

УДК 619:616.98-085.371:636.5.053:612.398.12

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЖИВОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНОЙ «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE»

Громова Л.Н., Громов И.Н., Белко И.А., Румянцева Н.В., Левкина В.А., Никитенко Т.В.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*В работе изучена динамика метаболических изменений в сыворотке крови цыплят, иммунизированных живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» против инфекционного ларинготрахеита, оспы и инфекционного энцефаломиелита. Установлено, что иммунизация птиц вызывает кратковременное повышение активности щелочной фосфатазы, уровня триглицеридов, уменьшение концентрации фосфора в сыворотке крови, не оказывая при этом существенного влияния на активность гаммаглутамилтрансферазы, аспартат- и аланинаминотрансфераз, содержание общего белка, альбумина, общего билирубина, холестерина, глюкозы, креатинина, мочевой кислоты, кальция, железа и магния. Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о низкой реактогенности и достаточной безопасности вакцины «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE». **Ключевые слова:** цыплята, инфекционный ларинготрахеит, оспа, инфекционный энцефаломиелит, иммунизация, живая векторная вакцина, биохимические показатели, сыворотка крови.*

THE DYNAMIC OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SERUM BLOOD OF CHICKENS, IMMUNIZED WITH VECTORMUNE FP-LT+AE LIVE VECTOR VACCINE

Gromova L.N., Gromov I.N., Belko I.A., Rumyantseva N.V., Levkina V.A., Nikitenko T.V.
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The dynamics of metabolic changes in blood serum of chickens, immunized with the live vector vaccine «VECTORMUNE FP-LT+AE» against infectious laryngotracheitis, fowl pox and infectious encephalomyelitis is studied. It is positioned, that immunization of birds causes a short-term increase in the activity of alkaline phosphatase, triglyceride levels, and a decrease in the concentration of phosphorus in the blood serum. The use of this vaccine does not affect the activity of gamma-glutamyl transferase, aspartate- and alanine aminotransferases, the content of total protein, albumin, total bilirubin, cholesterol, glucose, creatinine, uric acid, calcium, iron and magnesium. The obtained research results indicate low reactogenicity and sufficient safety of the VECTORMUNE FP-LT+AE vaccine. **Keywords:** chickens, infectious laryngotracheitis, fowl pox, infectious encephalomyelitis, immunization, live vector vaccine, biochemical parameters, blood serum.*

Введение. Использование живых векторных вакцин в промышленном птицеводстве обосновано иммунологически, экологически и экономически [6, 9, 14]. Отсутствуют перекрестное взаимодействие с материнскими антителами, не наблюдаются поствакцинальные осложнения, предупреждается развитие «роллин-реакций», менее выражена воспалительная реакция в месте инъекции. Экологическая безопасность живых векторных вакцин обусловлена низкой вирулентностью вируса-вектора и встроенными в него генами, ответственными за выработку иммунитета против опасных и особо опасных инфекций. Путем применения векторных вакцин обеспечивается дифференцировка зараженных птиц от вакцинированных животных. Иммунизированная птица защищена, но все еще остается негативной при исследовании сыворотки крови в ИФА (активизация клеточного иммунитета, формирование пула цитотоксических Т-киллеров). Экономическая эффективность обеспечивается за счет одновременной иммунизации против нескольких болезней. Имеющиеся публикации посвящены молекулярно-биологическим аспектам создания векторных вакцин, оценке эпизоотической ситуации при их применении, определению сравнительной иммунологической и экономической эффективности использования рекомбинантных, живых и инактивированных биопрепаратов в птицеводстве [2, 8]. Однако отсутствуют данные о возможных биохимических изменениях в организме птиц под влиянием нового поколения биопрепаратов – живых векторных вакцин. По мнению ряда ученых [1, 10-12], изучение биохимических показателей крови животных и человека является важным и информативным методом исследования, позволяющим наряду с результатами морфологических и иммунологических исследований оценить иммуногенные и остаточные реактогенные свойства биопрепаратов на доклиническом и клиническом этапах испытаний и, в итоге – сделать объективное заключение об эффективности и безопасности конкретной вакцины.

Цель наших исследований – определение биохимических показателей сыворотки крови цыплят, иммунизированных живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» против инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ), оспы и инфекционного энцефаломиелита (ИЭМ).

Материалы и методы исследований. Для проведения исследований были сформированы 2 группы цыплят 42-дневного возраста кросса «Ломанн Коричневый». Птиц 1-й (опытной) группы (55956 голов) иммунизировали живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» (производство «Ceva Sante Animale», Франция). Данная вакцина изготовлена из культуры клеток фибробластов СПФ-эмбрионов кур, инфицированной рекомбинантным вирусом «FP-LT», представляющим собой

вирус оспы птиц, штамм «Cutter», в ДНК которого встроен ген, кодирующий протективный эпитоп вируса ИЛТ (штаммы «632» и «NS175») и гомогената тушек СПФ-эмбрионов кур, инфицированных аттенуированным вирусом ИЭМ (штамм «Calnek»). Одна иммунизирующая доза вакцины содержит не менее $10^{2,7}$ ЦПД₅₀ рекомбинантного вируса «FP-LT» и не менее $10^{2,7}$ ЭИД₅₀ вируса ИЭМ, штамм «Calnek». Вакцину вводили с помощью специального двухигольного инъектора. Иглы инъектора погружали в раствор вакцины таким образом, чтобы заполнились оба желобка (0,01 мл). Затем прокалывали перепонку крыла, избегая касания перьев и попадания в сосуды, мышцы, кости. Иглы инъектора погружали в раствор вакцины перед каждой перфорацией перепонки крыла. Интактные цыплята 2-й группы (100 голов) служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. На 3-й и 7-й дни после иммунизации отбирали пробы крови от 12 цыплят из каждой группы.

В полученной сыворотке крови определяли активность гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), аланин- (АлАт) и аспаратаминотрансфераз (АсАт), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание общего белка, альбумина, мочевой кислоты, креатинина, общего билирубина, общего холестерина, триглицеридов, глюкозы, кальция, фосфора, магния и железа [3, 4, 7, 13]. Исследования проводили на биохимическом анализаторе «Cormau» (Республика Польша) с помощью стандартизированных наборов реактивов. Активность ферментов выражали в МЕ/л, концентрацию общего белка и альбумина – в г/л, содержание триглицеридов, общего холестерина, глюкозы, магния, кальция и фосфора – в ммоль/л, а уровень общего билирубина, креатинина, мочевой кислоты и железа – в мкмоль/л [7]. Кроме того, определяли кальций-фосфорное соотношение.

Результаты исследований показали, что на 3-й день после вакцинации активность ЩФ в сыворотке крови птиц контрольной группы составила $3033,46 \pm 487,10$ МЕ/л, а у иммунизированных цыплят – $2653,31 \pm 463,49$ МЕ/л ($P > 0,05$; рисунок 1). На 7-й день после применения вакцины в сыворотке крови цыплят 1-й группы данный показатель составил $3263,70 \pm 187,34$ МЕ/л, а у птиц 2-й группы – $2045,78 \pm 466,87$ МЕ/л ($P < 0,05$). Усиление процессов дефосфорилирования может свидетельствовать о напряженности метаболических процессов [5].

Нами также установлено, что на 3-й день эксперимента активность ГГТ в сыворотке крови цыплят опытной группы находилась на уровне $25,40 \pm 2,63$ МЕ/л, а у птиц контрольной группы – $26,27 \pm 2,63$ МЕ/л ($P > 0,05$). На 7-й день эксперимента различия данного показателя между группами птиц были также недостоверными.

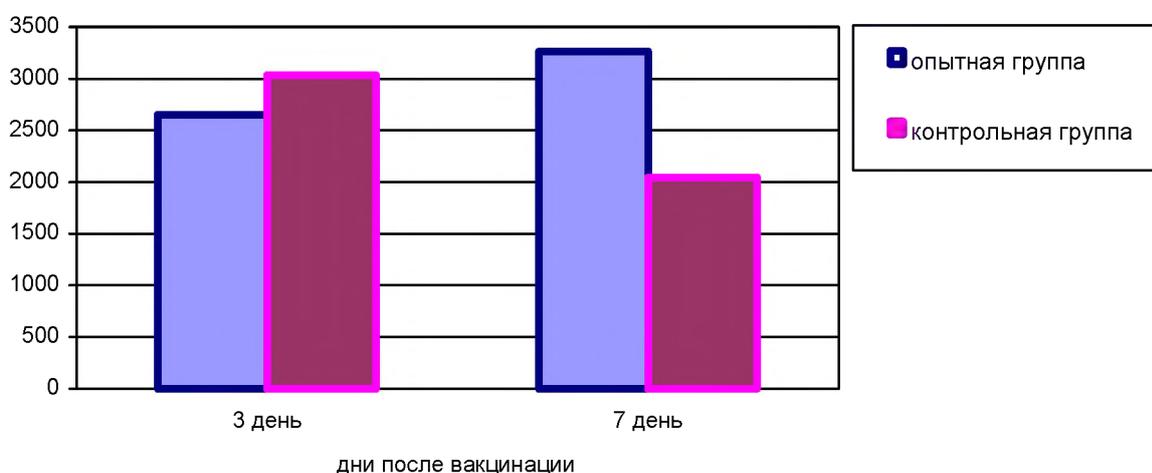


Рисунок 1 – Активность ЩФ в сыворотке крови цыплят (МЕ/л)

Активность АлАт в сыворотке крови цыплят 1-й и 2-й групп на 3-й день после вакцинации составила соответственно $4,46 \pm 0,45$ МЕ/л и $3,86 \pm 0,34$ МЕ/л, а на 7-й день после иммунизации – $3,24 \pm 0,71$ МЕ/л и $3,42 \pm 0,86$ МЕ/л ($P > 0,05$). В эти же дни исследований активность АсАт в сыворотке крови цыплят обеих групп также изменялась недостоверно.

На 3-й день после вакцинации в сыворотке крови иммунизированных птиц 1-й группы концентрация общего белка составила $38,35 \pm 0,75$ г/л, а у интактных цыплят 2-й группы – $37,22 \pm 1,49$ г/л ($P > 0,05$). На 7-й день после иммунизации содержание общего белка в сыворотке цыплят 1-й группы имело тенденцию к некоторому снижению по сравнению с исходными данными, а у птиц 2-й группы – наоборот, незначительно повышалось ($P > 0,05$). При этом у иммунизированного молодняка кур данный показатель находился на уровне $36,16 \pm 2,59$ г/л, а у интактных птиц – $41,75 \pm 2,47$ г/л ($P > 0,05$). Аналогичные изменения были выявлены нами и при определении уровня альбумина в сыворотке крови. Так, на 3-й день эксперимента у цыплят контрольной группы данный показатель находился на

уровне $14,44 \pm 0,78$ г/л, а у вакцинированных птиц – $14,32 \pm 0,56$ г/л ($P > 0,05$). На 7-й день эксперимента концентрация альбумина в сыворотке интактных цыплят незначительно повышалась по сравнению с предыдущим сроком исследований, а у иммунизированных птиц – наоборот, имела тенденцию к некоторому снижению ($P > 0,05$). При этом у птиц 1-й и 2-й групп данный показатель составил соответственно $13,29 \pm 1,09$ г/л и $15,60 \pm 0,97$ г/л ($P > 0,05$). Следовательно, иммунизация цыплят живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» не оказывает негативного влияния на состояние белкового обмена у иммунизированных птиц, в том числе – на белоксинтезирующую функцию печени.

На 3-й день эксперимента концентрация мочево́й кислоты в сыворотке крови птиц контрольной группы составила $297,11 \pm 19,01$ мкмоль/л, а у иммунизированных цыплят – $287,21 \pm 10,25$ мкмоль/л ($P > 0,05$). На 7-й день после применения вакцины у подопытных и интактных птиц происходило достоверное снижение данного показателя по сравнению с предыдущим сроком исследований. Так, концентрация мочево́й кислоты в сыворотке крови цыплят 1-й группы составила $222,48 \pm 21,91$ мкмоль/л ($P < 0,05$), а у птиц 2-й группы – $227,78 \pm 15,47$ мкмоль/л ($P < 0,01$). У птиц мочево́я кислота является конечным продуктом не только пуринового, но и белкового метаболизма. По-видимому, снижение уровня мочево́й кислоты в данном случае было связано с особенностями перестройки белкового и пуринового обменов веществ цыплят кросса «Ломанн Коричневый» в возрастном онтогенезе [5].

Нами также установлено, что на 3-й день эксперимента концентрация креатинина в сыворотке крови цыплят 1-й группы находилась на уровне $29,91 \pm 2,81$ мкмоль/л, а у птиц 2-й группы – $25,35 \pm 1,58$ мкмоль/л ($P > 0,05$). На 7-й день эксперимента различия данного показателя между группами птиц были также недостоверными. В то же время концентрация креатинина у цыплят опытной группы была в 1,4 раза ниже ($P < 0,05$) по сравнению с исходными данными. На 3-й и 7-й дни после вакцинации концентрация общего билирубина в сыворотке крови цыплят 1-й группы составила соответственно $1,95 \pm 0,12$ и $2,32 \pm 0,36$ мкмоль/л, а у птиц 2-й группы – $2,00 \pm 0,10$ и $1,96 \pm 0,12$ мкмоль/л. В течение всего эксперимента содержание глюкозы в сыворотке крови цыплят 1 и 2 групп находилось на уровне $8,53 \pm 1,43$ – $11,36 \pm 0,41$ ммоль/л ($P > 0,05$).

На 3-й день после вакцинации содержание общего холестерина в сыворотке крови птиц контрольной группы составила $2,52 \pm 0,20$ ммоль/л, а у иммунизированных цыплят – $2,47 \pm 0,14$ ммоль/л ($P > 0,05$). На 7-й день после применения вакцины у подопытных и интактных птиц происходило увеличение данного показателя до уровня $2,67 \pm 0,35$ – $2,96 \pm 0,30$ ммоль/л ($P > 0,05$).

Нами также установлено, что на 3-й день эксперимента концентрация триглицеридов в сыворотке крови цыплят опытной группы находилась на уровне $0,83 \pm 0,12$ ммоль/л, а у птиц контрольной группы – $0,70 \pm 0,06$ ммоль/л ($P > 0,05$). На 7-й день эксперимента различия данного показателя между группами птиц были достоверными. При этом уровень триглицеридов в сыворотке крови молодняка кур опытной группы был в 2,3 раза больше ($P < 0,05$) по сравнению с контролем. Жировая ткань птиц имеет ограниченную способность синтеза жирных кислот и большинство жирных кислот, которое аккумулирует жировая ткань птиц, является происходящим из рациона или результатом синтеза в печени [5]. Транспорт жиров между тканями птицы происходит за счет триглицеридов плазмы, липопротеинов. Учитывая, что птица опытной и контрольной групп получала аналогичный рацион, увеличение уровня триглицеридов свидетельствует о нарушении его депонирования липоцитами жировой ткани.

На 3-й день после иммунизации содержание кальция в сыворотке молодняка кур опытной и контрольной групп составляло $1,26 \pm 0,23$ – $0,79 \pm 0,05$ ммоль/л ($P < 0,05$). На 7-й день эксперимента в сыворотке молодняка кур 1-й группы содержание кальция находилось на уровне $0,89 \pm 0,14$ ммоль/л, а у птиц 2-й группы – $1,90 \pm 0,08$ ммоль/л ($P > 0,05$). Концентрация неорганического фосфора в сыворотке крови цыплят подопытной и контрольной групп в течение эксперимента изменялась волнообразно. На 3-й день эксперимента в сыворотке молодняка кур опытной группы данный показатель составил $1,88 \pm 0,11$ ммоль/л, а у птиц контрольной группы – $2,34 \pm 0,10$ ммоль/л ($P > 0,01$). Вероятно, данные изменения связаны с усилением процессов фосфорилирования в процессе формирования иммунного ответа на внедрения вакцинных антигенов. На 7-й день после иммунизации содержание фосфора в сыворотке молодняка кур опытной и контрольной групп находилось на уровне $2,28 \pm 0,17$ – $2,31 \pm 0,24$ ммоль/л ($P < 0,05$).

На 3-й день после проведения вакцинации у опытной группы кальций-фосфорное соотношение составило $1,26 \pm 0,03$, а у цыплят контрольной группы – $0,79 \pm 0,05$ ($P < 0,05$). На 7-й день после иммунизации разница в показателях 1-й и 2-й групп оказалась несущественной.

На 3-й день после вакцинации концентрация магния в сыворотке крови птиц опытной и контрольной групп находилась на уровне $0,83 \pm 0,02$ – $0,83 \pm 0,03$ ммоль/л, а на 7-й день после применения вакцины – $0,85 \pm 0,03$ – $0,89 \pm 0,02$ ммоль/л ($P > 0,05$).

Нами также установлено, что на 3-й день эксперимента концентрация железа в сыворотке крови молодняка кур опытной группы находилась на уровне $17,94 \pm 1,22$ мкмоль/л, а у птиц контрольной группы – $16,23 \pm 0,72$ мкмоль/л ($P > 0,05$). На 7-й день эксперимента различия данного показателя между группами птиц были также недостоверными.

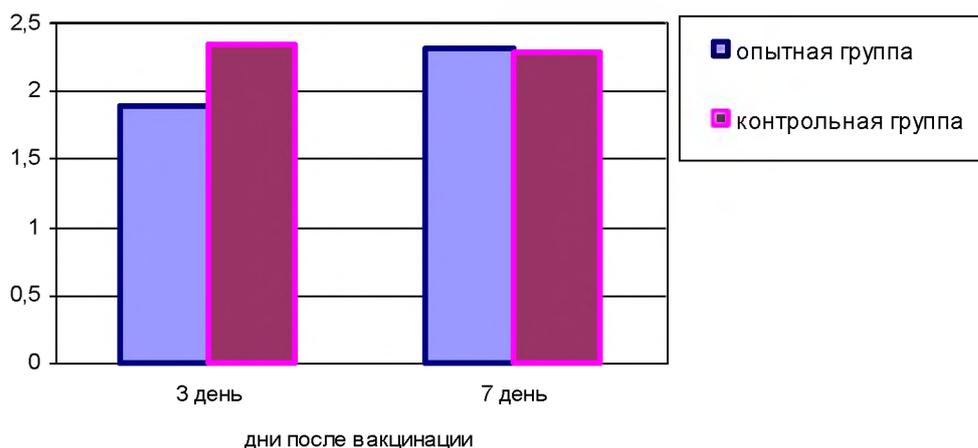


Рисунок 2 – Содержание фосфора в сыворотке крови цыплят (ммоль/л)

Заключение. Таким образом, иммунизация цыплят живой векторной вакциной «ВЕКТОР-МУН FP-LT+AE» против ИЛТ, оспы и ИЭМ вызывает кратковременное повышение активности ЩФ, уровня триглицеридов, уменьшение концентрации фосфора в сыворотке крови, не оказывая при этом существенного влияния на активность ГГТ, АлАт и АсАт, содержание общего белка, альбумина, общего билирубина, холестерина, глюкозы, креатинина, мочевой кислоты, кальция, железа и магния. Полученные результаты исследований свидетельствуют о низкой реактогенности и достаточной безопасности вакцины «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE».

Литература. 1. Громов, И. Н. Биохимические констелляции в организме птиц в условиях антигенной нагрузки / И. Н. Громов, Л. Н. Громова, С. П. Герман // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. : в 2 ч. / УО БГСХА ; редкол. : А. П. Курдеко [и др.]. – Горки, 2012. – Вып. 15, ч. 2. – С. 326–331. 2. Громов, И. Н. Морфология иммунной системы птиц при вакцинации против вирусных болезней / И. Н. Громов. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – С. 241–259, 217–239, 261–263. 3. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. Т. 1 / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – С. 179–182, 193–194, 290–295, 316–323. 4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. Т. 2 / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – С. 114–132, 138–144, 281–324. 5. Конопатов, Ю. В. Основы иммунитета и кормление сельскохозяйственной птицы / Ю. В. Конопатов, Е. Е. Макеева. – Санкт-Петербурга : Петролазер, 2000. – 120 с. 6. Левкина, В. А. Перспективы применения живых векторных вакцин в птицеводстве / В. А. Левкина, И. Н. Громов, Л. Н. Громова // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2021. – № 1. – С. 69–73. 7. Нормативные требования к показателям обмена веществ у животных при проведении биохимических исследований крови : рекомендации / С. В. Петровский [и др.]. – 2-е изд., стереотип. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – С. 10, 15–16, 19–25, 36. 8. Похвальный, С. А. Исследование гуморальной иммунной реакции на применение живой вакцины против ИЛТ у птиц, ранее иммунизированных рекомбинантной вирусной векторной вакциной / С. А. Похвальный, В. Ю. Кулаков, В. Н. Решетникова // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2016. – № 2. – С. 25–27. 9. Придыбайло, Н. Д. Нанотехнологии – путь к созданию новых вакцин для птицеводства / Н. Д. Придыбайло // Материалы V междунар. вет. конгр. по птицеводству, Москва, 21–24 апреля 2009 г. / МСХ РФ, Федер. служба по вет. и фитосанитарному надзору РФ, Росптицесоюз. – Москва, 2009. – С. 26–29. 10. Реактогенность, безопасность и иммуногенность отечественной гриппозной инактивированной расщепленной вакцины «Флю-М» при иммунизации взрослых 18-60 лет / И. В. Фельдблум [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 5. – С. 31–37. 11. Радченко, С. Л. Динамика содержания общего белка и активности холинэстеразы в сыворотке крови гусей, вакцинированных против пастереллеза / С. Л. Радченко, Л. Н. Громова, Б. Я. Бирман // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов / УО ГГАУ. – Гродно, 2005. – Т. 4, ч. 2 : Ветеринария. – С. 224–227. 12. Сравнительная оценка безопасности и иммуногенности вакцины для профилактики полиомиелита инактивированной (Нидерланды) и вакцины «Имовакс Полио» (Франция) при трехкратной иммунизации детей / И. В. Фельдблум [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 3. – С. 60–66. 14. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – С. 124–131. 15. Эффективность векторной и ассоциированной вакцин для специфической профилактики инфекционной бурсальной болезни / А. С. Алиев [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 3. – С. 12–16.

Поступила в редакцию 09.03.2022.