

3. Наибольшие изменения исследуемых показателей происходят на 14-й и 21-й дни эксперимента. В эти сроки, по видимому, наблюдаются пики иммунных реакций.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бирман, Б.Я. Иммунодефициты птиц : практическое пособие / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2001. – 140 с.

2. Вобликов, И.В. Функция иммунной системы при хронических гепатоксических воздействиях : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.13 / И.В. Вобликов ; Санкт-Петербургский медицинский институт. – СПб, 1992. – 22 с.

3. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровчинский Б.Г., Лифшиц Р.И. // Вопросы мед. Химии.-1989.-т.35.-№6.-с.127-131

4. Захирходжаев, Ш.Я. Состояние иммунного статуса у больных хроническими гепатитами различной клинической формы на фоне иммулирующей терапии препаратом тимуса / Ш.Я. Захирходжаев // Иммунология. – 1992. – № 2. – С. 60 – 61.

5. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии.-

1984.- № 4.-С. 88-91.

6. Максимович, В.В. Проблемы инфекционной патологии животных в республике Беларусь / В.В. Максимович // Ученые записки // УО ВГАВМ. – Витебск, 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 13 – 15.

7. Маршалл, В.Дж. Клиническая биохимия / В.Дж. Маршалл Пер. с англ. Под ред. Н.И. Новикова - М – СПб.: Изд-во «БИНОМ» – «Невский диалект», 2000.–368 с.

8. Метод определения активности каталазы / Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С.16-18.

9. Состояние и перспективы развития производства вакцин для птицеводства / К.К. Дягилев [и др.] // Ученые записки / УО ВГАВМ. – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. – С. 45.

10. Титов, В.Н. Патофизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В.Н. Титов // Клинич. лаб. диагностика. – 1996. - № 1. – С. 3 – 9

11. Хазанов, А.И. Функциональная диагностика болезней печени / А.И. Хазанов. – М.: Медицина, 1988. – 304 с.

12. Ohkawa H., Ohishi N., Yagy K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analytical biochemistry. - 1979. - V. 95. - № 2. - P.351-358.

УДК 619:616.98:579.843.95-093.7

## АКТИВНОСТЬ ИНДИКАТОРНЫХ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ГУСЯТ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

С.Л. Радченко, Д.С. Голубев (УО ВГАВМ),  
В.Н. Никандров, Б.Я. Бирман “ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Б”

#### ВВЕДЕНИЕ

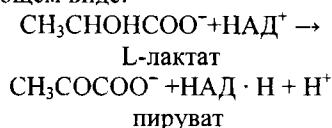
В условиях современного промышленного птицеводства птица сконцентрирована на ограниченной территории, поэтому остро стоит вопрос о соблюдении мер

профилактики и быстрой ликвидации остропротекающих заразных болезней, в частности пастереллеза, там, где они появились. В настоящее время интенсивно применяются самые разнообразные

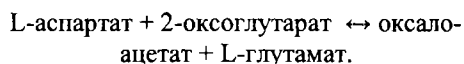
Любая проводимая иммунизация влечет за собой определенные изменения в обмене веществ, связанные с изменением активности ферментов. Обмен веществ организмов, лежащий в основе жизнедеятельности, представляет собой сумму разнообразных метаболических путей и циклов. Всякое функциональное проявление живого организма непосредственно связано с действием соответствующих ферментных систем, поэтому можно утверждать, что ферменты являются взаимосвязывающим звеном всех метаболических превращений в организме. Определение активности ферментов широко применяется в диагностических целях [1].

Если иммунологические реакции в организме вакцинированных птиц изучались достаточно широко, то влияние иммунизации на биохимические изменения изучено в меньшей степени [2]. Неизвестно, насколько широко иммунизация влияет на ферментную активность. Наибольший клинический интерес представляет определение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспаргатаминотрансферазы (АсТ).

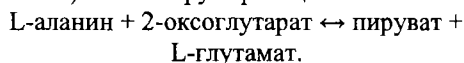
Лактатдегидрогеназа (К. Ф. 1.1.1.27) - гликолитический (цитозольный цинксо-держащий) фермент (ММ 135 000 Д), обратимо катализирующий окисление L-лактата в пировиноградную кислоту. Реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой (ЛДГ), может быть представлена в следующем виде:



Аминотрансферазы (трансаминазы) имеют принципиальное значение в метаболизме живых организмов, являясь связующим звеном взаимопревращения белков и углеводов. Аспаргатаминотрансфераза (К. Ф. 2.6.1.1) - белок с молекулярной массой 110 000 Д; катализирует реакцию



Аланинаминотрансфераза (К. Ф. 2.6.1.2) катализирует реакцию



Рядом авторов показано, что введение вакцин совместно с иммуностимуляторами снижает их реактогенные свойства [3]. Интерес представляет калия оротат - калиевая соль оротовой кислоты. Оротовая кислота является одним из предшественников урацил монофосфата, из которого образуется РНК, участвующая в синтезе белков (антител). Оротовая кислота и ее соли рассматриваются поэтому как вещества анаболического действия и применяются при нарушениях белкового обмена как общие стимуляторы обменных процессов. Из биологических производных иммунной системы применяют гормональное производное тимуса - тималин. В ходе проведенных исследований установлено, что гормоны тимуса оказывают регулирующее влияние на процессы синтеза нуклеиновых кислот, иммуноглобулинов и показатели клеточного иммунитета у птицы [4].

Вместе с тем, влияние сочетанного введения вакцины против пастереллеза с иммуностимуляторами калия оротатом и тималином на метаболические процессы в организме вакцинированных гусят остается мало изученным.

Целью наших исследований явилось изучение активности ЛДГ, АлТ, АсТ и концентрации глюкозы в сыворотке крови гусят, парентерально иммунизированных против пастереллеза жидкой инактивированной эмульсин-вакциной из штаммов "КМИЭВ-26,-27,-28" (серотипы А1, А3, А4) производства РНИУП "ИЭВ им. С.Н.Вышелесского НАН РБ" с применением иммуностимуляторов тималина и калия оротата.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 60 гусятах-аналогах 13-37-дневного возраста, разделенных на 4 группы, по 15 птиц в каждой. Интактная птица 1-ой группы служила контролем. Гусят 2-ой группы иммунизировали эмульсин-вакциной против пастереллеза согласно временному наставлению по ее применению, в 16-дневном возрасте, 1-кратно, подкожно, в дозе 0,5 мл в область нижней трети шеи. Гусят 3-ой группы иммунизировали совместно с иммуностимулятором тималином в дозе 1 мг/кг массы тела птицы. Предварительно 10 мг тималина растворяли в 10 мл вакцины. Гусят 4-й группы вакцину вводили совместно с иммуностимулятором калия оротатом. Его задавали перорально в течение семи дней (за 3 дня до иммунизации и 4 дня после иммунизации) в дозе 15 мг/кг массы один раз в сутки.

На 7-ой, 14-й и 21-й дни после вакцинации по 5 гусят из каждой группы убивали. В полученной сыворотке крови определяли активность АсТ, АлТ, ЛДГ, а также концентрацию глюкозы унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК "Анализ-Х" (Республика Беларусь). Все цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Майкрософт Эксель 2000.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В сыворотке крови гусят контрольной группы на 7-й день эксперимента активность АсТ составляла  $26,85 \pm 3,37$  МЕ/л. У вакцинированной птицы 2-й группы наблюдалось повышение активности фермента в 1,5 раз ( $P_{1,2} < 0,05$ ). У иммунных гусят 3-4 -й групп данный показатель существенно не отличался от контроля.

К 14-у дню опыта активность АсТ в сыворотке крови вакцинированных птиц существенно не изменялась по сравнению с предыдущим сроком исследования и составляла  $26,2 \pm 2,19$  МЕ/л. У гусят 2-4-й групп не отмечалось статистически дос-

товерных отличий. К 21-у дню у птиц контрольной группы активность фермента повышалась в 1,4 раза в возрастном аспекте ( $P < 0,05$ ), а в опытных 2-4 -й группах данный показатель находился на уровне контрольных значений.

Активность АлТ в сыворотке крови контрольных гусят на 7-е сутки опыта составила  $7,2 \pm 1,01$  МЕ/л. У иммунизированных птиц 2-й группы данный показатель был в 1,6 раза выше по сравнению с контролем ( $P_{1,2} < 0,05$ ).

К 14-у дню эксперимента активность данного фермента в сыворотке крови вакцинированных птиц 2 – 3 групп нормализовалась по отношению к контролю, однако у птиц 4-й группы было отмечено повышение активности АлТ в 1,7 раза ( $P_{1,2} < 0,05$ ).

На 21-й день эксперимента мы регистрировали повышение активности аланинаминотрансферазы по сравнению с предыдущим сроком исследования в 1-3-й группах в 2,1-2,8 раза, а между контрольной и опытной группами в эти сроки достоверных отличий не наблюдали.

Следовательно, иммунизация гусят против пастереллеза способствовала повышению активности АсТ и АлТ в сыворотке крови на 7-й день эксперимента, а применение тималина и калия оротата «сглаживало» реактогенное действие вакцины.

Повышение активности АсТ и АлТ в сыворотке крови птиц при вакцинации против других инфекционных болезней наблюдали Л.Н. Громова [5], Д. Т. Соболев [6], Tanwani S.K [9], Toukny [10]. Напротив, Л.К. Кожевникова с соавторами регистрировала незначительное уменьшение активности АлТ при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни [7].

Результаты наших исследований показали, что на 7-й день эксперимента активность ЛДГ в сыворотке гусят контрольной группы составляла  $631,1 \pm 69,41$  Е/л.

У иммунной птицы 2-й группы данный показатель был выше, чем в контроле, в 1,7 раза ( $P_{1-2} < 0,05$ ). У гусят, вакцинированных с применением тималина, наблюдалось снижение активности фермента в 1,5 раза ( $P_{1-2} < 0,05$ ). При этом у гусят 3-й и 4-й опытной групп происходило достоверное понижение активности ЛДГ по сравнению с птицей, привитой без иммуностимуляторов в 2,5 и 1,7 раз соответственно ( $P < 0,05$ ).

На 14-е сутки опыта активность фермента у гусят 2-й группы увеличилась по отношению к контролю в 1,8 раза ( $P_{1-2} < 0,01$ ). У гусят 3-й и 4-й групп данный показатель находился на уровне контрольных значений, однако по сравнению с птицей, привитой без иммуностимуляторов, он был ниже в 1,6 и в 1,9 раза соответственно.

На 21-й день после вакцинации наблюдалось снижение активности ЛДГ в возрастном аспекте по сравнению с предыдущим сроком в 2 раза ( $P_{1-2} < 0,01$ ).

У вакцинированных гусят 2-й группы происходило значительное повышение активности ЛДГ в 4,5 раза ( $P_{1-2} < 0,001$ ). У птиц, вакцинированных с применением тималина и калия оротата, анализируемый показатель достоверно повышался по отношению к контролю, но был ниже, чем в группе гусят, вакцинированных без применения иммуностимуляторов.

Полученные нами экспериментальные данные находят подтверждение у других видов животных. Так, повышение активности ЛДГ наблюдалось у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни [10].

Однако некоторые исследователи наблюдали противоположную картину: у свиней, вакцинированных против пастереллеза, отмечалось снижение активности ЛДГ в сыворотке крови в 1,9-7 раз [8].

Таким образом, иммунизация гусят против пастереллеза вызывает повышение активности ЛДГ в сыворотке крови. Учитывая, что этот фермент в норме поступает в сыворотку крови из клеток органов и тканей, можно предположить, что увеличение его активности обусловлено повышением проницаемости клеточных мембран в результате вакцинации. Введение вакцины совместно с иммуностимуляторами способствует некоторому ослаблению токсического действия вакцины.

Любые биохимические изменения, связанные с усилением метаболических процессов, нуждаются в дополнительных энергозатратах. Основным энергетическим материалом в живом организме является глюкоза.

Так, на 7-й день эксперимента содержание глюкозы в сыворотке крови интактных гусят составляло  $5,26 \pm 0,43$  ммоль/л. У гусят 2-й опытной группы отмечалось снижение данного показателя в 1,3 раза ( $P_{1-2} < 0,05$ ).

На 14-е сутки в сыворотке крови контрольных птиц было отмечено повышение глюкозы по сравнению с предыдущим сроком исследования в 1,6 раз ( $P < 0,01$ ). У гусят опытных групп концентрация глюкозы находилась на уровне контрольных значений.

На 21 день опыта происходило дальнейшее повышение содержания глюкозы в возрастном аспекте до  $11,33 \pm 0,91$  ммоль/л. У гусят 2-й и 3-й групп данный показатель снижался по отношению к контролю в 1,3 - 1,4 раза ( $P < 0,05$ ).

Снижение содержания глюкозы свидетельствует, на наш взгляд, об усиленном ее потреблении организмом вакцинированных гусят. Возможно, глюкоза расходуется в качестве структурного и энергетического материала на выработку антител.

Наибольшее снижение концентрации глюкозы наблюдается на 7-ой и 21-й дни эксперимента, что, видимо, совпадает по времени с пиком иммунных реакций.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Однократная парентеральная иммунизация гусят против пастереллеза вызывает повышение активности АлТ, АсТ и ЛДГ в сыворотке крови на фоне снижения концентрации глюкозы. Это может свидетельствовать о сдвиге анаболических и энергетических процессов, связанных с формированием иммунного ответа. Введение вакцины совместно с иммуностимуляторами тималином и калия оротатом в некоторой степени способствует нормализации данных показателей.

Изменения активности индикаторных ферментов и концентрации глюкозы происходят на 7-й, 14-й и 21-й дни эксперимента, так как, вероятно, в эти сроки происходит формирование поствакцинального иммунитета.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
2. Лях А.Л. Влияние иммуностимулятора натрия тиосульфата на иммунорегенез при парентеральной иммунизации гусят против пастереллеза: Автореф. дис....канд. вет. наук: 16.00.02 // ВГАВМ. - Витебск. – 2003. – 20 с.
3. Бирман Б.Я., Громов И.Н. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц. – Мн.: Бизнесофсет, 2004. – 102 с.
4. Терюханов А.Б., Мазурина М.Г., Токарских В. Г. Профилактика инфекционного бронхита кур // Птицеводство, - 1995, № 5, С. 24-25
5. Громова Л.Н. Биохимический мониторинг утят, вакцинированных против энтеровирусного гепатита: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.04 / ВГАВМ. - Витебск. – 2005. – 21с.
6. Д.Т. Соболев, И.Н. Громов, В.М. Холод, Б.Я. Бирман Ферментный спектр сыворотки крови, печени и поджелудочной железы ремонтного молодняка кур, вакцинированных против ИБК // Эпизоотология. Иммунология. Фармакология. Санитария \. – 2005. – № 1. – С.34 - 41.
7. Использование ультрамикрометодов в анализе энзиматической активности сыворотки крови птиц / Л.К. Кожевникова, И.А. Болотников, Х.И. Мелдо, В.В. Осташкова // Методы иммунологии птиц. – Петрозаводск, 1976. – С. 50-58.
8. Лях Ю.Г., Пленина Л.В. Изменение биохимических и гематологических показателей крови свиней при введении вакцины против легочного пастереллеза // Ветеринарная наука – производство. Научные труды. – 2002 – Т. 36. – С. 122-127.
9. Studies on transaminases values of different breeds of chickens during prior and post vaccination periods of Ranikhet and fowl pox disease vaccines / S.R. Tanwani, R.C. Dhir, M.N. Moghe, I.S. Chhabra // Indian J. Poultry Sc, 1989. Т. 24. № 4. – P. 316-319.
10. Toukhy M.E., Aly S.A., Soliman M.K. Physiological studies on the level of some electrolytes and enzymes in normal and Newcastle vaccinated chicks // Assiut veter. med. J. – 1989. Vol. 21, № 42. – P. 7 – 14.