

IMUNI ODZIV KAO POKAZATELJ POTREBE KOKOŠI NA VITAMINIMA  
III. UTJECAJ VITAMINA A NA IMUNI ODZIV I RAZVOJ IMUNOKOMPETENTNIH  
ORGANA PILETA  
IMMUNE RESPONSE AS A MARKER OF NEEDS ON VITAMINS IN CHICKEN  
III. THE INFLUENCE OF VITAMIN A ON THE IMMUNE RESPONSE AND DEVELOPMENT OF IMMUNE SYSTEM ORGANS IN CHICKENS

H. Mazija<sup>1</sup>, Vlasta Šerman<sup>2</sup>, Nora Mas<sup>1</sup>, Estella Prukner-Radovčić<sup>1</sup>, C. Ndikumana

Izvorni znanstveni rad  
UDK: 636.52/58:636.087.73  
Primljeno: 3. 10. 1992.

SAŽETAK

Istražen je utjecaj vitamina A u tri skupine tovnih pilića što su tijekom prva tri tjedna tova primili 25.000, 37.500 odnosno 50.000 IJ vitamina A, te u završnoj smjesi, također tri tjedna, 20.000, 30.000 odnosno 40.000 IJ vitamina A. Njihov imuni odziv prema primijenjenoj vakcini newcastleske bolesti te indeks Fabricijeve burze, uspoređeni su s polučanim rezultatima u kontrolnoj skupini pilića što su hranjeni komercijalnim smjesama s 12.500 u početnoj te 10.000 IJ vitamina A u završnoj smjesi.

Pokazalo se da je imuni odziv u prosjeku najbolji ukoliko je više vitamina A primješano hrani, no s tim povećanjem, se i brzina izlučenja specifičnih HI antitijela proporcionalno povećava. Najviši HI titar postignut je tri tjedna nakon vakcinacije uz primješanu najveću količinu vitamina A ali je brzina njihova izlučenja nakon toga bila najveća. Ovo se pripisuje toksičnom učinku vitamina A. Indeksi Fabricijeve burze također su najveći u pilića pri dodatku najviše vitamina A.

Rezultati ukazuju na to da je za imuni odziv povoljno djelovalo više vitamina A u početnoj smjesi, pa se predlaže smanjenje količine u završnoj.

UVOD

Fiziološka uloga tvari s očitovanim A vitaminskom aktivnosti (vitamin A) ukratko se može svesti na poticanje rasta organizma, sudjelovanje u procesu vida i očuvanje sluznica (Austic i Scott, 1991). Čini se po svemu da fosforilirani oblik vitamina A služi u biokemijskom prijetvoru manoze i galaktoze u glikoproteine pri sintezi mukopolisaharida (Austic i Scott, 1991). Time se uostalom i tumači njegova uloga u očuvanju epitelnih opni. Zato je vitamin A esencijalan za perad. Njegov nedostatak izazvati će niz bolesti. S napredovanjem nedostatka vitamina A u kokoši i purana, najprije nastupi opća slabost i nakostrušenost perja. Naglo pada nesivost a smanjuje se valivost rasplodnih jaja. Zatim se javi vodenasti iscjedak iz nosnica i oka a kapci se slijepe te dolazi do nakupljanja bjelkastog gustog eksudata. Obično propada i oko (Hinshaw i Lloyd, 1934, Hill i sur., 1961, Asmundson i Kratzer, 1952). U pilića nedostatak vitamina A usporava rast, izaziva potištenost, nekoordiniranost pokreta, ataksiju, opću slabost i nakostrušeno perje (Hill i sur., 1961).

Hipervitaminoza A izazvana u tovnih pilića s 200 mg

retinil-acetata na kg tjelesne mase dnevno, očitovana je deformacijom kostura (Baker i sur., 1967), a 339 ili 660 IJ teturanjem u hodu, odbijanjem hrane, konjuktivitisom, sljepljenje očnih kapaka i pojavom krasta oko kljuna, također i nepravilnostima u rastu kostura (Tang i sur., 1985).

Između dvije bolesti, hipovitaminoze A i hipervitaminoze A očituje se zdravlje peradi što ga najčešće prosuđujemo proizvodnim svojstvima. Samo zdrava će perad moći proizvesti i više i brže bilo jaja ili mesa. Zdravlje pak ovisi o sposobnosti organizma da se brani od štetnog djelovanja uglavnom mikroorganizama, zapravo o učinkovitosti imunog sustava.

Zbog očividno nedefiniranog pojma zdravlja spominju se za to najrazličitije potrebne količine vitamina A, od 1.500 do 12.500 IJ po kg hrane (Siegman, 1983.; Cook, 1991).

<sup>1</sup>Prof. dr. Hrvoje Mazija, Dr. Estella Prukner-Radovčić, znanstveni suradnik, Cassien Ndikumana, dipl. vet., Zavod za patologiju peradi Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 41000 Zagreb, Heinzelova 55.

<sup>2</sup>Prof. dr. Vlasta Šerman, mr. Nora Mas, asistent, Zavod za hranidbu, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 41000 Zagreb, Heinzelova 55.



Neposredni utjecaj vitamina A na imuni sustav peradi relativno je malo istraživano a rezultati su često bili različiti. Najprije, i to još g. 1930. (Green i Mallanby, 1930), ustanovljeno je da općenito djeluje protiv infekcija a njegov nedostatak suprotno, povećana prijemčivost za bolesti. Smanjeni imuni odziv u pilića hranjenih s nedovoljno vitamina A ustanovili su Panda i Cambs (1963), a nestajanje limfocita u limfoidnim organima i tkivima Bang i sur. (1972). Nedostatak vitamina A smanjuje proliferaciju T limfocita što ih potiče antigen (Friedman i Sklan, 1989), a povećava osjetljivost prema newcastleskoj bolesti (Sijtsma i sur., 1989.; Sijtsma i sur., 1989 a).

Ovaj povoljni učinak vitamina A, što povrh zadovoljenja osnovnih potreba, može osigurati i optimalni razvoj i učinak imunokompetentnih organa, samo je rijetko istražen. Šerman i Mazija (1985) istražili su učinak različitih količina vita-

mina A (od 2.500 IJ do 20.000 IJ/kg) u hrani tovnihi pilića, na njihov imuni odziv prema vakcini newcastleske bolesti. Našli su da je za najbolji specifični imuni odziv bilo potrebno 20.000 IJ vitamina A, ali je jednako pri toj količini i prirast tjelesne mase bio najpovoljniji. Povoljno je na HI titar specifičnih protutijela djelovala već količina 2.500 dodanog vitamina A a učinak se poboljšavao njenim povećanjem. Zaključili su da je kao mjeru potrebe na vitaminu A bolje uzeti u obzir imuni odziv negoli jedino proizvodne pokazatelje. Očevidno, još su uvijek nedovoljno poznate potrebe peradi na vitaminu A. To nas je ponukalo da, u ovisnosti od primijenjene količine ovog vitamina, pored imunog odziva na primjenjenu vakcinu newcastleske bolesti, odredimo i stupanj razvijenosti najznačajnijeg organa imunokompetentnog sustava kokoši, Fabricijeve burze.

## MATERIJAL I METODE

U pokusu koristili smo četiri skupine po 40 pilića hibrida teških pasmina Hybro. Kao jednodnevni, useljeni su u zasebne kaveze u istom pokusnom prostoru gdje je mikroklima prilagođena potrebama tovnihi pilića. Hrane pokusnihi pilića, i u početnu i završnu smjesu, primješane su različite količine vitamina A. Svi ostali sastojci hrane bili su prilagođeni proizvodnoj namjeni, kako je to opisano u prethodnom radu (Šerman i sur., 1992). Tablicom 1. prikazujemo shemu pokusa. Pokus je trajao 42 dana.

Pilićima svih skupina izvađena je krv (po 20 uzoraka) neposredno nakon leženja da bi se odredila materalna imunitet prema newcastleskoj bolesti. U dobi 14 dana ponovno im je izvađena krv a zatim su vakcinirani protiv newcastle-

ske bolesti sojem La Sota virusa (Pestikal, Pliva Zagreb) okulonazalno. Nakon toga u tjednim razmacima u dobi 21, 28, 35 i 42 dana izvađena je svim pilićima krv da bi se odredio učinak vakcinacije. U probi inhibicije hemaglutinacije, IH koristili smo dvostruka serijska razrijeđenja seruma i četiri hemaglutinacijske jedinice virusa newcastleske bolesti.

Na kraju pokusa žrtvovali smo po 10 pilića svake skupine te im izdvojili Fabricijeve burze. Iz odnosa tjelesne mase i burze izračunali smo tzv. indeks burze (IB) prema jednadžbi.

$$IB = \frac{\text{masa FB (g)}}{\text{tjelesna masa (g)}} \times 1000$$

Pored spomenutog, bakteriološki smo pretražili jednodnevne, sve uginule piliće tijekom pokusa i žrtvovane na kraju pokusa.

## REZULTATI

Bakteriološkom pretragom organa (srce i jetra) jednodnevnihi pilića nisu izdvojene bakterije.

Klinički, pilići svih skupina, jednako kontrolne i tri pokusne, tijekom istraživanja nisu očitovali znakove bolesti.

Na kraju pokusa, prilikom razudbe pilića radi izdvajanja Fabricijeve burze, također su bakteriološki pretraženi organi (srce i jetra), te su pri tom izdvojene bakterije (kolidne bakterije, *Bacillus* spp., *Streptococcus faecalis* saprofitihi svojstava).

Rezultat pretrage krvnihi seruma pilića kontrolne i pokusnihi pilića prikazujemo Tablicom 2.

Heminhibijski titar seruma jednodnevnihi pilića ukazuje na dosta visoki stupanj imuniteta roditelja pokusnihi pilića. Vrijednosti titra još u dobi 14 dana (dan vakcinacije), nisu opale već prosječno ostale na istom nivou (pad ili porast za 0,04-0,30). Već tjedan dana nakon vakcinacije u svih je pilića došlo do ravnomjernog porasta HI titra, prosječno za 0,5-0,8 log<sub>2</sub>, te je jedino u skupine Pokus II (jela starter s 37.500 IJ vitamina A) bio niži za 0,1 log<sub>2</sub>. Dva tjedna nakon vakcinacije, u dobi pilića 28 dana, HI titar i dalje porasta u svih osam skupina Pokus I (jela finišer s 20.000 IJ vitamina A), gdje pada za 0,1 log<sub>2</sub>. Dok je u kontrolne skupine HI titar porastao za 0,4 log<sub>2</sub> (na 4,9), u Pokusu II porast iznosi 0,6 log<sub>2</sub> (na 5,2) a najviše u pilića



**Količina vitamina A u početnoj i završnoj smjesi pilića**  
**The amounts of vitamin A in starter and finisher feed**

Tablica 1./Table 1.

	Količina vitamina A u hrani (IJ) Početna smjesa (do 21. dana)	Količina vitamina A u hrani (IJ) Završna smjesa (od 21. dana)
Kontrola	12.500	10.000
Pokus I	25.000	20.000
Pokus II	37.500	30.000
Pokus III	50.000	40.000

**Heminhibicijski titar seruma pilića hranjenih različitim količinama vitamina A**  
**(prikazano kao eksponent baze log<sub>2</sub>)**  
**HI titers in sera of chickens fed different amounts of vitamin A**  
**(expressed as log<sub>2</sub>)**

Tablica 2./Table 2.

	Početna smjesa			Završna smjesa			
	Dob (dan)						
	1	14	21	28	35	42	0
Kontrola	3.7	3.7	4.5	4.9	4.4	4.5	4.28
Pokus I	3.7	3.7	4.5	4.4	4.5	4.1	4.15
Pokus II	3.7	4.0	4.6	5.2	4.4	4.0	4.32
Pokus III	3.7	4.0	4.5	5.5	4.1	4.2	4.33

**Indeksi Fabricijeve burze pilića hranjenih različitim količinom vitamina A**  
**Indices of the bursa Fabricius of chickens fed with a different amounts of vitamin A**

Tablica 3./Table 3.

Pokusna skupina	Tjelesna masa pilića (g)	Masa Fabricijeve burze (g)	Indeks burze
Kontrola	1755,8	2,59	1,477
Pokus I	1744,9	2,98	1,708
Pokus II	1799,1	3,00	1,668
Pokus III	1728,8	3,17	1,834

Pokusa II, za 1,0 log<sub>2</sub> (na 5,5).

Tjedan dana kasnije (dob pilića 35 dana) očitovan je u svih skupina pad HI titra, prosječno za 0,5-0,6 log<sub>2</sub> osim u skupine Pokus I, gdje slabo porasta, sa 4,4 na 4,5 log<sub>2</sub>. Na kraju pokusa, u dobi pilića 42 dana (četiri tjedna nakon vakcinacije) HI titrevi uglavnom ostaju isti ili ponešto opadaju. Prosječni HI titar za cijelo razdoblje pokusa najviši (4,33 log<sub>2</sub>) je pilića Pokusa III (jeli najviše vitamina A), nešto manje u pilića Pokusa II (4,32 log<sub>2</sub>) a najmanji u pilića Pokusa I (4,15 log<sub>2</sub>). U kontrolnih je HI titar čak niži (4,2 log<sub>2</sub>) negoli u pilića Pokusa I.

### RASPRAVA I ZAKLJUČCI

Vitamin A (tvari A vitaminskog djelovanja) neosporno značajno utječu na razvoj imunokompetentnih organa. Proizlazi to iz rezultata dosadašnjih istraživanja (Bang i sur., 1972) a tumači se njegovom ulogom u očuvanju epitelnih stanica (Austic i Scott, 1991). Istraživanja što smo ih proveli trebala bi biti prilog odgovoru na pitanje da li je imuni odziv prema vakcini newcastlske bolesti potaknut većim količinama vitamina A negoli su one potrebne za optimalni rast tovnih pilića, te da li je učinkovitost Fabricijeve burze moguće prosuditi određivanjem njena indeksa. Na ovo pitanje odgovor je potvrđen. Pokazuje to HI titar koji je to viši što je veća dodana količina vitamina A. Nije to doduše moguće zaključiti iz prosječnih vrijednosti za čitavo razdoblje pokusa već dva tjedna nakon vakcinacije. Najviši titar tada, zabilježen je skupina Pokus II (1:2<sup>5,2</sup>) i Pokus III (1:2<sup>5,5</sup>) što su u početnoj hrani jele 37.000 odnosno 50.000 a u konačnoj, tijekom tjedan dana, 30.000 odnosno 40.000 IJ vitamina A. S obzirom na HI titar na dan vakcinacije protiv newcastlske bolesti, došlo je do istovjetnog porasta u kontrole i pilića Pokusa II (za 1,2 log<sub>2</sub>) a najvećeg u Pokusu III kojem je dodano najviše vitamina A (za 1,5 log<sub>2</sub>). Nakon postizanja najvišeg titra, prosječno u dobi 28 dana, dolazi u svih pokusnih ali ne i u kontrolne skupine pilića do

Indekse Fabricijeve burze određene u dobi pilića 42 dana prikazujemo narednom Tablicom 3. Izračunate su prosječne vrijednosti za po 10 pilića pojedine skupine u pokusu.

Indeks Fabricijeve burze najmanji je u pilića kontrolne skupine što je jela standardnu hranu s 12.500 i 10.000 IJ vitamina A, slijedi skupina Pokusa II (jeli 37.500 i 30.000 IJ vitamina A), pa pokus I (jeli 25.000 i 20.000 IJ vitamina A) a najviši je skupine Pokusa III kojoj je u početnu smjesu dodano 50.000 a u završnu 40.000 IJ vitamina A.

njegova pada. U tumačenju ovog nalaza možemo potražiti u mogućnosti štetnog učinka vitamina A, dugotrajno primijenjenog u pilića. Na to ukazuje gotovo nepromijenjeni HI titar seruma kontrolnih pilića, te njegov pad počev od dobi 28 dana, to brži što je više vitamina A dodano hrani (Tablica 2).

Pri dodanih 20.000 IJ vitamina A (Pokus I) u konačnoj smjesi, HI titar opada za 0,3 log<sub>2</sub>, pri 30.000 I (Pokus II) taj je pad 1,2 log<sub>2</sub> a pri 40.000 IJ (Pokus III) iznosi čak 1,3 log<sub>2</sub>. Ovaj je nalaz u skladu s rezultatima istraživanja Friedmana i Sklana (1989) koji su u A hipervitaminoze opisali smanjenu proliferaciju T limfocita potaknutih antigenom. Indeks Fabricijeve burze (Tablica 3) pak ukazuje na mogućnost da povećana količina vitamina A u hrani pilića potiče razvoj ovog limfoepitelnog organa ali ne istodobno i proizvodnju heminhibicijskih protutijela.

Rezultati istraživanja ukazuju i na mogućnost da je u završnoj hrani dodano previše vitamina A što potvrđuje već opisana brzina izlučivanja već stvorenih HI antitijela. Zbog toga biti će nužno pored primijenjenih količina vitamina A u početnoj, pilićima primijeniti njegove manje količine u završnoj hrani.

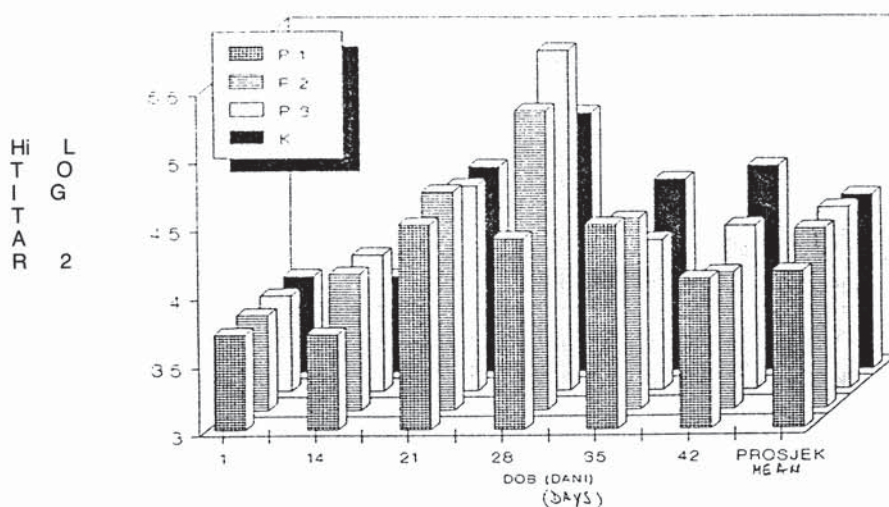
### Literatura

1. ASMUNDSON, V. S., F. H. KRATZER (1952): Observations of vitamin A deficiency in turkey breeding stock. *Poult. Sci.* 31: 71-73.
2. AUSTIC, R. E., M. L. SCOTT (1991): Nutritional disease. U: *Diseases of poultry*. 9<sup>th</sup>ed Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, str. 46-49.
3. BAKER, J. R., J. M. HOWELL, J. N. THOMPSON (1967): Hypervitaminosis A in the Chick. *B. J. Exp. Pathol.* 48: 507-512.
4. BANG, B. G., F. B. BANG, M. A. FOARD (1972): Lymphocyte depression induced in chickens on diets deficient in vitamin A and other components. *Am. J. Pathol.* 680 147.
5. COOK, M. E. (1991): Nutrition and immune response of the domestic fowl. *Crit. Rev. Poultry Biol.* 3: 167-189.
6. FRIEDMAN, A., D. SKLAN (1989): Antigen-specific immune response impairment in the chick as influenced by dietary vitamin a. *J. Nutr.* 119: 790.
7. GREEN, H. N., E. MELLANBY (1930): Carotene and vitamin A: the anti-infective action of carotene. *Br. J. Exp. Pathol.* 11: 81.
8. HILL, F. W., M. L. SCOTT, L. C. NORRIS, G. F. HEUSER (1961): Reinvestigation of the vitamin A requirements of laying and breeding hens and their progeny. *Poult. Sci.* 40: 1245-1254.
9. HINSHAW, W. R., W. E. LLOYD (1934): Vitamin A deficiency in turkeys. *Hilgardia* 8: 281-304.
10. SIEGMAN, O. (1983): *Kompendium der Geflügel Krankheiten* 4. ed. M & H. Schaper, Hannover, str. 189-190.
11. SIJTSMA, S. R., C. E. WEST, J. H. W. M. ROMBOUT, A. J. VAN DER ZIJPP (1989): Effect of Newcastle Disease Virus infection on vitamin A metabolism in chickens. *J. Nutr.* 119: 940.
12. SIJTSMA, S. R., C. E. WEST, J. H. W. M. ROMBOUT, A. J. VAN DER ZIJPP (1989 a): The interaction between vitamin A status and Newcastle Disease Virus infection in chickens. *J. Nutr.* 119: 932.
13. ŠERMAN, VLASTA, H. MAZIJA (1985): Istraživanje utjecaja hranidbe na solidnost stečenog imuniteta protiv nukaslske bolesti. IV Utjecaj različitih količina vitamina A u hrani pilića na imunitet stečenu vakcinacijom protiv nukaslske bolesti. *Vet.*

arhiv 55: 1-8.

14. ŠERMAN, VLASTA, H. MAZIJA, NORA MAS, Z. LUKAC (1992): Imuni odziv kao pokazatelj potrebe kokoši na vitaminima. I. Utjecaj vitamina A na proizvodnost u tovnih pilića. Krmiva 34.2, 59.
15. TANG, K. N., G. N. ROWLAND, J. R. VELTMANN JR. (1985): Vitamin A toxicity: Comparative changes in bone of the broiler and leghorn chocks. Avian Dis. 29: 416-429.

Slika 1./ Graph 1. Heminhibicijski titar krvnih seruma pilića kontrolne i pokusnih skupina  
Heminhibitions titres of chicken blood sera in control and experimental groups



#### ABSTRACT

The influence of a different amounts of vitamin A on the immune response to Newcastle disease vaccine in fattening chickens was investigated. Chickens were divided in three experimental groups. During first three weeks of fattening, chickens in first group received 25.000, second 37.500 and third 50.000 units of the vitamin A. Furthermore, following three weeks the amounts of added vitamin A have been changed to 20.000 (first group), 30.000 (second group) and 40.000 units (third group). Control group of chickens was fed with a poultry ration with 12.500 (starter) and 10.000 units (finisher).

After comparison of the immune response to Newcastle disease vaccine among the groups it was found that the highest amount of vitamin A provoked the best response. However, the time of HI antibodies released was increased proportionally. In chickens fed the highest amount of vitamin the HI titers were the best three weeks after the vaccination. The time of HI antibodies release was the highest as well. Chickens fed the largest amounts of vitamin A had the best bursal index.

These results indicate that more vitamin A in starter feed had beneficial effect on immune response. We suggest, based on this, it is better to reduce the amounts of vitamin A in finisher feed.