

КОРЕКЦІЯ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ ІНТАКТНИХ ТА ЩЕПЛЕНИХ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ КУРЧАТ З ВИКОРИСТАННЯМ ПРОБІОТИЧНОГО НАНОМЕТАЛОГЛОБУЛІНОВОГО ПРЕПАРАТУ

Л. В. КОВАЛЕНКО, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

О. С. СОЛОДЯНКІН, кандидат біологічних наук

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

E-mail: larbuko@gmail.com, olexii.solod@gmail.com

Анотація. Розробка ефективних комплексних препаратів для підвищення життєздатності молодняка сільськогосподарських тварин шляхом стимуляції активності імунітету, вивчення біологічного впливу цих препаратів на експресію генів цитокінів та формування гуморального імунітету за його маркерами, є актуальною проблемою.

Метою досліджень було встановити вплив комплексного пробіотичнометалоглобулінового препарату (ПНМГП) на динаміку факторів вродженого імунітету у інтактних курчат та при їх щепленні живою вакциною проти ньюкаслської хвороби.

Дослідження проведені у ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Було сформовано 3 групи (n=15) клінічно здорових курчат. Птиця 1-ї та 2-ї дослідних груп отримувала ПНМГП, починаючи з 5-ї доби життя протягом 5 діб у дозі 5 г/голову, змішаний з комбікормом. Третя група птиці була контрольною. На 17 добу досліді проведено щеплення птиці 2-ї дослідної та 3-ї груп комерційною живою вакциною проти хвороби Ньюкасла із штаму Ла-Сота. На 27,

37 та 47 добу досліді по 5 голів з кожної групи були еутаназовані та відібрана кров для клініко-біохімічних та молекулярно-генетичних досліджень.

Встановлено, що згодовування ПНМГП викликає підвищення кількості лейкоцитів у крові на 11,3%– 23,9% та рівня гемоглобіну на 9,6%– 49,0% щодо відповідних показників курчат контрольної групи. Застосування препарату обумовлює підвищення рівня забезпеченості організму дослідної птиці залізом. Зокрема, коефіцієнт насиченості трансферину залізом впродовж періоду дослідження у птиці 1 групи був підвищеним на 28,7%–34,3%, аналогічний вплив встановлено у курчат 2 групи.

Під дією ПНМГП відбуваються різноспрямовані зміни рівня маркерів неспецифічного гуморального імунітету: у сироватці крові дослідної птиці підвищується рівень загального білку за рахунок фракції глобулінів і вміст циркулюючих імунних комплексів, послаблюється супресивний вплив живої вакцини проти ньюкаслської хвороби на гуморальну ланку імунітету – рівень Sm у птиці 2-ї групи порівняно з показниками курчат 3-ї групи був нижчим на 10,0%, 8,6% та 25,0% на

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

10, 20 та 30 добу після щеплення відповідно. У курчат 1 групи рівень експресії гена IL-2 перевищував контрольні значення на 91,1%, та 88,8% на 27 та 47 добу дослідження відповідно, а на 37 добу – у 10,7 разів, а IL-17 – на 50,0% та 59,2% на 27 та 47 добу відповідно, на 37 добу – у 3,5 разів. Інтенсивність експресії генів IL-2 та IL-17 у курчат 2 групи був максимально підвищеним у 20,7 разів та у 2,4 разів відповідно. Отримані нами дані свідчать про виражений імуномодуючий вплив ПНМГП на стан вродженого імунітету птиці. Це сприяє посиленню синтезу специфічних поствакцинальних антитіл до вірусу ньюкасльської хвороби: їх рівень у птиці 2-ї групи перевищував показники групи

контролю на 14,3% – 25,7% впродовж терміну досліджень.

Отримані нами дані за встановленими тенденціями розвитку імунних реакцій при застосуванні комплексного про біотичного нанометалоглобулінового препарату співпадають з результатами інших дослідників і можуть бути використані як підґрунтя для розробки та застосування засобів для підвищення вродженого імунітету тварин та імуногенності вакцинних препаратів.

Ключові слова: комплексний пробіотичний нанометалоглобуліновий препарат, вроджений імунітет, птиця, експресія генів цитокінів, вакцинація, специфічний імунітет

Галузь птахівництва є однією з найбільш ефективних галузей сільського господарства та важливим джерелом забезпечення населення продовольчими ресурсами. У той же час, висока концентрація птиці на обмежених площах, порушення технології утримання та годівлі супроводжуються зниженням рівня природної резистентності та стійкості організму птиці до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища, у тому числі біотичного походження [1; 2], Регуляторний тиск та сучасні споживчі вимоги до харчових продуктів спонукають птахівничі господарства здійснювати засобів, які б підвищували показники здоров'я та продуктивності птиці при промисловому застосуванні. За

останні роки альтернативою антибіотикам стали пробіотичні препарати. Серед переваг їх застосування є продукування ними природно синтезованих антимікробних пептидів, модуляція імунологічних та морфологічних змін у кишечнику, сприяння біосинтезу та засвоєнню білка, інших біологічно активних речовин, підвищення природної резистентності організму, а також наявність антагоністичних відносин з патогенною та умовно-патогенною для організму мікрофлорою [3-5].

Аналіз сучасних даних світової спеціальної літератури свідчить, що дослідженням впливу пробіотичних препаратів на організм тварин та птиці, у тому числі на експресію генів

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

цитокінів та при вакцинації, приділяється значна увага [6-8].

Поліетіологічна природа порушень обміну речовин та зниження вродженого імунітету у тварин та птиці, особливо молодняку, обумовлює необхідність застосування ефективних комплексних засобів, які володіють імуномодулюючими властивостями, у тому числі з використанням наночасток [9; 10]. Тому розробка ефективних комплексних препаратів для підвищення життєздатності молодняку сільськогосподарських тварин шляхом стимуляції активності імунітету, вивчення біологічного впливу цих препаратів на експресію генів цитокінів та формування гуморального імунітету за його маркерами, залишається актуальною проблемою [11-13].

Враховуючи вищезначене, **метою наших досліджень** було встановити вплив комплексного пробіотично-металопротеїнового препарату на динаміку факторів вродженого імунітету, зокрема експресію генів цитокінів, у молодняку сільськогосподарської птиці, як інтактної, так і за щеплення живої вакцин проти ньюкаслської хвороби.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені у лабораторії клінічної біохімії спільно зі співробітниками відділів вивчення хвороб птиці імолекулярної епізоотології та діагностики ННЦ

«ІЕКВМ» у 2017 році. При цьому використовували розроблений нами комплексний пробіотичний нанометалоглобуліновий препарат (ПНМГП), нешкідливість якого доведено на білих мишах, а вплив на клініко-біохімічні показники – на птиці [14].

У досліді використано 45 клінічно-здорових курчат 1-добового віку масою 32-45 г, отриманих з благополучного щодо інфекційних захворювань птахогосподарства. Було сформовано 3 групи (n=15) курчат за принципом аналогів. Птиця 1-ї та 2-ї дослідних груп отримувала препарат, починаючи з 5-ї доби життя протягом 5 діб у дозі 5 г/голову, змішаний з комбікормом. Третя група птиці була контрольною. На 17 добу досліді проведено щеплення птиці 2-ї дослідної та 3-ї груп комерційною живою вакциною проти хвороби Ньюкасла із штаму Ла-Сота інтраназально у дозі 10^6 ІЕО. Перед проведенням досліді, перед вакцинацією та тричі впродовж з інтервалом 10 діб проводили зважування курчат. На 27, 37 та 47 добу досліді по 5 голів з кожної групи були еутаназовані та відібрана кров для клініко-біохімічних та молекулярно-генетичних досліджень.

У крові досліджували рівень лейкоцитів, еритроцитів та гемоглобіну, у сироватці крові – рівень загального білка, білкових фракцій, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

молекулярної маси, серомукоїдів та її залізоzv'язуючої здатності за загальноприйнятими методиками [15], а також рівень специфічних антитіл проти хвороби Ньюкасла в РЗГА.

Рівень експресії генів цитокінів (IL-2, IL-17) визначали методом *Real-time qPCR*. Екстракцію РНК проводили методом Хомчинського з використанням комерційного тризолу "Trizol RNA Prep100" [16]. Для визначення експресії генів використовували олігонуклеотиди, розроблені *Hong Y.H.* та співавторами, 2006 [17]. Реакцію ампліфікації проводили з використанням набору *Maxima SYBR Green/ROX qPCR MasterMix Thermo Fisher Scientific, США*) в ампліфікаторі *Applied Biosystems® 7500 FAST*. Визначені при постановці ПЛР показники інтенсивності флуоресценції інтеркалюючих флуоресцентних імпульсів були використані для обчислення показників експресії генів відносно контролю (активності GAPDH), які виражали у відносних одиницях, використанням Excel-калькуляторів, люб'язно наданих лабораторією з вивчення інфекційних хвороб птиці USDA (США).

Результати досліджень

Встановлено позитивний вплив розроблюваного ПНМГП на приріст птиці. Так, найвищий показник середньодобового приросту за 31 добу дослідження зафіксовано у птиці 1-ї групи – 19,3 г, тоді як у курчат 2-ї групи, які перед вакцинацією отримували

ПНМГП, цей показник склав 18,1 г, а у птиці 3-ї групи (лише вакцинованої) – 16,8 г.

При визначенні гематологічних показників у динаміці дослідження, найбільш виражені зміни встановлено щодо рівня лейкоцитів у птиці 3 групи – введення вакцини зумовило вірогідне підвищення цього показника відносно середніх значень 1-ї групи на 17,5%, 55,2% та 129,8% на 27, 37 та 47 добу дослідження. Задавання ПНМГП обумовлювало підвищення кількості лейкоцитів на 11,3% на 10 добу та на 23,9% на 20 добу після вакцинації щодо середніх показників 3-ї групи. Однак на 30 добу після вакцинації рівень лейкоцитів у птиці 2-ї групи знизився порівняно з попереднім показником на 28,2% та щодо рівня 3-ї групи – 42,0% ($p \leq 0,05$).

Також у птиці 1-ї та 2-ї груп зафіксовано підвищення рівня гемоглобіну відносно показників 3-ї групи: на 49,0% і 37,1% на 27 добу, на 31,3% та 9,6% на 37 добу та на 44,5% та 18,0% на 47 добу дослідження.

Оскільки розроблений препарат містить аквацитрат нанозаліза, у процесі дослідження було визначено комплекс показників, що характеризують забезпеченість організму птиці цим макроелементом. Встановлено що рівень залізоzv'язуючої здатності (ЗЗЗ) сироватки крові птиці 1-ї групи перевищувала показник контрольної групи на 40,0%, 14,7% і 30,7%, а концентрація заліза у сироватці крові

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

була вищою на 180,5%, 88,8% та 143,3% на 27, 37 та 47 добу дослідження відповідно. Таке збільшення вмісту заліза забезпечило підвищення коефіцієнта насиченості залізом трансферину впродовж періоду дослідження у птиці, що отримувала лише препарат на 28,7%–34,3%.

Динаміка вищеназваних показників у птиці 2-ї групи свідчить про негативний вплив вакцинації на рівень заліза в сироватці крові. Зокрема, на це вказує знижений рівень у цієї птиці відносно показників 1-ї групи заліза на 46,7%, 28,3% і 36,5%, 333 – на 19,0%, 8,9% і 16,3%, коефіцієнта насиченості трансферину залізом – на 22,1%, 27,4% та 27,3% на 21, 28 та 35 добу дослідження відповідно.

Застосування ПНМГП також обумовлювало різноспрямовані зміни рівня маркерів неспецифічного гуморального імунітету у сироватці крові дослідної птиці (таблиця). Так, через 10 діб після вакцинації у птиці, яка отримувала препарат, рівень загального білку був підвищеним на 16,2% порівняно з невакцинованими курчатами та практично не відрізнявся показника вакцинованої птиці, через 20 діб – на 21,3% та через 30 діб – на 12%.

На 7, 14 та 21 добу після вакцинації вміст глобулінів у птиці 2 групи був підвищений на 49,3%, 34,3% та 27,7% щодо показників птиці 1-ї групи, а відносно показників курчат 3-ї групи на 16,7%, 14,2% та 8,9% відповідно.

Згодовування препарату забезпечувало статистично вірогідне підвищення утворення ЦІК на 26,0% при вакцинації на 7 добу та 21 добу позитивний вплив препарату зберігався – перевищення складало 20,0%, що свідчить про активізацію клітинної ланки імунітету.

При проведенні дослідження встановлено дані, які свідчать, що застосування комплексного препарату сприяє зниженню супресивного впливу вакцини проти Ньюкасла із штаму Ла-Сота на гуморальну ланку імунітету – рівень Sm у птиці 2-ї групи порівняно з показниками курчат 3-ї групи був нижчим на 10,0%, 8,6% та 25,0% на 10, 20 та 30 добу після щеплення відповідно. При вивченні рівня експресії генів цитокінів встановлено, що застосування препарату обумовлює стимуляцію їх активності впродовж усього періоду досліджень. Дані рис.1 свідчать, що рівень експресії гена IL-2 у курчат 1 групи перевищував контрольні значення на 91,1%, та 88,8% ($p \leq 0,05$) на 27 та 47 добу дослідження відповідно. На 37 добу цей показник знижувався відносно попередніх значень, однак на фоні суттєвого його зменшення у контрольної групи, перевищення активності складало 10,7 раз. Експресія гена IL-17 (рис. 2), при застосуванні ПНМГП перевищувала рівень контролю на 50,0% та 59,2% на 27 та 47 добу відповідно, а на 37 добу зафіксована його максимальна активність, коли

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

показник був вищим контролю у 3,5раза.

1. Динаміка маркерів вродженого імунітету при застосуванні ПНМГП та вакцинації проти ньюкасльської хвороби (M±m; n=5)

Група	Показники			
	Загальний білок, г/л	γ-глобулін, г/л	ЦК, мг/мл	Серомукоїди, мг/мл
27 доба дослідю				
1 ПНМГП	36,9±0,88	22,9±1,9	0,10±0,003	0,19±0,003
2. ПНМГП+вакцина	42,9±2,00	34,2±1,5 ¹⁾	0,11±0,006	0,19±0,002
3. Вакцина	38,0±0,68	29,3±0,8	0,11±0,006	0,20±0,01
37 доба дослідю				
1 ПНМГП	32,9±1,4	28,0±0,8	0,103±0,006	0,160±0,006
2. КНМГП+вакцина	39,9±2,2	37,6±2,5 ¹⁾	0,126±0,01 ¹⁾	0,150±0,002 ¹⁾
3. Вакцина	36,3±1,3	28,9±0,9	0,10±0,00	0,163±0,006
47 доба дослідю				
1 ПНМГП	36,9±1,1	30,3±1,4	0,11±0,006	0,14±0,006
2. ПНМГП+вакцина	41,4±1,1 ¹⁾	38,7±0,8 ¹⁾	0,12±0,006 ¹⁾	0,12±0,001 ¹⁾
3. Вакцина	36,4±1,0	30,6±2,0	0,10±0,002	0,15±0,002

¹⁾ – різниця статистично вірогідна щодо показників 3-ї (контрольної групи) при p≤0,05.

З даних рисунків видно, що імуносупресивний вплив живої вакцини проти хвороби Ньюкасла на рівень експресії генів цитокінів були найнижчими впродовж усього періоду дослідю, що може свідчити про певний

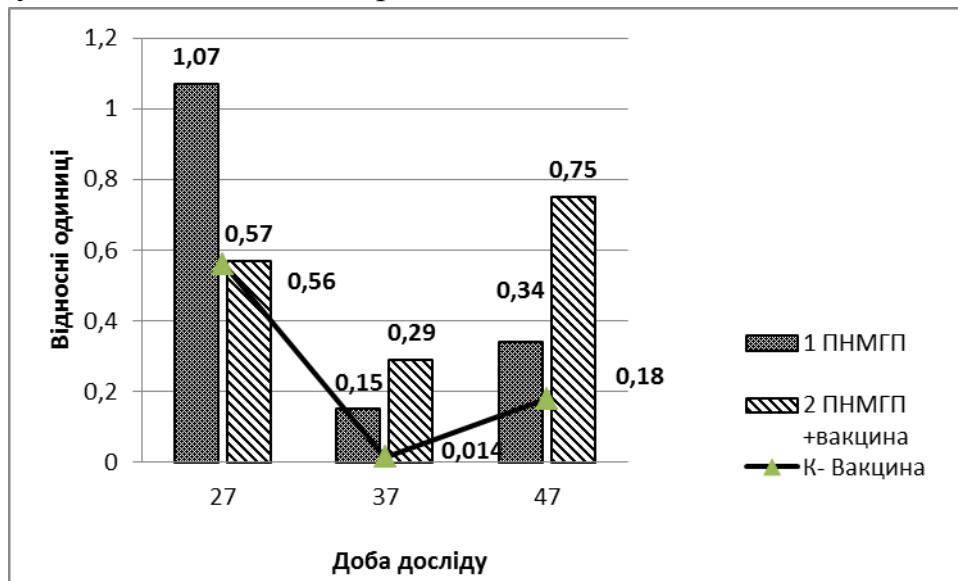


Рис. 1. Рівень експресії гена ІЛ-2 при застосуванні ПНМГП та вакцинації проти ньюкасльської хвороби

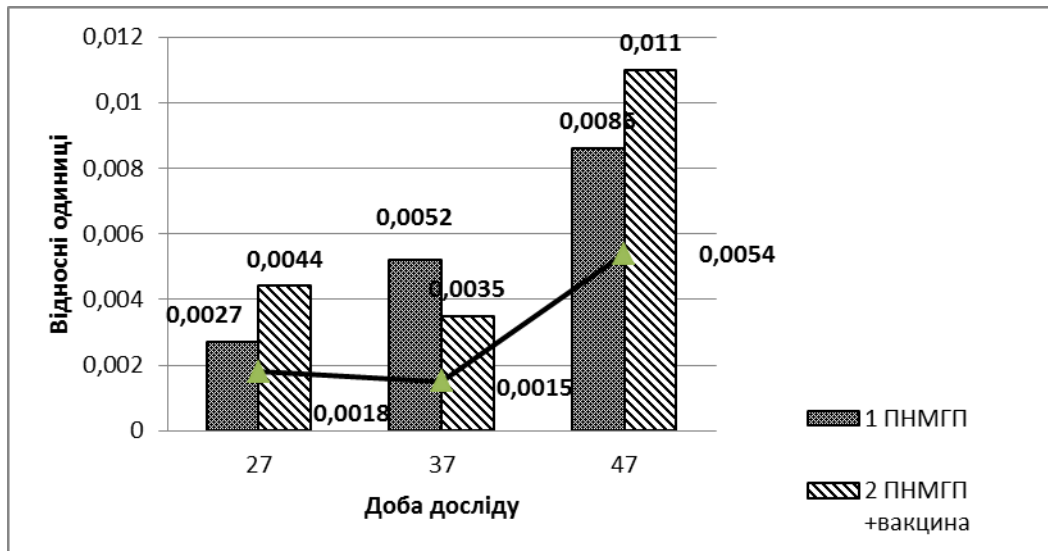


Рис 2. Рівень експресії гена ІЛ-17 при застосуванні ПНМГП та вакцинації проти ньюкасльської хвороби

Динаміка впливу ПНМГП на активність генів цитокінів при вакцинації мала дещо інший характер – максимальне посилення експресії гена ІЛ-2 у 20,7 та 4,2 рази зафіксовано на 27 та 47 добу, дослідю, а ІЛ-17 – на 37 та 47 добу – у 2,4 рази відносно показників інфікованої групи.

Виходячи з того, що ІЛ-2 є фактором росту та диференціювання Т-лімфоцитів і НК-клітин, а також у меншій мірі В-лімфоцитів, а ІЛ-17 стимулює гранулоцитопоез і бере участь в регуляції багатьох цитокінів,

у тому числі тих, що стимулюють напрацювання антитіл (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-15) [13; 18] можна констатувати, що застосування ПНМГП сприяє активізації як клітинних, так і гуморальних клітинних факторів імунітету при щепленні, зокрема живої вакцини проти хвороби Ньюкасла.

Цей висновок підтверджують дані визначення титру специфічних до вірусу Ньюкасла антитіл (рис. 3).

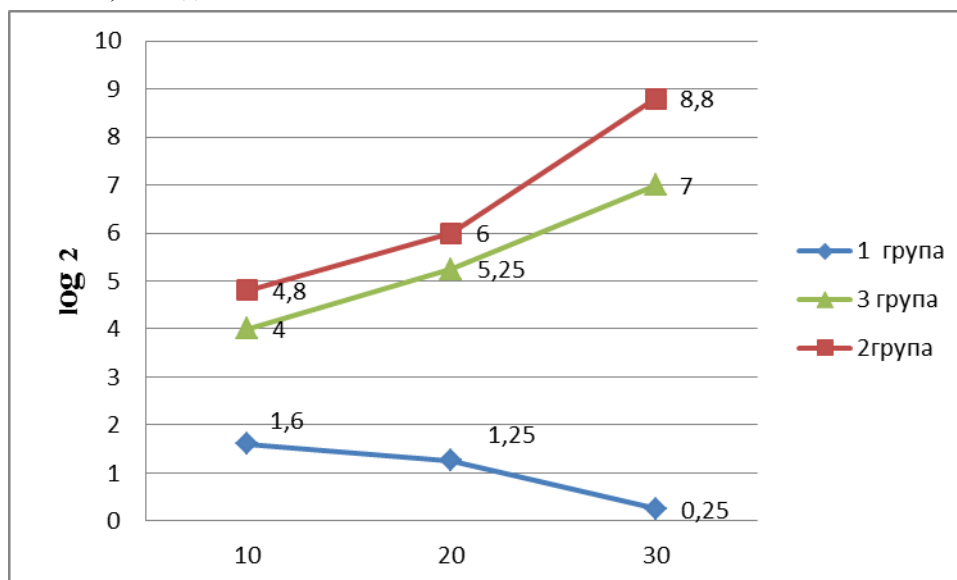


Рис. 3 – Динаміка рівня антитіл до вірусу Ньюкасла у РНГА при застосуванні ПНМГП та вакцинації проти ньюкасльської хвороби ((M±m; n=5).

Так, у птиці 2-ї групи рівень специфічних антитіл перевищував показники групи контролю на 20,0%, 14,3% та 25,7% на 10, 20 та 30 добу після вакцинації відповідно. Наявність антитіл у птиці 1 групи пояснюється материнським імунітетом, що підтверджується їх елімінацією наприкінці досліджу.

Висновки і перспективи

1. Застосування розробленого комплексного нанометалоглобулінового (ПНМГП) обумовлює підвищення кількості лейкоцитів у крові та гемоглобіну, а також забезпеченості організму залізом.

2. Згодовування ПНМГП викликає різноспрямовані зміни рівня маркерів розвитку вродженого імунітету за неспецифічного гуморального імунітету: застосування у сироватці крові дослідної птиці комплексного пробіотичного препарату співпадають підвищувався рівень загального білку за результатами інших дослідників, а рахунок фракції глобулінів та ЦІК, аотримані дані можуть бути

також вірогідно знижувалась концентрація серомукоїдів, що вказує на зниження імуносупресивного впливу живої вакцини проти ньюкасльської хвороби на організм птиці.

3. Імуномодуючі властивості ПНМГП підтвержені результатами дослідження експресії генів цитокінів ІЛ-2 та ІЛ-17, рівень яких при вакцинації був максимально підвищеним у 20,7 раза

4. Згодовування розробленого препарату сприяє посиленню синтезу поствакцинальних антитіл до вірусу ньюкасльської хвороби: їх рівень у птиці 2-ї групи перевищував показники групи контролю на 14,3% – 25,7% впродовж терміну досліджень.

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

використані як підґрунтя для розробки та застосування засобів підвищення

References

1. Ostrovskiy, A.V., Kudryavtseva E.N., Gusakov V. K. (1999). Estestvennaya rezistentnost' kur-nesushek [Natural resistance of chicken bearers]. Scientific records of Education institutions "Vitebsk Academy of Veterinary Medicine", 35 (1), 210-211.

2. Krasochko, P. A., Yakubovskiy, M. P., Krasochko, I. A., Lysenko, A. P., Eremets, V. I., Prudnikov, V. S., Yatushevich, A. I., Kovalev, N. A., Boroznov, S. L., Mashero, V. A., Golushko, V. M., Mishayeva, N. P., Kuchinskiy, M. P., Malashko, V. V., Veremey, E. I., Krasochko, P. P., Malashko, D. V., Stepanova, E. A., Eremets, N. G., Eremets, N. K. (2008). Immunokorreksiya v klinicheskoy veterinarnoy meditsine [Immunocorrection in clinical veterinary medicine]. Minsk: Tekhnoperspektiva, 507.

3. Cavazzoni, V., Adami, A. Castrovilli, C. (1998). Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. *Br Poult Sci*, 39 (4), 526-5299. doi: 10.1080/00071669888719

4. Grant, A., Gay, C. G., Lillehoj, H. S. (2018). *Bacillus* spp. as direct-fed microbial antibiotic alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. *Avian Pathol*, 2, 1-13. doi: 10.1080/03079457.2018.1464117

5. Cui, L. H., Yan, C. G., Li, S. H., Kim, W. S., Hong, L., Kang, S. K., Choi, Y. J., Cho, C. S. (2014). A New Method of Producing a Natural Antibacterial Peptide by Encapsulated Probiotics Internalized with Inulin Nanoparticles as Prebiotics. *J*

природної резистентності тварин та імуногенності вакцинних препаратів.

Microbiol Biotechnol, 28 (4), 510-519. doi: 10.4014/jmb.1712.12008

6. Khabar, K. S. (2014) Post-transcriptional control of cytokine gene expression in health and disease. *J Interferon Cytokine Res.*, 34 (4), 215-2199. doi: 10.1089/jir.2013.0151

7. Bhardwaj, R., Verma, R., Deka, D., Dubey, P. P., Arora, J.S., Sethi, R. S., Tolankhomba, T. C., Mukhopadhyay, C. S. (2018) Validation of immunomodulatory effects of lipopolysaccharide through expression profiling of Th1 and Th2 biased genes in Newcastle disease virus vaccinated indigenous chicken. *Vet World*, 11 (4). 437-445. doi: 10.14202/vetworld.2018.437-445r

8. Park, H. E., Park, H. T., Jung, Y. H., Yoo, H, S. (2018). Gene expression profiles of immune-regulatory genes in whole blood of cattle with a subclinical infection of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*. *PLoS One*, 26; 13, (4), e0196502. doi: 10.1371/journal.pone.0196502.

9. Cui, L. H., Yan, C. G., Li, H. S., Kim, W.S., Hong, L., Kang, S .K., Choi, Y. J., Cho C. S. (2018). A New Method of Producing a Natural Antibacterial Peptide by Encapsulated Probiotics Internalized with Inulin Nanoparticles as Prebiotics. *J Microbiol Biotechnol.*, 28 (4), 510-519. doi: 10.4014/jmb.1712.12008

10. Lee, S. H., Jang, S. I., Kim, D.K., Ionescu, K., Bravo, D., Lillehoj, H.S. (2010). Synergistic effect of dietary Curcuma, Capsicum, and Lentinus on Enhancing Local Immunity Against

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

Eimeria acervulina Infection. Journal of Poultry Science 47:89-95.

11. Yausheva, E., Miroshnikov S., Sizova, E. (2018). Intestinal microbiome of broiler chickens after use of nanoparticles and metal salts. Environ Sci Pollut Res Int. [Epub ahead of print]. doi: 10.1007/s11356-018-1991-5.

12. Shokryazdan, P., Faseleh, J. M., Liang, J.B., Ramasamy, K., Sieo, C.C., Ho, Y. W. (2017). Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens., PLoS One., 12 (5):e0175959. doi: 10.1371/journal.pone.0175959.

13. Susta, L., Diel, D. G., Courtney, S., Cardenas-Garcia, S., Sundick, R. S., Miller, P. J., Brown, C. C., Afons, C. L. (2015). Expression of chicken interleukin-2 by a highly virulent strain of Newcastle disease virus leads to decreased systemic viral load but does not significantly affect mortality in chickens. Virol J., 12, 122. doi: 10.1186/s12985-015-0353-x.

14. Kovalenko, L. V., Boiko, V. S., Rudenko, O. P., Krotovska, Yu. M. (2017) Vplyv kompleksnoho probiotychno nanometalohlobulinovoho preparatu na riven pokaznykiv nespetsyfichnoi rezystentnosti kurchat [Influence of the complex probiotic nanometalloglobulin preparation on the level of indices of nonspecific resistance

of chickens]. Veterinary medicine, 103, 335-339.

15. Stehni B. T. Kovalenko L. V, Mykhailova, S. A., Rudenko, O. P., Boiko, V. S., Matiusha, L. V., Krotovska, Yu. M. (2013). Metody doslidzhen markeriv funktsionalnoho stanu klityn peryferychnoi krovi ta kistkovoho mozku tvaryn [Methods of research of markers of the functional state of cells of peripheral blood and bone marrow of animals.]. Kharkiv, 59.

16. Chomczynski, P., Sacchi N. (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem., 162 (1), 156-159. doi: 10.1006/abio.1987.9999

17. Hong, Y. H., Lillehoj, H. S., Lee, S. H., Dalloul, R. A., Lillehoj, E. P. (2006). Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. Vet Immunol Immunopathol., 114 (3-4), 209-223. doi: 0.1016/j.vetimm.2006.07.007

18. Kim, W. H., Jeong, J., Park, A. R., Yim, D., Kim, Y. H., Kim, K.D., Chang, H.H., Lillehoj, H.S, Lee B.H., Min, W. (2012). Chicken IL-17F: identification and comparative expression analysis in *Eimeria*-infected chickens. Dev Comp Immunol., 38 (3), 401-409. doi: 10.1016/j.dci.2012.08.002.

**КОРРЕКЦИЯ ВРОЖДЕННОГО
ИММУНИТЕТА ИНТАКТНЫХ И
ПРИВИТЫХ ПРОТИВ
НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ
ЦЫПЛЯТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ПРОБИОТИЧЕСКОГО
НАНОМЕТАЛОГЛОБУЛИНОВОГО
ПРЕПАРАТА**

Л. В. Коваленко, А. С. Солодянкин

Анотация.

эффективных препаратов для повышения жизнеспособности сельскохозяйственных животных путем стимуляции активности иммунитета, изучение биологического воздействия этих препаратов на экспрессию генов цитокинов и

Разработка комплексных препаратов для повышения жизнеспособности молодых животных путем стимуляции активности иммунитета, изучение биологического воздействия этих препаратов на экспрессию генов цитокинов и

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

формирование гуморального воздействия установлено у цыплят 2 иммунитета по его маркерам, группы. является актуальной проблемой.

Целью исследований было установить влияние комплексного пробиотико-металлопротеинового препарата (ПНМГП) на динамику факторов врожденного иммунитета у интактных цыплят и при прививке живой вакцины против ньюкаслской болезни. Под действием ПНМГП происходят разнонаправленные изменения уровня маркеров неспецифического гуморального иммунитета: в сыворотке крови опытной птицы повышается уровень общего белка за счет фракции глобулинов и содержание циркулирующих иммунных комплексов,

Исследования проведены в ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины». Болезни на клеточное звено живой вакцины против ньюкаслской болезни на клеточное звено. Было сформировано 3 группы (n = 15) иммунитета – уровень Sm у птицы 2 и клинически здоровых цыплят. Птица 1-й группы по сравнению с показателями и 2-й опытных групп получала ПНМГП, цыплят 3-й группы был ниже на начиная с 5-го дня жизни в течение 510,0%, 8,6% и 25,0% на 10, 20 и 30 суток в дозе 5 г/голову, смешанный ссутки после прививки комбикормом. Третья группа птицы соответственно. У цыплят 1 группы была контрольной. На 17 суток опыта уровень экспрессии гена IL-2 птица 2-й опытной и 3-й групп была превышал контрольные значения на привита коммерческой живой вакциной 91,1%, и 88,8% на 27 и 47 суток против болезни Ньюкасла из штамма опыта соответственно, а на 37 Ла-Сота. На 27, 37 и 47 суток опыта посутки - в 10,7 раза, а IL-17 - на 50 0% 5 голов из каждой группы были 59,2% на 27 и 47 суток еутаназированы и отобрана кровь для соответственно, на 37 суток - в 3,5 клиничко-биохимических и молекулярно-раза. Интенсивность экспрессии генетических исследований.

Установлено, что скормливание ПНМГП вызывает повышение количества лейкоцитов в крови на 11,3% - 23,9% и уровня гемоглобина на 9,6% - 49,0% относительно соответствующих показателей цыплят контрольной группы. Применение препарата обуславливает повышение уровня обеспеченности организма исследовательской птицы железом. В частности, коэффициент насыщенности трансферрина в течение периода исследования у птицы 1 группы был повышенным на 28,7% - 34,3%, аналогичное генов IL-2 и IL-17 у цыплят 2 группы был максимально повышенным в 20,7 раза и в 2,4 раза соответственно. Полученные нами данные свидетельствуют о выраженном иммуномодулирующем влиянии ПНМГП на состояние врожденного иммунитета птицы. Это способствует усилению синтеза специфических поствакцинальных антител к вирусу ньюкаслской болезни: их уровень у птицы 2-й группы превышал показатели группы контроля на 14,3% - 25,7% в течение срока исследований. Полученные нами данные по установленным тенденциям развития

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

иммунных реакций при применении комплексного пробиотического нонметалоглобулинового препарата совпадают с результатами других исследователей и могут быть использованы как основа для разработки и применения средств для повышения врожденного иммунитета животных и иммуногенности вакцинных препаратов.

Ключевые слова: комплексный пробиотический нанометалоглобулиновый препарат, врожденный иммунитет, птица, экспрессия генов цитокинов, вакцинация, специфический иммунитет

CORRECTION OF THE INNATE IMMUNITY OF INTACT AND VACCINATED AGAINST NEWCASTLE DISEASE CHICKENS WITH THE USE OF PROBIOTIC NANOMETAL GLOBULIN PREPARATION

L.V. Kovalenko, O.S. Solodiankin

***Abstract.** The development of effective complex drugs for increasing the viability of young farm animals by stimulating the activity of immunity, studying the biological effects of these drugs on the expression of cytokine genes and the formation of humoral immunity by its markers is an urgent problem.*

The aim of the research was to determine the effect of the complex probiotic-metal-protein preparation (PNMGP) on the dynamics of innate immunity factors in intact chickens and when they are vaccinated with a live vaccine against Newcastle disease.

The research was carried out at the NSC "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine". Three

groups (n = 15) of clinically healthy chickens were formed. Birds of the 1st and 2nd experimental groups received PNMGP, starting from the 5th day of life for 5 days at a dose of 5 g/head, mixed with feed. The third bird group was control.

On the 17th day of the experiment, the bird vaccination of the 2nd and the 3rd experimental groups was conducted with a commercial live vaccine against Newcastle disease from La Sota strain. On the 27th, 37th and 47th days of the experiment, 5 heads from each group were euthanized and blood was collected for clinical, biochemical and molecular genetic studies.

It has been established that the feeding of PNMGP causes an increase in the number of leukocytes in the blood by 11.3% - 23.9% and the level of hemoglobin by 9.6% - 49.0% relative to the corresponding indices of the control group chickens. The use of the drug causes an increase in the level of iron availability in the organism's of the experimental birds. In particular, the coefficient of saturation of transferrin by iron during the study period in poultry of group 1 was increased by 28.7% -34.3%, a similar effect was found in chickens of group 2.

Under the action of PNMGP there are multidirectional changes in the level of markers of non-specific humoral immunity: in blood serum of experimental birds, the level of total protein increases due to the fraction of globulins and content of circulating immune complexes, the suppressive effect of the live vaccine against Newcastle disease on the humoral link of immunity is reduced - the level of Sm in the birds of the 2nd group was lower than that of the chickens of the 3rd group by 10,0%,

Коваленко Л. В., Солодянкін О. С.

8,6% and 25,0% on the 10th, 20th and 30th days after vaccination, respectively.

In chickens of group 1, the expression level of IL-2 gene exceeded the control values by 91.1%, and 88.8% on the 27th and 47th days of the experiment respectively, and on the 37th day - 10.7 times; and IL-17 - by 50.0% and 59.2% on the 27th and 47th days, respectively, on the 37th day - 3.5 times. The intensity of expression of IL-2 and IL-17 genes in chickens of group 2 was maximally increased - 20.7 and 2.4 times, respectively.

The data we have obtained show the expressed immune modulating effect of PNMGP on the state of bird innate immunity. This contributes to the enhancement of the synthesis of specific

post-vaccine antibodies to the Newcastle disease virus: their level in the birds of the 2nd group exceeded the control group's indices by 14.3% - 25.7% during the research period.

The results we obtained, by the determined trends in the development of immune responses when using a complex probiotic nanometal globulin preparation, coincide with the results of other researchers and can be used as a basis for the development and application of means for enhancing innate immunity of animals and immunogenicity of vaccine drugs.

Key words: Complex probiotic nanometal globulin preparation, innate immunity, poultry, expression of cytokine genes, vaccination, specific immunity