

УДК 619:616.98:579.843.95:615.37:636.5

## ВЛИЯНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

*Бирман Б.Я., доктор ветеринарных наук, профессор\**

*Гомбалевская В.П., аспирантка\*\**

*\*РУП "Институт Экспериментальной Ветеринарии им. С.Н. Вышелеского", г. Минск, Беларусь*

*\*\*УО «Витебская государственная ордена «Знак почета» академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь.*

**Введение.** Продукция птицеводства с каждым годом пользуется все большим спросом. Это влечет за собой увеличение концентрации и интенсификации производства, что создает весьма сложные проблемы, касающиеся поддержания стойкого благополучия хозяйств по инфекционным и незаразным болезням и получения пищевых продуктов высокого санитарного качества.

Инфекционные болезни, в частности пастереллез, создают серьезную опасность, т.к. сопровождаются массовостью поражения поголовья с 90 % летальностью [1]. Учитывая то, что птица, больная пастереллезом не подлежит лечению, а отправляется на браковку, то вакцинопрофилактика занимает первое место в предупреждении и ликвидации данной болезни.

В БелНИИЭВ разработана вакцина против пастереллеза птиц из производственных штаммов. Инактивированная вакцина содержит антигены типа А, серотипов 1, 3 и 4 *Pasteurella multocida*. Данные серотипы выделены от птицы разных возрастных групп на территории РБ, они наиболее часто встречаются как возбудители болезни. Данные вакцинные штаммы (КМИЭВ) паспортизированы в БелНИИЭВ. Однако биохимические изменения в организме кур, иммунизированных данной вакциной, не изучены.

В условиях промышленного птицеводства возникает необходимость применения веществ, обладающих иммуностимулирующим действием. Это обусловлено тем, что на организм птицы воздействуют стрессорные факторы, угнетающие иммунную реактивность организма. В этих условиях часто наблюдается ослабление или отсутствие иммунного ответа на различные антигены. Однако влияние иммуностимуляторов на иммуноморфогенез и напряженность поствакцинального иммунитета у цыплят при парентеральной иммунизации инактивированной вакциной против пастереллеза не изучено.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проведены на 75 цыплят 15-37-дневного возраста, разделенных на 5 групп, по 15 птиц в каждой.

Цыплята 1-й группы были иммунизированы жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против пастереллеза из шт. “КМИЭВ-26, 27, 28” совместно с иммуностимулятором тималином (в дозе 1 мг на кг живой массы).

Птице 2-й группы вакцину вводили совместно с иммуностимулятором - 7%-ным водным раствором натрия тиосульфата.

Цыплят 3-й группы иммунизировали совместно с иммуностимулятором хитоветом (в дозе 0,2 мл на птицу).

Птиц 4-й группы иммунизировали жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против пастереллеза из шт. “КМИЭВ-26, 27, 28” согласно временному наставлению по применению вакцины (без применения иммуностимуляторов), однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл.

Иммунизацию птиц 1-4-й опытных групп проводили в 15-дневном возрасте. Интактные цыплята 5-й группы служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение.

На 7-ой, 10-й и 14-й дни после вакцинации по 5 цыплят из каждой группы убивали для изучения морфологического состава крови и проведения биохимических исследований.

При проведении морфологических исследований кровь получали из яремной и крыловой вен [5]. Содержание гемоглобина в крови определяли фотоэлектрокалориметрически.

Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева после разведения крови по методике А.А. Кудрявцева и А.А. Кудрявцевой [6] с использованием разбавителя, приготовленного на основе фосфатного буфера [2].

В плазме крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспаратаминотрансферазы (АсТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК), содержание общего белка (ОБ), альбуминов, креатинина, мочевой кислоты, глюкозы унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК “Анализ-Х” (Республика Беларусь) и “Lachema” (Чешская Республика).

**Результаты исследований и их обсуждение.** На 7-й день после вакцинации в крови иммунных птиц 1-4-й групп содержание тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов и концентрация гемоглобина существенно не изменялись по сравнению с контрольными данными.

На 10-й день после вакцинации количество тромбоцитов в крови цыплят 1-ой и 4-ой групп составило соответственно  $76,00 \pm 5,62 \times 10^9/\text{л}$  и  $101,00 \pm 23,03 \times 10^9/\text{л}$  (в контроле -  $39,00 \pm 14,05 \times 10^9/\text{л}$ ;  $P < 0,05$ ). У иммунных птиц других групп данный показатель изменялся недостоверно. Содержание лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина в крови всех вакцинированных цыплят не имело существенных отличий по сравнению контролем.

На 14-й день после иммунизации число тромбоцитов в крови подопытных цыплят нормализовалось по отношению к контрольным данным. Количество эритроцитов в крови всех птиц было снижено на 10-13% по сравнению с предыдущим сроком исследований, а число лейкоцитов оставалось неизменным. Содержание гемоглобина у подопытных птиц превышало контрольные значения на 16-20%. При этом у цыплят 1-й и 2-й групп данный показатель изменялся достоверно.

Исходя из полученных результатов биохимического исследования крови можно заключить следующее.

Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) на 7-й день эксперимента в плазме крови цыплят контрольной группы составляла  $2537,25 \pm 129,78$  МЕ/л (табл. 2). У иммунных птиц 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп данный показатель был ниже, чем в контроле, соответственно на 33-35% ( $P < 0,05$ ).

На 10-й день после вакцинации отмечалось снижение активности ЛДГ по сравнению с предыдущим сроком исследования в плазме крови птиц всех групп. При этом у вакцинированных цыплят 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп данный показатель был ниже, чем в контроле, соответственно на 5-25% ( $P > 0,05$ ).

На 14-й день эксперимента у вакцинированных птиц всех групп данный показатель нормализовался по сравнению с контролем.

Из полученных данных видно, что иммунизация цыплят против пастереллеза вызывает кратковременное снижение активности ЛДГ в плазме крови. Изменение активности данного фермента в плазме крови в определенной степени отражает метаболическую перестройку в различных органах и тканях (печень, почки, скелетная и сердечная мускулатура), сопровождающую вакцинный процесс [3, 4]. Угнетение ЛДГ, вероятно, препятствует образованию лактата и способствует более полному окислению пирувата в цикле Кребса и гликолизе, что обеспечивает более полную утилизацию углеводов. Возможно, таким путем восполняются дополнительные энергетические затраты в процессе формирования поствакцинального иммунитета против данной болезни.

Известно, ингибиторами активности ЛДГ являются IgG, IgA и IgM. Возможно, снижение активности данного фермента объясняется усиленной выработкой специфических антител в ответ на введение антигена. Введение вакцины совместно с иммуностимуляторами не оказывало существенного влияния на изменение активности ЛДГ [3, 4].

Активность аспартатаминотрансферазы (АсТ) в плазме крови цыплят контрольной группы на 7-й день эксперимента составляла  $276,25 \pm 10,96$  МЕ/л. У иммунных птиц 1-4-й групп данный показатель существенно не отличался от контроля.

На 10-й и 14-й дни после вакцинации активность АсТ в сыворотке крови птиц 1-5-й групп не изменялась по сравнению с исходными данными. Следовательно, иммунизация цыплят против пастереллеза совместно с иммуностимуляторами и без них не оказывает влияния на активность АсТ в плазме крови.

Активность аланинаминотрансферазы (АлТ) в плазме крови контрольных цыплят на 7-е сутки опыта составила  $6,00 \pm 0,56$  МЕ/л. У иммунизированных птиц 1-4-й групп данный показатель не имел достоверных отличий по сравнению с контролем. В последующие сроки исследований (на 10-й и 14-й дни опыта) активность данного фермента у всех цыплят оставалась на прежнем уровне.

АсТ и АлТ – это ферменты “выхода”, и то, что вакцинация существенно не влияет на их активность в плазме крови, может указывать на целостность клеточных мембран гепатоцитов и низкую реактогенность и безопасность вакцины.

О функциональном состоянии печени свидетельствует динамика активности щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ). На 7-й день эксперимента активность ГГТ в плазме крови контрольных цыплят находилась на уровне  $46,25 \pm 3,09$  МЕ/л, у вакцинированных цыплят 1-4-й групп отмечалась тенденция к повышению данного показателя, однако статистически это не подтверждалось. На 10-й день опыта у контрольных и вакцинированных птиц данный показатель возрастал по сравнению с предыдущим сроком исследований. При этом достоверных различий в активности ГГТ между группами птиц не наблюдалось. На 14-й день после вакцинации у всех цыплят отмечалась тенденция к нормализации данного показателя по отношению к исходным данным.

На 7-ой день после иммунизации активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме крови вакцинированных птиц 4-ой группы возросла по сравнению с контролем в 2 раза ( $P > 0,05$ ), а у подопытных 1-й, 2-й и 3-й групп – в 5,9-6,2 раза ( $P < 0,05$ ). Аналогичная тенденция наблюдалась на 10-й день опыта. Возрастание ферментативной ак-

тивности фосфатазы является, возможно, компенсаторным механизмом обеспечения потребностей организма в неорганических фосфатах, необходимых для усиленного синтеза АТФ и белка в гепатоцитах [3, 4]. ЩФ может выступать в качестве трансферазы, которая переносит освобождающийся фосфорный остаток на молекулу акцептора. Предполагается, что фермент участвует в транспорте фосфата и обеспечивает его образование там, где возникает потребность в нем.

На 14-й день эксперимента в плазме крови контрольных цыплят наблюдалось резкое повышение активности ЩФ по сравнению с предыдущим сроком исследований ( $P < 0,001$ ) и показателями в 1-4-й группах привитых птиц ( $P < 0,01$ ). Возможно, что резкие изменения активности ЩФ в плазме крови интактных цыплят связаны с активным ростом в этот период и формированием костей скелета или регулирующей активностью фермента какими-то внутренними факторами.

Активность креатинфосфокиназы (КФК) в плазме крови контрольных цыплят на 7-й день после опыта составила  $1981,50 \pm 385,40$  МЕ/л. У цыплят 4-й группы, вакцинированных без применения иммуностимуляторов, данный показатель был ниже, чем в контроле, на 36% ( $P > 0,05$ ). У птиц 1-й, 2-ой и 3-й групп, вакцинированных с применением иммуностимуляторов, данный показатель не имел существенных отличий по сравнению с контрольными данными. На 10-й день эксперимента в плазме крови всех иммунизированных птиц выявлена тенденция к снижению активности КФК по сравнению с контролем. При этом у цыплят 1-ой группы данный показатель изменялся достоверно. На 14-й день опыта ферментативная активность КФК в плазме контрольных утят была на уровне предыдущего срока исследования. У птиц 1-й, 2-й и 4-й групп она была на уровне контрольных показателей, а у цыплят 3-й группы достоверно возрастала.

Таким образом, введение вакцины и иммуностимуляторов индуцировало разнонаправленные изменения КФК в плазме крови. КФК принимает участие в энергетическом обмене клеток мышечной ткани, т.к. обратимо катализирует фосфорилирование креатина при помощи АДФ. Активность КФК плазмы крови обусловлена изоферментами, поступающими из сердечной мускулатуры. Изменение активности КФК в плазме крови, возможно, отражает метаболическую перестройку в скелетной и сердечной мускулатуре, сопровождающую развитие иммунного ответа.

Концентрация общего белка (ОБ) в плазме крови интактных цыплят в течение эксперимента находилась на уровне  $42,00 \pm 2,81 - 48,00 \pm 2,53$  г/л.. На 7-й и 10-й дни после вакцинации у цыплят 1-й, 2-й, и 4-й групп отмечалось снижение уровня общего белка по сравне-

нию с контролем. При этом у цыплят 4-ой группы, привитых одной вакциной, эти различия были достоверными. Уменьшение концентрации общего белка под влиянием вакцинации свидетельствует о снижении синтетической функции печени. Следует отметить, что введение вакцины совместно с хитоветом способствовало увеличению концентрации ОБ по сравнению с птицей, вакцинированной без иммуностимулятора ( $P < 0,05$ ). На 14-й день после вакцинации содержание общего белка у подопытных цыплят нормализовалось по сравнению с контрольными значениями. Это может свидетельствовать о том, что влияние вакцины на синтетическую функцию печени наиболее выражено в первые 10 дней после ее применения. При этом концентрация альбуминов в плазме крови подопытных цыплят во все сроки исследований существенно не отличалась от контроля и изменялась в пределах  $11,50 \pm 0,96$  -  $16,08 \pm 1,18$  г/л.

Содержание креатинина и мочевой кислоты в плазме крови иммунных птиц всех групп на 7-й, 10-й и 14-й дни после вакцинации оставалось неизменным и не имело существенных различий по сравнению с контрольными данными. Следовательно, введение цыплятам вакцины и иммуностимуляторов не оказывает влияния на выделительную функцию почек. Во все сроки исследований концентрация глюкозы в плазме крови интактных и вакцинированных цыплят была примерно одинаковой.

**Выводы.** При парентеральной иммунизации цыплят жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против пастереллеза совместно с иммуностимуляторами и без них в крови вакцинированных птиц увеличивается количество тромбоцитов и концентрация гемоглобина.

При введении цыплятам вакцины против пастереллеза наблюдается достоверное увеличение активности щелочной фосфатазы в плазме крови на фоне уменьшения активности ЛДГ и снижения концентрации общего белка, что отражает метаболическую перестройку в печени, почках, скелетной и сердечной мускулатуре, сопровождающую вакцинный процесс. При этом иммунизация птиц совместно с тималином, натрия тиосульфатом и хитоветом существенно не влияет на изменение активности индикаторных ферментов и концентрации метаболитов в плазме крови вакцинированных птиц.

На 7-й и 10-й дни эксперимента отмечаются наибольшие изменения активности ферментов и концентрации метаболитов в плазме крови вакцинированных цыплят. К 14-му дню наступает нормализация метаболических процессов, проявляющаяся стабилизацией большинства биохимических показателей.

**Список использованных источников**

1. Бирман, Б.Я. Болезни птиц. / Б.Я. Бирман, В.П. Голубничий - Мн., 1996. - 251 с.
2. Болотников, И.А. Гематология птиц. / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев – Л.: Наука, 1980. – 115 с.
3. Камышников, В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили: справ. пособие. – Мн.: “Беларуская навука”, 1999. – С. 347-355.
4. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
5. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Мн.: Ураджай, 1986. – 183 с.
6. Кудрявцев А.А., Кудрявцева А.А. Клиническая гематология животных. – М.: Колос, 1974. – 399 с.