

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛІБАКТЕРІОЗУ ПТИЦІ ПІСЛЯ ЩЕПЛЕННЯ ВАКЦИНОЮ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ

**Бойко В. С., Руденко О. П., Коваленко Л. В.,
Коренева Ю. М., Бусол В. О., Руденко Є. В.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна e-mail: vika-boiko1634@ukr.net

Могильовський В. М.

Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна

Долецький С. П.

Національна академія аграрних наук України, Київ, Україна

У статті представлено результати досліджень гематологічних та біохімічних показників крові птиці, які відображають розвиток вродженого імунітету за експериментального колібактеріозу птиці після щеплення вакциною проти ньюкаслської хвороби. У досліді сформовано 3 групи ($n = 15$) курчат. Птиця 2-ї дослідної групи на 14-ту добу життя щеплена живою вакциною проти ньюкаслської хвороби інтраназально у дозі 10^6 ЕІД₅₀. На 21-шу добу життя (7-ма доба після вакцинації) проведено експериментальне інфікування курчат 1-ї та 2-ї дослідних груп епізоотично-актуальним штамом *E. coli* у попередньо визначеній дозі, яка забезпечувала прояв клінічних ознак захворювання у птиці. Третя група — контроль. У крові курчат було визначено основні клініко-біохімічні показники. Зареєстровано наступні зміни: розвиток інфекційного процесу в крові невакцинованої інфікованої групи обумовлює більш виражене підвищення кількості лейкоцитів до 6,6 % ($p \leq 0,05$), кількості еритроцитів до 11,6 % та рівня гемоглобіну до 7,6 % ($p \leq 0,05$) відносно вакцинованої інфікованої групи. Експериментальний перебіг колібактеріозу у вакцинованої та невакцинованої птиці спричиняє в організмі різноспрямовані зміни рівня маркерів неспецифічного гуморального імунітету: у сироватці крові невакцинованої птиці підвищувався рівень загального білка на 13,9 % ($p \leq 0,05$) за рахунок альбумінів (підвищення складо до 41,2 %) та фракції глобулінів (підвищення складо 6,8 % ($p \leq 0,05$)), зниження ЦІК на 15,4 % та відповідне підвищення концентрації серомукоїдів на 21,4 % ($p \leq 0,05$) відносно вакцинованої групи. Встановлену картину доповнили дані концентрації холестерину, яка була підвищена на 21,7 % ($p \leq 0,05$) в порівнянні з вакцинованою групою. Також нами встановлено більш суттєве пригнічення функціональної активності печінки невакцинованої групи, що відображає підвищений ($p \leq 0,05$) рівень гепатоспецифічних ферментів (активність АлАТ на 22,9 %, АсАТ — на 5,6 %) відносно вакцинованої групи.

Ключові слова: *E. coli*, курчата, клініко-біохімічні показники

За останні роки завдяки вдосконаленню знань про взаємодію патоген–хазяїн та механізми імунної системи, вивчення вродженого імунітету привело до появи нових підходів у профілактиці та лікуванні захворювань, а також до зміни сучасної імунологічної парадигми [7]. Вроджений імунний захист проти інфекції багато в чому ґрунтується на виявленні молекулярних закономірностей, які присутні в інфекційних агентах, таких як бактерії, гриби чи віруси, та вважаються сигналами небезпеки. Розпізнавання цих сигналів патогену призводить до активації різних типів імунних клітин, включаючи Т- і В-лімфоцити, природні клітини-кілери (NK), моноцити, макрофаги, нейтрофіли та дендритні клітини (ДК). Ця багатоклітинна відповідь на інфекцію поділяється на дві окремі фази: вроджена та адаптивна імунна відповідь. Вроджена імунна відповідь являє собою першу фазу імунної відповіді та опосередковується фізичним, хімічним та клітинним захистом у різних типах мієлоїдних клітин (таких як моноцити, макрофаги та ДК) або лімфоїдних клітинах (NK-клітини та вроджені лімфоїдні клітини). Друга фаза імунної відповіді опосередковується адаптивною відповіддю, яка опосередковується Т- і

В-лімфоцитами. Також було встановлено, що не тільки адаптивний імунітет може формувати імунологічну пам'ять, а й неспецифічні фактори імунітету можуть мати імунологічну пам'ять, подібну до тієї, що спостерігається в набутому імунітеті. Явище, коли вроджена імунна система може підсилювати резистентність до реінфекції одержало назву тренований (навчений) імунітет (TI) або вроджена імунна пам'ять [8, 10]. Цей термін був введений у 2011 році Netea et al. [9]. Навчений імунітет відкриває нові можливості для нових концепцій, таких як вакцини для навчання імунної системи, спрямовані на клітини вродженого імунітету. Ці клітини є не тільки першою лінією захисту від інфекцій, але і грають ключову роль в індукції адаптивного імунітету шляхом активації і стимулювання специфічних реакцій. Таким чином, TIbV, діючи в першу чергу на вроджену імунну систему, може посилювати адаптивні реакції, а також протягом періоду часу тренованого імунітету. У результаті передбачений широкий захист навіть від невідомих патогенних мікроорганізмів, що зустрічаються з організмом протягом періоду навченого імунітету [12].

Також було доведено, що під час індукції «навченого» імунітету клітини можуть піддаватися впливу через зіткнення із запальними стимулами і зазнавати функціонального і транскрипційного перепрограмування у напрямку підвищеної їх активації і розвитку змінених відповідей на наступні стимули. Ці епігенетичні зміни призводять до посилення продукції цитокінів і зміни метаболізму у імунокомпетентних клітинах, до модуляції функції епігенетичних ферментів, що викликає істотні зміни в архітектурі хроматину, що дозволяє збільшити транскрипцію генів [6, 8, 11].

Метою даних досліджень було визначити особливості розвитку вродженого імунітету за експериментального колібактеріозу птиці після щеплення вакциною проти ньюкаслської хвороби.

Матеріали та методи. Для досліджень використано клінічно-здорових курчат 1-добового віку, отриманих з благополучного щодо інфекційних захворювань птахогосподарства. Птиця утримувалась за оптимальних умов віварію: за температури, яка відповідала віку птиці за відносної вологості повітря 60–70 %; цикл освітлення день–ніч упродовж експерименту складало 10–14 год. Впродовж періоду спостережень курчата отримали повноцінне і збалансоване харчування без антибіотиків, а також мали вільний доступ до води.

У досліді сформовано 3 групи ($n = 15$) курчат за принципом аналогів. Птиця 2-ї дослідної групи на 14-ту добу життя щеплена живою вакциною проти хвороби Ньюкасла інтраназально у дозі 10^6 ЕІД₅₀. На 21-шу добу життя (7-ма доба після вакцинації) проведено експериментальне інфікування курчат 1-ї та 2-ї дослідної групи епізоотично-актуальним штамом *E. coli*, отриманим у відділі вивчення хвороб птиці, у попередньо визначеній дозі, яка забезпечувала прояв клінічних ознак захворювання у птиці. Третя група — контроль.

Інфікована та інтактна птиця утримувалась окремо, на різних територіях. Термін досліді — 40 діб.

Протягом досліді за птицею вели спостереження щодо її клінічного стану, дихання, поведінки, поїдання корму тощо. Через кожні 7 діб після зараження по 5 голів птиці з кожної групи еутаназували та відбирали кров для клініко-біохімічних досліджень.

У крові курчат дослідили рівень лейкоцитів, еритроцитів та гемоглобіну згідно з методичними рекомендаціями [5].

У сироватці крові птиці визначали рівень загального білка, альбумінів, глобулінів; концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ–6000 і серомукоїдів — спектрофотометрично за різницею екстинкцій за довжини хвилі 260 та 280 нм [2, 4]. Крім того, визначено активність АсАТ, АлАТ та рівень холестерину за допомогою наборів реактивів фірми Реагент (Україна).

Всі дослідження на тваринах, проводили з урахуванням основних принципів біоетики, відповідно до Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (2012).

Статистичну обробку одержаних даних виконано з використанням пакету програм Microsoft Excel, вірогідність розходжень одержаних результатів оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати. Підгостру ступінь важкості захворювання при інфікуванні ізолятом *E. coli* (загальне пригнічення, діарея, що супроводжується виділенням водянистого посліду жовто-білого кольору, пір'я скуйовджено-брудне, особливо навколо клоаки) виявляли у обох дослідних груп птиці з 3-ї доби досліді. Загибель курчат була відсутня упродовж всього терміну спостережень.

У процесі проведеного досліді визначена динаміка маси курчат дослідних груп (табл. 1), яка свідчить, що найбільше відставали ($p \leq 0,05$) в рості курчата 1-ї групи, в середньому на 25,6 % та 30,1 %, а птиця 2-ї вакцинованої групи мала зниження ($p \leq 0,05$) на 20,8 % та 18,4 % на 28-му та 42-гу доби відповідно у порівнянні з контролем. Проте, курчата 2-ї групи у порівнянні з невакцинованою групою мали більшу ($p \leq 0,05$) вагу на 6,5 та 16,7 % на 28-му та 42-гу доби відповідно.

Таблиця 1 — Динаміка маси курчат, щеплених проти ньюкаслської хвороби після інфікування *E. coli*, г ($M \pm m$, $n = 5-15$)

Термін дослідження	Група		
	I група (інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	II група (вакциновані проти хвороби Ньюкасла + інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	Контроль
до початку досліді	383,91 $\pm$ 0,65	384,62 $\pm$ 0,70	382,50 $\pm$ 0,50
28-ма доба досліді (7-ма доба після інфікування)	949,34 $\pm$ 5,00*	1010,59 $\pm$ 2,10*	1276,00 $\pm$ 1,80
42-га доба досліді (21-ша доба після інфікування)	1425,26 $\pm$ 2,00*	1663,82 $\pm$ 1,30*	2039,00 $\pm$ 1,20

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

При визначенні гематологічних показників у динаміці досліді, результати яких наведені у Таблиці 2, найбільш виражені зміни встановлено щодо рівня лейкоцитів у дослідній птиці — введення інфекційного штаму *E. coli* зумовило вірогідне підвищення цього показника у 1-ї та 2-ї групи курчат на 28,0 % та 20,0 % на 7-му добу, а на 21-шу добу на 22,5 % та 20,6 % відповідно відносно контролю. Проте, порівнюючи дані 1-ї та 2-ї групи між собою, відмічено підвищення кількості лейкоцитів на 6,6 % ($p \leq 0,05$) у птиці невакцинованої групи. Кількість еритроцитів була підвищена на 8,8 % тільки у курчат 1-ї групи на 7-му добу досліді. У птиці вакцинованої групи кількість цих клітин була наближена до контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою, встановлено, що невакцинована група мала підвищену кількість еритроцитів на 11,6 %. Також відмічено підвищений рівень гемоглобіну у птиці 1-ї та 2-ї групи на 18,36 % і 9,93 % на 7-му добу; на 21,3 % ($p \leq 0,05$) та 18,35 % ($p \leq 0,05$) на 21-шу добу після інфікування відносно контролю. Але, порівняння вакцинованої та невакцинованої групи між собою вказує на підвищення рівня гемоглобіну на 7,6 % у невакцинованої птиці тільки на 7-му добу.

Таблиця 2 — Клінічні показники крові курчат на моделі експериментального перебігу колібактеріозу птиці за умов вакцинації проти хвороби Ньюкасла, ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники крові	Доба після інфікування	Дослідна група		Контроль
		I група (інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	II група (вакциновані проти хвороби Ньюкасла + інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	
Еритроцити, 10^{12} клітин/л	7	4,79 $\pm$ 0,09	4,29 $\pm$ 0,01	4,40 $\pm$ 0,19
	21	4,88 $\pm$ 0,45	4,66 $\pm$ 0,02	4,71 $\pm$ 0,34
Гемоглобін, г/л	7	117,56 $\pm$ 8,14	109,18 $\pm$ 7,10	99,32 $\pm$ 2,12
	21	115,14 $\pm$ 2,06*	111,43 $\pm$ 2,02*	94,15 $\pm$ 3,05
Лейкоцити, 10^9 клітин/л	7	34,81 $\pm$ 1,20*	32,64 $\pm$ 1,12*	27,20 $\pm$ 1,60
	21	32,87 $\pm$ 1,04*	32,36 $\pm$ 1,16*	26,84 $\pm$ 1,34

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Розвиток інфекційного процесу колибактеріозу також обумовлював зміни рівня маркерів неспецифічного гуморального імунітету у сироватці крові дослідної птиці (табл. 3). У результаті проведених досліджень встановлено підвищення ($p \leq 0,05$) концентрації загального білка на 17,5 % та 26,2 % у птиці 1-ї групи, на 9,1 % та 10,7 % — 2-ї групи протягом всього терміну спостережень відповідно. Порівнянням рівня білка між вакцинованою та невакцинованою птицею визначено його підвищення ($p \leq 0,05$) на 7,7 та 13,9 % відповідно. Концентрація альбумінів у сироватці крові курчат обох груп була підвищена ($p \leq 0,05$) на 22,4 % та 12,5 % на 7-му добу досліду, а на 21-шу добу — на 54,0 % та 9,1 % відповідно відносно контролю. Аналіз рівня альбуміну невакцинованої групи відносно вакцинованої вказує на його перевищення на 8,8 та 41,2 % ($p \leq 0,05$) у невакцинованої птиці.

Таблиця 3 — Біохімічні показники сироватки крові курчат за умов впливу вакцини проти ньюкаслської хвороби на моделі експериментального перебігу колибактеріозу птиці, ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники крові	Доба після інфікування	Дослідна група		Контроль
		I група (інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	II група (вакциновані проти хвороби Ньюкасла + інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	
Загальний білок, г/л	7	60,33 $\pm$ 2,66*	56,00 $\pm$ 1,33*	51,33 $\pm$ 0,66
	21	62,67 $\pm$ 1,33*	55,00 $\pm$ 0,66*	49,67 $\pm$ 1,00
Альбуміни, г/л	7	27,20 $\pm$ 2,20	25,00 $\pm$ 2,40	22,23 $\pm$ 1,66
	21	33,47 $\pm$ 0,87*	23,70 $\pm$ 1,10	21,73 $\pm$ 2,40
Глобуліни, г/л	7	33,13 $\pm$ 1,08*	31,00 $\pm$ 2,12	29,10 $\pm$ 0,86
	21	29,20 $\pm$ 0,86	31,30 $\pm$ 1,14	27,94 $\pm$ 1,24
А/Г	7	0,82 $\pm$ 0,02*	0,80 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,04
	21	1,14 $\pm$ 0,06*	0,75 $\pm$ 0,02	0,78 $\pm$ 0,06
АсАТ, ммоль/л	7	2,46 $\pm$ 0,06	2,33 $\pm$ 0,10	2,26 $\pm$ 0,10
	21	2,33 $\pm$ 0,13	2,26 $\pm$ 0,01	2,13 $\pm$ 0,01
АлАТ, ммоль/л	7	0,81 $\pm$ 0,02*	0,75 $\pm$ 0,02*	0,50 $\pm$ 0,01
	21	0,91 $\pm$ 0,02*	0,74 $\pm$ 0,03*	0,51 $\pm$ 0,01
Холестерин, ммоль/л	7	3,17 $\pm$ 0,22	2,94 $\pm$ 0,04*	3,43 $\pm$ 0,15
	21	3,81 $\pm$ 0,08	3,13 $\pm$ 0,10	3,05 $\pm$ 0,10

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Концентрація глобулінів також мала високий рівень протягом всього досліду. Так, на 7-му добу підвищення склало 13,8 % та 6,5 %, а на 21-шу добу — 4,5 % та 12,0 % у птиці 1-ї та 2-ї груп відповідно відносно контролю ($p \leq 0,05$). Вищий рівень глобулінів на 6,8 % ($p \leq 0,05$) на 7-му добу встановлено для невакцинованої групи проти вакцинованої, але на 21-шу добу встановлено зворотну динаміку — зниження рівня на 6,7 %. В свою чергу коефіцієнт співвідношення альбумінів/глобулінів протягом всього досліду був підвищений у обох дослідних групах на 7,9 % та 46,1 % ($p \leq 0,05$) на 7-му добу, а на 21-шу добу після інфікування — на 5,3 % тільки у 1-ї невакцинованої групи відповідно. Порівняльний аналіз дослідних груп між собою встановлює підвищення коефіцієнту А/Г на 52,0 % ($p \leq 0,05$) у 1-ї групи проти 2-ї на 21-шу добу. Також вивчено динаміку активності гепатоспецифічних ферментів АлАТ та АсАТ в сироватці крові птиці. Встановлено підвищення ($p \leq 0,05$) активності АлАТ на 62,0 та 78,4 %; 50,0 та 45,1 % у курчат 1-ї та 2-ї групи відповідно на 7-му та 21-шу добу після інфікування відносно контролю. При порівнянні активності цих ферментів між інфікованими групами встановлено підвищений рівень АсАТ на 5,6 % на 7-му добу, а активність АлАТ — на 8,0 та 22,9 % ($p \leq 0,05$) на 7-му та 21-шу добу після інфікування у курчат невакцинованої групи відносно вакцинованої групи. Отримані дані доповнили зміни концентрації холестерину, яка була знижена на 7,6 та 14,3 % на 7-му добу в 1-й та 2-й групах, а на 21-шу добу підвищена на 24,9 % ($p \leq 0,05$) тільки в 1-й дослідній групі відносно контролю (табл. 3). Відносно вакцинованої групи у невакцинованої птиці концентрація холестерину була підвищена на 7,8 та 21,7 % на 7-му та 21-шу добу після інфікування.

Наступним етапом дослідження стало вивчення маркерів вродженого імунітету птиці за умов інфікування на фоні вакцинації. Для цього у сироватці крові птиці визначали рівень ЦІК та серомукоїдів (табл. 4).

Таблиця 4 — Біохімічні показники сироватки крові курчат на моделі експериментального перебігу колібактеріозу за впливу вакцини проти ньюкаслської хвороби, ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Доба після інфікування	Дослідна група		Контроль
		I група (інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	II група (вакциновані проти хвороби Ньюкасла + інфіковані ізолятом <i>E. coli</i>)	
Циркулюючі імунні комп-лекси, мг/мл	7	0,108 $\pm$ 0,003*	0,122 $\pm$ 0,002*	0,116 $\pm$ 0,001
	21	0,110 $\pm$ 0,001*	0,130 $\pm$ 0,0028	0,119 $\pm$ 0,002
Серомукоїди, мг/мл	7	0,91 $\pm$ 0,02*	0,82 $\pm$ 0,09*	1,17 $\pm$ 0,07
	21	1,19 $\pm$ 0,04*	0,98 $\pm$ 0,09*	1,07 $\pm$ 0,02

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Аналізуючи дані щодо рівня циркулюючих імунних комплексів слід підкреслити зниження ($p \leq 0,05$) їх рівня на 6,9 % та 7,6 % в сироватці крові курчат 1-ї групи на 7-му та 21-шу добу відповідно. У цей період в сироватці крові курчат 2-ї групи відмічено підвищення ($p \leq 0,05$) цього показника на 5,2 % та 10,0 % відповідно відносно контролю. (табл. 4). Їх низький рівень на 11,5 та 15,4 % ($p \leq 0,05$) встановлено у невакцинованій птиці 1-ї групи відносно вакцинованої на 7-му та 21-шу добу відповідно. Рівень серомукоїдів на першому етапі був знижений ($p \leq 0,05$) на 22,2 % та 29,9 % у курчат обох груп, але на 21-шу добу у птиці 1-ї групи спостерігали підвищення цього показника на 11,2 %, а направленість змін у птиці 2-ї групи залишалась незмінною — зниження склало 8,4 % відносно контролю. Аналіз рівня серомукоїдів відносно вакцинованої групи виявив підвищення на 10,9 та 21,4 % ($p \leq 0,05$) у групі без вакцинації на 7-му та 21-шу добу відповідно.

Обговорення. Зазвичай значення гемоглобіну та кількості еритроцитів пов'язані між собою і мають зміни в однаковому напрямку [3], що і встановлено нашим дослідженням де рівень еритроцитів та гемоглобіну мали направленість до підвищення. За умов розвитку бактеріальної інфекції така динаміка показників може спостерігатися опосередковано, і пов'язане не з самою інфекцією, а з іншими механізмами: гемоконцентрацією, компенсаторна реакція — при тяжкому розвитку інфекції може розвиватися тканинна гіпоксія (через інтоксикацію, порушення газообміну), що стимулює нирки до вироблення еритропоетину. Це, в свою чергу, призводить до посиленого утворення еритроцитів (абсолютний еритроцитоз) [13, 14]. Але, зазвичай при бактеріальних інфекціях очікують лейкоцитоз (підвищення кількості білих клітин крові) [8], що встановлено нашими дослідженнями. Проте, слід відмітити, що розвиток колібактеріозу на фоні вакцинації птиці в нашому досліді мав менший вплив на еритро- та лейкопоез, що у свою чергу вказує на незначний гемотоксичний вплив відносно невакцинованої птиці. Отримані дані, щодо одночасного зниження рівня Sm та ЦІК, а на наступному етапі зниження рівня серомукоїдів вказують на інтенсивний розвиток імуносупресивних реакцій в організмі невакцинованої птиці. Натомість, у курчат вакцинованої групи поряд із низьким рівнем серомукоїдів спостерігається підвищення рівня ЦІК, що може відображати функціонування імунної системи на достатньому рівні. За даними Степура та ін., (2020) високий рівень циркулюючих імунних комплексів (особливо тих, що містять імуноглобуліни класу G) стимулює супресорну активність Т-клітин. Основним доповненням до картини динаміки розвитку імунних реакцій є показники білка та його фракцій. Найважливіше у взаємодії білка та імунної системи — це його важлива роль у формуванні антитіл, які виконують основну функцію захисту від вірусів та інфекцій [11, 12]. Нами встановлено підвищення рівня загального білка разом з альбумінами та фракції глобулінів особливо у птиці невакцинованої групи. Натомість, у вакцинованої птиці спостерігається більш стабільне підвищення глобулінів. Таке підвищення є абсолютним і виникає в результаті гострого розвитку інфекційного захворювання через посилення продукції імунних глобулінів та інтенсивним синтезом ненормальних білків

(парапротеїнів) [1]. Цей факт вказує, також і на розвиток дисфункції печінки, що в свою чергу відображають активність гепатоспецифічних ферментів (АсАТ та АлАТ) [2, 18]. Аналізуючи динаміку активності цих ферментів у птиці обох груп відзначено вірогідне підвищення протягом всього досліджу, що свідчить про пригнічення функціональної активності печінки. Але, в сироватці крові курчат 2-ї (вакцинованої) групи в порівнянні з невакцинованою групою встановлено менш виражене функціональне навантаження. Оскільки печінка складається не тільки з гепатоцитів, але і з клітин, які формують строму та відносяться до імунної системи — клітини Купфера, а вони, в свою чергу відносяться до макрофагів, що відіграють основну участь у презентації антигену, то встановлені нами зміни функціонального стану печінки можуть також вказувати на участь вакцини проти хвороби Ньюкасла в розвитку імунних реакцій проти колібактеріозу [16]. Встановлена нами гіполіпідемія, особливо у курчат вакцинованої групи може відображати зменшення конкурентного зв'язування ліпополісахаридів з ліпополісахаридзв'язуючим білком (LBP), що у свою чергу призводить до зв'язування з CD14 комплексом та активації мононуклеарних клітин, що не встановлено в сироватці крові птиці невакцинованої групи [17].

Висновки. 1. Визначена динаміка маси курчат дослідних груп свідчить, що птиця, яка була вакцинована мала менш виражене зниження (до 20,8 % у порівнянні з контролем) ніж птиця невакцинованої групи (зниження до 30,1 %), а також менше підвищення кількості лейкоцитів (до 6,6 % ($p \leq 0,05$)) та рівня гемоглобіну (до 7,6 % ($p \leq 0,05$)) відносно невакцинованої групи, що вказує на позитивний вплив вакцинного препарату проти вірусної хвороби у розвитку неспецифічних імунних реакцій проти бактеріальної інфекції.

2. Експериментальний перебіг колібактеріозу після вакцинації проти ньюкаслської хвороби викликав у організмі птиці різноспрямовані зміни рівня маркерів неспецифічного гуморального імунітету: у сироватці крові дослідної птиці підвищувався рівень загального білку на 10,7 % ($p \leq 0,05$) за рахунок альбумінів (підвищення склало 12,5 %), фракції глобулінів (підвищення склало 12,0 % ($p \leq 0,05$)) та ЦІК на 10,0 %, а також зниження концентрації серомукоїдів на 29,9 %, що відображає функціонування імунної системи на достатньому рівні на відміну від невакцинованої птиці та вказує на позитивний вплив вакцинації у розвитку неспецифічних імунних реакцій проти бактеріальної інфекції.

3. Відмічено, що попередня відсутність вакцинопрофілактики має значний вплив на функціональний стан печінки оскільки рівень гепатоспецифічних ферментів у невакцинованої групи підвищено на 22,9 % для АлАТ та на 6,0 % для АсАТ відносно вакцинованої групи, а концентрація холестерину підвищена на 21,7 % відповідно, що свідчить про пригнічення функціональної активності печінки.

Перспективи подальших досліджень У подальшій роботі при вивченні особливостей розвитку вродженого імунітету за експериментальної інфекційної хвороби птиці після щеплення вакциною проти ньюкаслської хвороби представляється перспективним визначити рівень IFN- γ , IL-1, IL-2 та IL-6.

Список літератури

1. Камбур М. Д., Лівощенко Є. М. Неспецифічна резистентність у індиків : навчальний посібник. Суми, 2007. 21 с.
2. Влізла В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. та ін. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / за ред. В. В. Влізла. Львів : Сполом, 2012. 764 с.
3. Левченко В. І., Кондрахін І. П., Влізла В. В., Карпуть І. М., Мельник Й. Л., Богатко Л. М., Папченко І. В., Стадник І. В., Сукманський О. І., Чумак М. І., Щуревич Г. О. Внутрішні хвороби тварин. Біла Церква, 2001. Ч. 2. 544 с.
4. Левченко В. І., Головаха В. І., Кондрахін І. П. та ін. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / за ред. В. І. Левченка. Київ : Аграрна освіта, 2010. 437 с.
5. Методи досліджень маркерів функціонального стану клітин периферичної крові та кісткового мозку тварин / Стегній Б.Т. та ін. Метод. рекомендації: Затв. Наук.-метод. радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України протокол № 1 від 19 грудня 2013 р. ННЦ «ІЕКВМ». Харків, 2013. 59 с.
6. Шовкопляс І., Коренева Ж., Роша Л., Овчаренко Г., Мазовська С., Тюніна Д. Вплив біологічно активних речовин на резистентність організму індиків в промислових умовах. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2023. № 108. С. 148–153. DOI: <https://doi.org/10.37000/abbsl.2023.108.24>.
7. Blok B. A., Arts R. J., van Crevel R., Benn C. S., Netea M. G. Trained innate immunity as underlying mechanism for the long-term, nonspecific effects of vaccines. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015. Vol. 98, No. 3. P. 347–356. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.5ri0315-096r>.

8. Downs C. J., Sobolewski M. E. The promise of a pointillist perspective for comparative immunology. *Physiology*. 2024. Vol. 39, No. 6. P. 386–400. DOI: <https://doi.org/10.1152/physiol.00012.2024>.
9. Netea M. G., Domínguez-Andrés J., Barreiro L. B., Chavakis T., Divangahi M., Fuchs E., Joosten L. A. B., van der Meer J. W. M., Mhlanga M. M., Mulder W. J. M., Riksen N. P., Schlitzer A., Schultze J. L., Stabell Benn C., Sun J. C., Xavier R. J., Latz E. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2020. Vol. 20, No. 6. P. 375–388. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0285-6>.
10. Riksen N. P., Netea M. G. Immunometabolic control of trained immunity. *Molecular Aspects of Medicine*. 2020. Vol. 77. P. 100897. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2020.100897>.
11. Hull-Nye D., Meadows T., Smith S. R., Schwartz E. J. Key factors and parameter ranges for immune control of equine infectious anemia virus infection. *Viruses*. 2023. Vol. 15, No. 3. P. 691. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15030691>.
12. Korkh I., Boyko N., Pomitun I., Paliy A., Pavlichenko O. Features of the formation of lambs' adaptive capacity in the first day of life. *Veterinarska Stanica*. 2023. Vol. 55, No. 1. P. 63–77. DOI: <https://doi.org/10.46419/vs.55.1.4>.
13. Olver C. S. Erythrocyte structure and function. *Schalm's Veterinary Hematology*. 2022. P. 158–165. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119500537.ch20>.
14. Borovkov S., Boiko V., Borovkova V., Paliy A., Pavlichenko O., Shchepetilnikov Y., Makhotina D. Formation of cellular and humoral immunity in obese horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2025. Vol. 16, No. 2. e25042. P. DOI: <https://doi.org/10.15421/0225042>.
15. Степура Н. М., Замотаєва Г. А., Терехова Г. М., Волинець І. П. Вміст циркулюючих імунних комплексів у хворих на дифузний токсичний зоб, ускладнений автоімунною офтальмопатією. *Ендокринологія*. 2020. Т. 25, № 4. С. 305–309. DOI: <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2020.25-4.305>.
16. Roberts R. A., Ganey P. E., Ju C., Kamendulis L. M., Rusyn I., Klaunig J. E. Role of the kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. *Toxicological Sciences*. 2007. Vol. 96, No. 1. P. 2–15. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kf1173>.
17. da Silva Correia J., Soldau K., Christen U., Tobias P. S., Ulevitch R. J. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex. *Journal of Biological Chemistry*. 2001. Vol. 276, No. 24. P. 21129–21135. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m009164200>.
18. Weber L. W. D., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology*. 2003. Vol. 33, No. 2. P. 105–136. DOI: <https://doi.org/10.1080/713611034>.

FEATURES OF THE DEVELOPMENT OF INNATE IMMUNITY IN POULTRY WITH EXPERIMENTAL COLIBACILLOSIS FOLLOWING VACCINATION WITH THE NEWCASTLE DISEASE VACCINE

**Boiko V. S., Rudenko O. P., Kovalenko L. V.,
Koreneva Yu. M., Busol V. O., Rudenko Ye. V.**

National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine', Kharkiv, Ukraine

Mohylovskiy V. M.

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine e-mail: vika-boiko1634@ukr.net

Doletskiy S. P.

National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

*The article presents the results of studies on the hematological and biochemical parameters of blood in poultry. These parameters reflect the development of innate immunity in poultry with experimental colibacillosis after vaccination against Newcastle disease. Three groups (n = 15) of chickens were formed for the experiment. The second group of birds was vaccinated with a live Newcastle disease vaccine at a dose of 10⁶ EID₅₀ intranasally on day 14. On the 21st day of life (seven days after vaccination), the chickens in the first and second groups were infected with an epizootic strain of *E. coli* at a predetermined dose that manifested clinical signs of the disease. The third group was the control group. The main clinical and biochemical parameters were determined in the blood of the chicks. The following changes were recorded: the development of the infectious process in the blood of the unvaccinated infected group caused a more pronounced increase in the number of leukocytes (6.6%, $p \leq 0.05$), erythrocytes (11.6%), and hemoglobin level (7.6%, $p \leq 0.05$) relative to the vaccinated infected group. The experimental course of colibacillosis in vaccinated and unvaccinated birds caused multidirectional changes in markers of nonspecific humoral immunity: the level of total protein in the blood serum of unvaccinated birds increased by 13.9% ($p \leq 0.05$), due to an increase in albumins of up to 41.2% and globulin fractions of 6.8% ($p \leq 0.05$). There was also a 15.4% decrease in CIC and a corresponding 21.4% increase in seromucoid concentration ($p \leq 0.05$) relative to the vaccinated group. This pattern was supplemented by data on increased cholesterol concentration by 21.7% ($p \leq 0.05$) compared to the vaccinated group. Additionally, we observed more significant suppression of liver function in the unvaccinated group, as reflected by elevated levels of hepatospecific enzymes (ALT by 22.9% and AST by 5.6%, both $p \leq 0.05$) compared to the vaccinated group.*

Keywords: *E. coli, chickens, clinical and biochemical parameters*