужили основой для разработки методики массовой вакцинации на завершающей стадии эмбриогенеза. Через несколько лет была сконструирована и запатентована первая промышленная машина для вакцинации методом *in ovo*.

Сроки выработки активного иммунитета против различных инфекционных заболеваний, таких как болезнь Марекка, Ньюкасла, Гамборо, оспа или ИЛТ, зависят от типа вакцины и скорости высвобождения содержащегося в ней антигена.

Одна из наиболее часто выполняемых методом *in ovo* профилактических процедур — вакцинация против инфекционной бурсальной болезни (болезнь Гамборо). Иммунизацию проводят на 18-й день инкубации путем введения вакцины непосредственно в аллантаоисный мешок эмбриона. Сегодня многие фармацевтические компании производят вакцины, при применении которых у цыплят формируется активный иммунитет на раннем этапе развития.

При вакцинации методом *in ovo* против болезней Ньюкасла, Марекка и ИЛТ используют в основном векторные вакцины, а при иммунизации против болезни Гамборо — векторные и иммунокомплексные. Сейчас доступна вакцина МВ-1[®] производства компании Phibro Animal Health Corporation. В состав этой вакцины входит живой аттенуированный вирус М.В.

Биотехнологии с каждым годом совершенствуются, а значит, инновационные разработки ученых будут применять и в птицеводстве. Анализ данных, получаемых при определении эффективности различных химических и биологических препаратов для иммунизации цыплят методом *in ovo*, позволит полностью реализовать генетический потенциал птицы и таким способом увеличить объемы производства мяса и яйца. **ЖР**

Phibro Animal Health Corporation

Тел.: + 7 (495) 796-72-95

E-mail: russia@pahc.com

www.pahc.com

www.abiksept.ru



Живая вакцина против болезни Гамборо



Эволюция вакцин против болезни Гамборо Вакцинация в инкубаторе

- ✓ Гибкая адаптация к материнским антителам
- ✓ 1 доза защищает в течение всей жизни
- ✓ Процесс вакцинации контролируется в инкубаторе
- ✓ Защита от всех форм вируса ИББ
- ✓ Доказанная безопасность и высокая эффективность против вируса ИББ



PHIBRO ANIMAL HEALTH CORPORATION
ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В РОССИИ
russia@pahc.com / www.pahc.com



АБИК
септа

ООО фирма «АБИК СЕПТА»
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ИМПОРТЕР И ДИСТРИБЬЮТОР
office@abiksepta.ru / www.abiksepta.ru