

УДК 619: 576.893.192.1; 611.018.54  
DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.39

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ СОЧЕТАННОЙ ИММУНИЗАЦИИ АТТЕНУИРОВАННЫМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИВ ЭЙМЕРИОЗА

Фролова О.А. – асп. каф. анатомии, патологической анатомии и хирургии, Донкова  
Н.В.-д. вет. н., проф.  
ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ"

**Ключевые слова:** плазма крови, биохимическое исследование, цыплят а-бройлеры, вакцинация, инвазирование, эймериоз, корреляция, гиперурикемия. **Key words:** blood plasma, biochemical research, broiler chickens, vaccination, infestation, eimeriosis, correlation, hyperuricemia.



### РЕФЕРАТ

Эймериоз сельскохозяйственной птицы был и остаётся серьёзной проблемой для промышленного птицеводства, снижающей показатели выращивания птицы и увеличивающей экономические затраты. Исследования проведены в 2020-2021 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ" в рамках научно-исследовательской работы кафедры по направлению: сравнительная характеристика вакцин, применяемых при эймериозе кур, и в КГКУ "Краевая ветеринарная лаборатория". Объектом исследования были цыплята-бройлеры кросса Росс-308. Основные методы исследования – биохимическое исследование плазмы крови птиц. Задачи исследования: провести эксперимент, в котором у интактных и опытных цыплят, вакцинированных в 14 дней живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза, проанализировать биохимические показатели плазмы крови. По сравнению с интактной группой обнаружено статистически значимое уменьшение в 1 опытной группе альбумина на 30 % ( $p \leq 0,01$ ) и увеличение общего билирубина на 7 % ( $p \leq 0,05$ ), во 2 опытной группе – уменьшение общего билирубина на 10,5 % и холестерина на 9,7 % ( $p \leq 0,05$ ), в 3 опытной группе (сочетанная вакцинация) – снижение триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 % ( $p \leq 0,01$ ), увеличение хлоридов на 15,6 % ( $p \leq 0,05$ ). Выявлена выраженная положительная статистически значимая ( $p < 0,05$ ) корреляция между мочевой кислотой и холестерином (0,699) в 1 опытной группе, что можно рассматривать в контексте распада клеток и синтеза мочевой кислоты из гуанина и аденина разрушающейся ДНК. А статистически значимая взаимосвязь между хлоридами и альбумином (0,695) в 3 опытной группе (сочетанная вакцинация), позволяет рассценивать увеличение хлоридов как следствие воспалительных процессов в желудочно-кишечном тракте цыплят.

### ВВЕДЕНИЕ

Кровь птиц состоит из плазмы и форменных элементов. В плазме содержатся химические вещества, которые находятся в относительном равновесии с межклеточной жидкостью тканей. Определение биохимических показателей плазмы име-

ет диагностическое, терапевтическое и прогностическое значение. Концентрация химических компонентов в крови изменяется в зависимости от физиологического состояния птиц, их рациона и условий содержания [4].

Цель исследования: изучить биохимические показатели плазмы крови цыплят в возрасте 35 дней, вакцинированных в 14 дней живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза.

Задачи исследования:

– провести эксперимент, в котором у интактной и опытных, вакцинированных в 14 дней, живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза, групп цыплят кросса Росс-308 проанализировать биохимические показатели плазмы крови.

Новизна исследования состоит в изучении действия сочетанной иммунизации живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза на биохимические показатели плазмы крови цыплят-бройлеров.

По мнению к.б.н. В.Н. Афонюшкина (СФНЦА РАН, неопубликованные данные) проблемы с эймериозами в РФ заключаются, в том числе, в риске восстановления патогенности вакцинных штаммов при использовании разных вакцин в условиях одного хозяйства и эволюции эймерий в направлении роста интенсивности экссудативных процессов в кишечнике птицы. Смещение вакцинных штаммов эймерий на одной площадке может привести к усилению их вирулентности (реверсия патогенности на основе комплементации генов) и спровоцировать заболевание с.-х. птицы. В литературе нет научных работ "обосновывающих отсутствие рисков повышения патогенности вакцинных штаммов при их смешивании друг с другом, то есть, когда ветеринарный врач хозяйства последовательно пробует вакцины разных производителей" [2]. Комплектование хозяйств яйцом или птицей из разных источников также чревато заносом новых штаммов эймерий. О возможности "расширить видовой состав эймерий, циркулирующих на птицефабрике, при использовании вакцин, содержащих виды не актуальные для данной географической зоны" пишут М.А. Кашеева [6] и С.А. Руденко [11].

Но, В.Е. Диковская и др. опытным путём, после проведения 6 неселективных пассажей аттенуированного штамма E.

tenella, полученного посредством селекции с сокращением препатентного периода, выяснили, что E. tenella не изменили вирулентные и репродуктивные свойства, что свидетельствует, по мнению авторов, об отсутствии тенденции к реверсии и стабильности аттенуированного штамма [5].

Кроме того, широкое распространение кишечных вирусных инфекций, сопровождающихся диареей, повышает влажность подстилки, что способствует росту инвазированности эймериозом [2], поэтому изучение последствий совместного действия вакцин против эймериоза в одном организме является актуальным.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в 2020-2021 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ" в рамках научно-исследовательской работы кафедры по направлению: сравнительная характеристика вакцин, применяемых при эймериозе кур, и в КГКУ "Краевая ветеринарная лаборатория".

Объектом исследования были цыплята-бройлеры кросса Росс-308. Основным методом исследования выбрано биохимическое исследование плазмы крови птиц.

Для проведения эксперимента было сформировано по принципу аналогов 4 группы цыплят-бройлеров кросса Росс-308: интактная и 3 опытных группы. В возрасте 14 дней цыплят опытных групп вакцинировали против эймериоза птиц в дозах согласно инструкции: 1 опытная группа получила вакцину "Эвалон", 2 опытная – "Эймериавакс 4М", а 3 опытная – смесь этих двух вакцин.

От цыплят каждой группы в возрасте 35 дней взяли пробы крови утром натощак из подкрыльцовой вены с соблюдением правил асептики в пробирки с литий гепарином, перемешали, не вспенивая. Плазму от форменных элементов крови отделяли центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 805 g [9] с помощью лабораторной центрифуги ОПн-8.

Биохимическое исследование плазмы крови проводили на фотометре лабора-

торном "BioChem SA" с помощью наборов биохимических реагентов "ДиаВетТест", производства АО "Диакон-ДС", Россия [10]. Перед началом исследований контролировали работу фотометра и качество реагентов с помощью калибраторов TruLab N и TruLab P, DiaSys, Германия. Плазму и реагенты смешивали в микропробирках типа Эппендорф. При исследовании плазмы на общий билирубин использовали фотометрический тест с 2,4-дихлоранилином (ДХА), на альбумин – с бромкрезоловым зеленым, на кальций – с о-крезолфталеином (ОКФ), на мочевую кислоту – с 2,4,6-трибром-3-гидроксibenзойной кислотой (ТВНВА), на хлориды – с тиоцианатом ртути, на холестерин – ферментативный фотометрический тест (CHOD-PAP), на триглицериды – GPO-PAP. Для поддержания температуры растворов плазмы крови с реагентами на уровне  $37,0 \pm 0,5$  °C использовали термостат SA-18. Было исследовано 45 проб: 15 – интактная группа и по 10 – из каждой опытной группы.

Статистическую обработку, полученных в ходе экспериментальных исследований данных, проводили с помощью пакета анализа программы Microsoft Office Excel [8]. Статистическую значимость различий выявляли с помощью методов вариационной и непараметрической статистики, с определением средних величин и их простых ошибок ( $M \pm m$ ), метода Манна-Уитни [13, 14]. Различия считали статистически значимыми, если вероятность случайности не превышала 5 % ( $p < 0,05$ ).

Для измерения степени сопряженности между варьирующими признаками проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ) [7] и Спирмена [12].

Связь между признаками считали очень слабой при  $r < 0,2$ ; при  $0,2 \leq r \leq 0,5$  – слабой; при  $0,5 \leq r \leq 0,7$  – средней; при  $0,7 \leq r \leq 0,9$  – высокой (сильной) и при  $r > 0,9$  – очень высокой (сильной), близкой к функциональной. При отрицательном значении  $r$  связь между признаками считали обратной.

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как следует из таблицы 1, по сравнению с интактной группой, в плазме крови цыплят 1 опытной группы статистически значимо ( $p \leq 0,01$ ) было меньше на 30 % альбуминов и на 7 % – больше общего билирубина ( $p \leq 0,05$ ).

В плазме крови цыплят 2 опытной группы статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) было меньше на 10,5 % общего билирубина, на 9,7 % – холестерина.

В плазме крови цыплят 3 опытной группы (сочетанная иммунизация) статистически значимо ( $p \leq 0,01$ ) было меньше триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 %, статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) было больше хлоридов на 15,6 %.

Остальные биохимические показатели статистически значимо не различались.

По данным таблицы 2 мы видим, что у цыплят 1 опытной группы выявлена статистически значимая ( $p < 0,05$ ) положительная корреляционная зависимость между мочевой кислотой и холестерином (0,699).

В 3 опытной группе (сочетанная иммунизация) – положительная статистически значимая ( $p < 0,05$ ) корреляционная зависимость между альбумином и хлоридами. Между остальными показателями статистически значимых соотношений не выявлено.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Бройлеры характеризуются активными обменными процессами. По сравнению с интактной группой цыплят уровень кальция и хлоридов был повышен во всех опытных группах.

Уровень триглицеридов, холестерина, мочевой кислоты и общего билирубина, по сравнению с интактной группой, был незначительно повышен в 1 опытной группе и понижен во 2 и 3 опытных группах.

Уровень альбумина был понижен во всех опытных группах по сравнению с интактной группой цыплят. Альбумин – основная группа белков здоровой птицы, это переносчик молекул витаминов, минералов, гормонов и жирных кислот. Понижение уровня альбумина может наблю-

Таблица 1  
Результаты биохимического исследования плазмы крови цыплят

Показатель	Кальций ммоль/л	Мочевая кислота мкмоль/л	Триглице- риды ммоль/л	Общий билирубин мкмоль/л	Хлориды ммоль/л	Альбумин г/л	Холесте- рин ммоль/л
Интактная группа							
M±m	1,77±0,17	297,2±24,1	0,74±0,02	43,58±1,88	111,94±4,07	24,44±1,18	4,56±0,19
S	0,66	93,2	0,09	7,28	15,76	4,57	0,72
Cv	37,33	31,35	12,14	16,71	14,08	18,71	15,78
1 опытная группа							
M±m	3,09±0,46	369,28±51,03	0,78±0,04	45,60±0,79	116,16±3,53	17,01±1,60	4,62±0,38
S	1,37	153,09	0,11	2,36	10,59	4,79	1,15
Cv	44,35	41,46	14,39	5,17	9,12	28,18	24,85
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.				p<0.05		p<0.01	
2 опытная группа							
M±m	2,06±0,17	217,3±27,46	0,65±0,04	39,02±2,53	119,85±4,44	20,84±1,01	4,12±0,22
S	0,55	86,83	0,14	8,00	14,03	3,20	0,69
Cv	26,75	39,96	20,96	20,80	11,70	15,34	16,68
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.				p<0.05			p<0.05
3 опытная группа (сочетанная иммунизация)							
M±m	2,53±0,30	271,98±40,13	0,64±0,03	43,55±1,34	129,51±9,96	20,30±0,82	3,91±0,12
CS	0,89	120,41	0,01	4,02	29,90	2,46	0,37
Cv	35,32	44,27	15,55	9,22	23,08	12,12	9,37
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.			p<0.01		p<0.05	p<0.01	p<0.01

даются при сниженном синтезе этого белка, например, при хронических воспалительных заболеваниях, повышенной потере альбумина из-за внутренних паразитов или болезни желудочно-кишечного тракта [1]. По мнению Э.И. Ахмедова к снижению количества альбуминов в крови приводит воздействие в кишечнике птицы *Eimeria tenella* [3]. Кроме того, белки острой фазы, куда входит и альбумин, уменьшаются при воспалении. Уменьшение количества этого белка используют как маркер воспаления. Физиологическая роль снижения синтеза альбумина может заключаться в сохранении аминокислот для более эффективного производства других белков острой фа-

зы. Следовательно, можно предположить, что в группе цыплят, где использовали вакцинацию смесью двух вакцин, наличие устойчивой взаимосвязи между альбумином и хлоридами указывает на наличие воспалительных процессов в кишечнике, вызванных действием возбудителей эймериоза.

D.K. Mondal et al. при биохимическом исследовании плазмы крови цыплят, зараженных полевыми изолятами *Eimeria tenella*, также выяснили, что изменения характеризуются катаболизмом белка, увеличением уровня холестерина с последующим снижением концентрации триглицеридов [15].

В качестве профилактики рисков реверсии патогенности эймерий при смене

Таблица 2  
Расчёт корреляции по Спирмену биохимических показателей крови цыплят

Показатель	Мочевая кислота, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Общий билирубин, ммоль/л	Хлориды, ммоль/л	Альбумин, г/л	Холестерин, ммоль/л
Интактная группа						
Кальций	-0,584	-0,430	-0,180	-0,544	-0,520	-0,817
Мочевая кислота		0,061	0,290	0,755	0,345	0,653
Триглицериды			-0,340	-0,105	0,126	0,278
Общий билирубин				0,560	0,605	-0,148
Хлориды					0,444	0,415
Альбумин						0,438
1 опытная группа						
Кальций	0,279	-0,033	-0,263	-0,373	-0,036	0,069
Мочевая кислота		-0,278	0,710	-0,604	-0,172	0,699*
Триглицериды			0,077	0,729	-0,473	0,078
Общий билирубин				0,037	-0,011	0,726
Хлориды					0,171	-0,018
Альбумин						0,050
2 опытная группа						
Кальций	0,607	0,637	0,707	0,096	0,480	0,604
Мочевая кислота		0,419	0,674	0,056	0,445	0,242
Триглицериды			0,687	0,661	0,780	0,427
Общий билирубин				0,127	0,447	-0,026
Хлориды					0,607	0,277
Альбумин						0,351
3 опытная группа (сочетанная иммунизация)						
Кальций	0,062	0,133	-0,162	-0,126	-341,000	0,630
Мочевая кислота		-0,584	-0,404	-0,171	-0,589	0,288
Триглицериды			0,269	-0,170	0,253	-0,157
Общий билирубин				-0,270	-0,101	-0,078
Хлориды					0,695*	0,099
Альбумин						-0,012

\* $p < 0,05$  – зависимость признаков статистически значима по Спирмену

вакцины можно рекомендовать использовать химические (синтетические) кокцидиостатики, которые резко снижают численность кокцидий, блокируют выход паразитов во внешнюю среду и создают высокий уровень защиты внутренних органов птицы.

#### ВЫВОДЫ

По сравнению с интактной группой цыплят обнаружено статистически значи-

мое ( $p \leq 0,01$ ) уменьшение в 1 опытной группе альбумина на 30 % и увеличение общего билирубина на 7 % ( $p \leq 0,05$ ).

В плазме крови цыплят 2 опытной группы выявлено статистически значимое ( $p \leq 0,05$ ) уменьшение общего билирубина на 10,5 % и холестерина на 9,7 %.

В плазме крови цыплят 3 опытной группы, где применялась сочетанная вакцинация против эймериоза птиц, – стати-

стически значимое ( $p \leq 0,01$ ) снижение триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 %, увеличение хлоридов на 15,6 % ( $p \leq 0,05$ ).

При корреляционном анализе обнаружена выраженная положительная статистически значимая ( $p < 0,05$ ) взаимосвязь между мочевой кислотой и холестерином (0,699) в 1 опытной группе, что можно рассматривать в контексте распада клеток и синтеза мочевой кислоты из гуанина и аденина разрушающейся ДНК.

А выраженная положительная статистически значимая ( $p < 0,05$ ) взаимосвязь между хлоридами и альбумином (0,695) в 3 опытной группе цыплят, вакцинированных сочетанной вакциной, позволяет рассуждать увеличение хлоридов как следствие воспалительных процессов в организме цыплят.

Из всего вышеизложенного можно сделать вывод, что целесообразно не допускать одновременного использования разных противоэймериозных вакцин на одной птицеводческой площадке, до тех пор, пока факт передачи генов патогенности при половом размножении не будет опровергнут с использованием методов полногеномного секвенирования.

**Biochemical changes in blood plasma of broilers at combined vaccination with attenuated vaccines against eimeriosis. O.A. Frolova – Post-Graduate Student, Chair of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery, Donkova N. V. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Krasnoyarsk State Agrarian University.**

#### ABSTRACT

Eimeriosis of poultry has been and remains a serious problem for the industrial poultry industry, reducing the production of poultry and increasing economic costs. The studies were carried out in 2020-2021. at the Department of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery of the FSBEI VO "Krasnoyarsk GAU" in the framework of the research work of the department in the direction: comparative characteristics of vaccines used for eimeriosis of chickens, and at the KSKU "Regional Veterinary Laboratory". The object of the study was broiler chickens of the Ross-308 cross. The main research

methods are biochemical research of blood plasma of birds. Research objectives: to conduct an experiment in which intact and experimental chickens vaccinated at 14 days with live attenuated vaccines against eimeriosis, analyze the biochemical parameters of blood plasma. Compared with the intact group, a statistically significant decrease in albumin by 30% ( $p \leq 0,01$ ) and an increase in total bilirubin by 7% ( $p \leq 0,05$ ) were found in experimental group 1, in experimental group 2 - a decrease in total bilirubin by 10, 5% and cholesterol by 9.7% ( $p \leq 0,05$ ), in experimental group 3 (combined vaccination) - a decrease in triglycerides by 14%, albumin by 17%, cholesterol by 14% ( $p \leq 0,01$ ), an increase chlorides by 15.6% ( $p \leq 0,05$ ). A pronounced positive statistically significant ( $p < 0,05$ ) correlation was found between uric acid and cholesterol (0.699) in experimental group 1, which can be considered in the context of cell decay and the synthesis of uric acid from guanine and adenine of degrading DNA. A statistically significant relationship between chlorides and albumin (0.695) in the 3rd test group (combined vaccination) allows us to regard the increase in chlorides as a consequence of inflammatory processes in the gastrointestinal tract of chickens.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Амиров, Д.Р. Клинико-инструментальные методы исследования и лабораторная диагностика при незаразной патологии птиц / Д.Р. Амиров, О.А. Грачева, Б.Ф. Тамимдаров, А.Р. Шагеева / Казань: Центр информационных технологий ФГБОУВО Казанская ГАВМ. – 2015. – С. 21.
2. Андреева, Ю.Н. Кокцидиоз: вопросы диагностики, лечения и профилактики / Ю.Н. Андреева, Е.А. Сканчева, Т.Г. Титова [и др.] // БИО. – 2017. – № 2(197). – С. 30-33.
3. Ахмедов, Э.И. Оценка состояния организма цыплят по биохимическим показателям в период лечения экспериментального эймериоза (*Eimeria tenella*) / Вестник БГУ. – Сер. 2. – 2014. – № 1. – С. 35-39.
4. Васильева, Е.А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. – М.: Россельхозиздат. – 1982. – С. 4-7.
5. Диковская, В.Е. Вирулентные и репро-

- дуктивные свойства аттенуированного штамма *Eimeria tenella* / В.Е. Диковская, И.М. Бирюков, Е.А. Симонова // Национальная ассоциация ученых (НАУ). – 2019. – № 50. – С. 19-22.
- 6.. Кащеева, М.А. Обзор вакцин против эймериоза кур, представленных на Российском рынке / М.А. Кащеева, Ф.И. Василевич // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 3. – С. 35-37.
- 7.. Коэффициент корреляции Пирсона (r-Пирсона) [Электронный ресурс]. URL: <https://www.eztests.xyz/criteria/pearsonr/> (Дата обращения 25.04.2021).
- 8.. Лебедев, Е.Я. Биометрия в MS Excel: Учебное пособие / Е.Я. Лебедев, А.М. Хохлов, Д.И. Барановский, О.М. Гетманец // СПб.: Издательство "Лань". – 2018.
- 9.. Методические указания по применению унифицированных биохимических методов исследований крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. ГУВ МСХ СССР Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. Отделение ветеринарии. Москва. – 1981.
- 10.. Методические рекомендации по применению наборов реагентов "ДиаВетТест" для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на полуавтоматическом анализаторе. – М.: Россельхознадзор. – 2018.
- 11.. Руденко, С.А. Кокцидиоз: актуальные вопросы стратегии и тактики борьбы с паразитарной инвазией. – БИО. – 2020. – № 11(242). – С. 24-27.
- 12.. Сайт "Медицинская статистика" Расчет критерия корреляции Спирмена (онлайн калькулятор). [Электронный ресурс]. URL: <https://medstatistic.ru/calculators/calcspirmen.html>. (Дата обращения 25.04.2021).
- 13.. Степанов, В.Г. Применение методов непараметрической статистики в исследованиях сельскохозяйственной биологии и ветеринарной медицины: Учебное пособие. СПб.: Издательство "Лань". – 2019. – С. 27-32.
- 14.. U-критерий Манна-Уитни [Электронный ресурс]. URL: [https://www.eztests.xyz/criteria/mann\\_whitney/](https://www.eztests.xyz/criteria/mann_whitney/) (Дата обращения 25.04.2021).
- 15.. Mondal D.K., Chattopadhyay S., Batabyal S., Bera A.K., Bhattacharya D. Plasma biochemical indices at various stages of infection with a field isolate of *Eimeria tenella* in broiler chicken // *Veterinary World*. – 2011. – Vol. 4, N 9. – P. 404-409.