

УДК 619:616.76-002-022.6 -091:636.5:612.015:615.214.22

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИББ, НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ЛИТИЯ**Алисейко Е.А., Громов И.Н.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь**Орлова О.В.**ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии»,
г. Минск, Республика Беларусь

В работе изучено влияние неорганических и органических солей лития на активность индикаторных ферментов и концентрацию метаболитов в плазме крови цыплят при вакцинации против инфекционной бурсальной болезни (ИББ). Выявлены метаболические нарушения при использовании лития цитрата, сульфата и сукцината.

In work it is studied influence of inorganic and organic salts of lithium on activity of display enzymes and concentration of metabolites in plasma of blood of chickens is studied at vaccination against infectious bursal disease (IBD). Metabolic disturbances are taped at use of lithium of citrate, sulfate and succinate.

Введение. Проблема стресса в условиях промышленного птицеводства особенно актуальна. Максимальное использование площадей, механизация и автоматизация производственных процессов, унификация кормов в обязательном порядке предусматривает создание для птиц оптимальных условий кормления и содержания. При этом во многих случаях развитие стрессового состояния сопровождается снижением продуктивности и ухудшением качества продукции.

Препараты лития давно привлекают внимание ветеринарных специалистов в силу перспективных разработок в биологии и медицине. Указанные соединения обладают антистрессорным, биостимулирующим, иммуностимулирующим действием за счет положительного влияния на нервную и эндокринную системы организма. Кроме того, соли лития обладают антиоксидантными свойствами. Ранее была изучена возможность применения неорганических солей лития (лития карбоната, лития сульфата, лития хлорида) для коррекции технологических стрессов у птиц [1, 4]. Вместе с тем биохимические изменения в организме птиц при использовании препаратов лития не изучены. В то же время немногочисленные литературные данные свидетельствуют о негативном влиянии солей лития на морфологию и функцию эндокринных желез.

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований явилось изучение влияния неорганических (карбонат, сульфат, цитрат) и органической (сукцинат) солей лития на биохимические показатели плазмы крови цыплят при стрессе, вызванном вакцинацией против инфекционной бурсальной болезни (ИББ).

Материалы и методы. Исследования проведены на 72 цыплятах 5-22-дневного возраста, разделенных на 6 групп, по 12 птиц в каждой. Цыплят 1-5 групп в 8-дневном возрасте перорально иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из штамма "КМИЭВ-61" («ТМ», Республика Беларусь). Птице 1-4 групп за 3 дня до и 3 дня после вакцинации задавали препараты лития: 1 группа – лития карбонат (в дозе 15 мг/кг массы тела); 2 группа – лития сульфат (в дозе 25 мг/кг массы тела); 3 группа – лития цитрат (в дозе 25 мг/кг массы тела); 4 группа – лития сукцинат (в дозе 90 мг/кг массы тела). Вакцинированным цыплятам 5 группы препараты лития не задавали. Интактная птица 6 группы служила контролем.

На 3, 7, 14 дни после проведения иммунизации от 4 птиц из каждой группы отбирали пробы крови для биохимического исследования. В полученной плазме определяли активность аланин - (АлТ) и аспаратаминотрансфераз (АсТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), устанавливали содержание общего белка, альбумина, креатинина, мочевой кислоты и триглицеридов. Активность АсТ, АлТ, ГГТ и ЛДГ в плазме крови определяли кинетически [3, с. 375–381, 480–484, 433–439] на биохимическом анализаторе «Conelab 30i» («Thermo Electron», Финляндия) с помощью стандартизированных (сертифицированных) наборов реактивов «Thermo Electron» для определения активности указанных энзимов. Активность индикаторных ферментов выражали в МЕ/л.

Концентрацию общего белка в плазме крови определяли в биуретовой реакции, альбумина - в реакции с бромкрезоловым зеленым, креатинина - в реакции Яффе, мочевины - ферментативным (уреазным) методом, триглицеридов - сульфопфосфованилиновым методом [3, с. 179–182, 193–194, 290–295, 316–323]. Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. Активность ЛДГ в плазме крови интактных птиц на 3 день после иммунизации составляла $1722,50 \pm 163,20$ МЕ/л. Применение вирус-вакцины против ИББ (5 группа) способствовало снижению данного показателя до $1514,50 \pm 156,46$ МЕ/л, однако различия были недостоверными. У цыплят 1-4 групп активность ЛДГ варьировала в пределах $1640,25 \pm 151,12 - 2011,00 \pm 152,53$ МЕ/л. При этом достоверных отличий в данном показателе между группами птиц нами не выявлено. На 7 день эксперимента у цыплят всех групп (подопытных и контрольной) отмечено повышение активности ЛДГ по сравнению с исходными данными. В последующем (на 14 день после вакцинации) в плазме крови вакцинированных цыплят 1-5 групп отмечено постепенное выравнивание данного показателя по сравнению с контрольными значениями.

Таким образом, иммунизация птиц против ИББ вызывает кратковременное повышение активности ЛДГ в плазме крови. Учитывая, что этот фермент в норме поступает в кровь из клеток органов и тканей, можно предположить, что увеличение его активности обусловлено повышением проницаемости клеточных мембран в результате вакцинации.

На 3 день после вакцинации активность АлТ в плазме крови цыплят 1-4 групп, получавших соли лития, составляла $10,75 \pm 1,40 - 14,25 \pm 2,81$ МЕ/л, что было в 1,8-2,4 раза достоверно ниже, чем в контроле (рисунок 1). При этом наиболее выраженные изменения наблюдались у птиц, вакцинированных на фоне применения лития

сульфата. Иммунизация цыплят без применения препаратов лития вызывала меньшие колебания активности данного фермента.

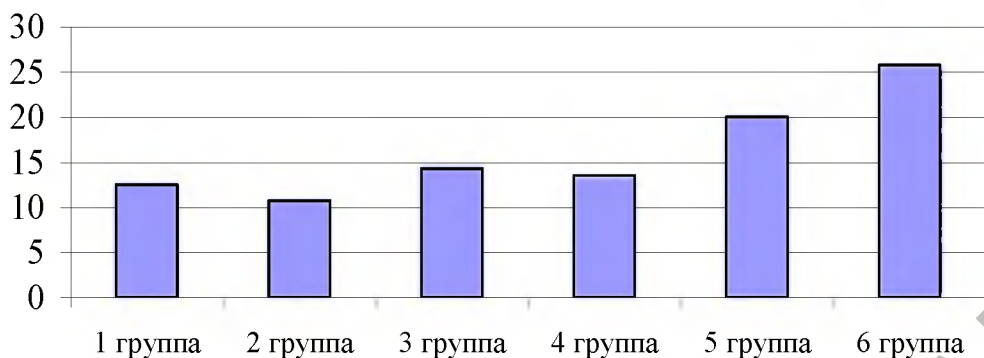


Рисунок 1 - Активность АлТ в плазме крови птиц на 3 день после вакцинации против ИБВ (МЕ/л)

Л.К. Кожевникова и др. [2] регистрировала незначительное уменьшение активности АлТ при вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни. Напротив, повышение активности АлТ при вакцинации птиц против других инфекционных болезней наблюдали другие исследователи [7, 8]. АлТ является мембранным ферментом. Сывороточная АлТ происходит прежде всего из печени и миокарда. В связи с этим можно предположить, что препараты лития угнетают активность данного фермента в гепатоцитах и кардиомиоцитах. К 7 дню эксперимента у птиц 1-4 опытных групп намечалось постепенное возрастание активности АлТ по сравнению с исходными данными. Нормализация данного показателя наступала к 14 дню эксперимента.

На 3 день эксперимента активность АсТ составляла: в 1 группе - $221,00 \pm 10,11$ МЕ/л; во 2 группе - $217,25 \pm 14,33$ МЕ/л; в 3 группе - $214,75 \pm 16,85$ МЕ/л; в 4 группе - $215,00 \pm 13,48$ МЕ/л; в 5 группе - $217,75 \pm 2,36$ МЕ/л; в 6 группе - $225,50 \pm 7,30$ МЕ/л. На 7 и 14 дни после иммунизации существенных изменений данного показателя у цыплят подопытных и контрольной групп не устанавливалось. Изменение активности аминотрансфераз объективно отражает метаболические нарушения в печени. Гепатоциты имеют прямой контакт как с интерстициальным, так и внутрисосудистым пространством, к тому же проницаемость стенок синусоидных капилляров в печени высока. При патологии гепатоцитов ферменты, освобождающиеся из клеток, быстро попадают в кровь. При этом АсТ освобождается как из гиалоплазмы, так и из митохондрий. Учитывая, что у подопытных цыплят всех групп существенных изменений активности АсТ не наблюдалось, можно предположить, что вакцинный штамм "КМИЭВ-61" вируса ИБВ и препараты лития не вызывают повреждения мембран гепатоцитов.

Некоторые исследователи наблюдали незначительное повышение активности АсТ в сыворотке крови птиц после вакцинации против пастереллеза [7]. Другие авторы не отмечали достоверных изменений данного параметра [2, 5, 8].

Активность ГТТ в плазме крови птиц на 3 день после вакцинации колебалась: $27,85 \pm 4,61$ МЕ/л у цыплят 1 группы; $29,70 \pm 1,66$ МЕ/л у цыплят 2 группы; $33,95 \pm 2,19$ МЕ/л у цыплят 3 группы; $26,48 \pm 2,22$ МЕ/л у цыплят 4 группы; $8,85 \pm 5,03$ МЕ/л у цыплят 5 группы; $28,80 \pm 1,60$ МЕ/л у цыплят 6 группы. На 7 день эксперимента у птиц 1-6 групп активность ГТТ варьировала в пределах $21,18 \pm 1,24 - 26,28 \pm 0,90$ МЕ/л, а на 14 день - $20,68 \pm 4,21 - 27,00 \pm 3,65$ МЕ/л. При этом достоверных отличий в данном показателе между группами птиц нами не выявлено.

ГТТ содержится в основном в плазмолемме клеток, обладающих высокой секреторной или адсорбционной способностью: эпителиоцитах экзокринных отделов поджелудочной железы и крипт тонкого отдела кишечника, гепатоцитах, нефроцитах. В порядке снижения удельной активности ГТТ ткани располагаются в следующей последовательности: поджелудочная железа, почки, печень, щеточная каемка эпителиоцитов тонкой кишки. Активность ГТТ не обнаружена в скелетных мышцах и миокарде. Возможно, инактивированная вакцина против ИЛТ обладает остаточной реактогенностью, вызывая структурные и метаболические нарушения в гепатоцитах и панкреатитах. Поскольку у цыплят 1-6 групп активность ГТТ существенно не изменялась, можно сделать вывод о том, что иммунизация цыплят против ИБВ без и с применением препаратов лития не оказывает влияния на состояние эпителиоцитов поджелудочной железы.

Содержание общего белка и альбумина в разные сроки исследований варьировало в узких пределах. На 3 день после иммунизации у цыплят 3 группы (вакцина+лития цитрат) наблюдалось повышение концентрации триглицеридов до уровня $0,85 \pm 0,20$ ммоль/л (в контроле - $0,47 \pm 0,04$ ммоль/л; $P > 0,05$). На 7 день эксперимента в плазме крови птиц, иммунизированных совместно с лития цитратом и лития сукцинатом, происходило достоверное повышение уровня триглицеридов на 33-88% по сравнению с контролем. Вероятно, это объясняется интенсивным расходом жиров как энергетического материала для формирования поствакцинального иммунитета. Вакцинация против инфекционного бронхита кур вызывала изменение показателей липидного обмена в печени и сыворотке [6].

При изучении концентрации креатинина в плазме крови отмечено кратковременное (до 7-го дня после вакцинации) и недостоверное повышение указанных показателей в группе иммунного молодняка кур по сравнению с контролем. На 3 день эксперимента у цыплят 1-6 групп содержание мочевой кислоты варьировало в пределах $181,00 \pm 25,00 - 263,75 \pm 92,14$ мкмоль/л. На 7 день после иммунизации у цыплят 3 группы (вакцина+лития цитрат) данный показатель возрастал до уровня $484,5 \pm 70,23$ мкмоль/л, что было в 2,1-2,2 раза больше, чем у птиц 5 и 6 групп (рисунок 2).

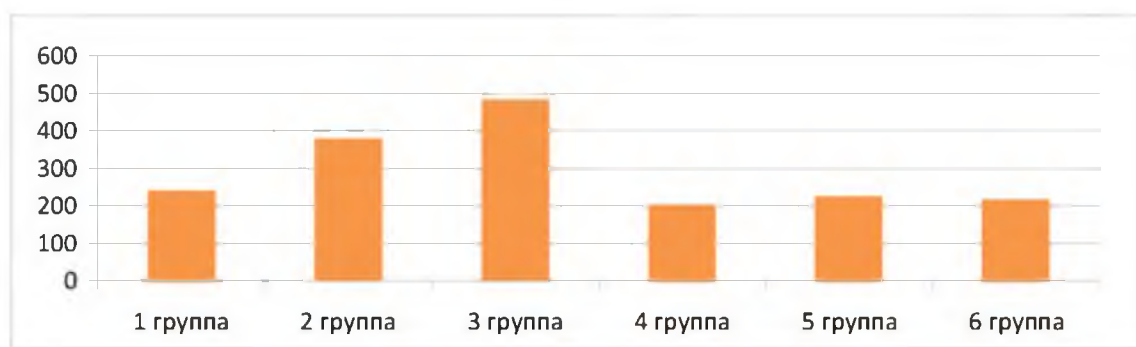


Рисунок 2 - Содержание мочевой кислоты в плазме крови птиц на 7 день после вакцинации (µмоль/л)

Повышение уровня мочевой кислоты свидетельствует, прежде всего, о нарушении выделительной функции почек. Аналогичная тенденция сохранялась и на 14 день опыта. При этом наибольшая концентрация мочевой кислоты отмечалась в плазме крови птиц, получавших лития сульфат, цитрат и сукцинат.

Заключение. Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что сухая живая вирус-вакцина из штамма "КМИЭВ-61" не оказывает существенного влияния на биохимические показатели плазмы крови. В то же время иммунизация цыплят на фоне применения солей лития (карбонат, сульфат, цитрат, сукцинат) приводит к достоверному снижению активности АлТ, что свидетельствует о угнетении функции гепатоцитов. Применение лития цитрата, сульфата и сукцината способствует также достоверному повышению концентрации мочевой кислоты, что связано, по-видимому, с нарушением выделительной функции почек. Метаболические нарушения наблюдаются в различные сроки исследований – на 3, 7 и 14 дни после введения вакцины.

Литература. 1. Бобер, Ю.Н. Использование лития карбоната в птицеводстве / Ю.Н. Бобер, О.М. Каморник // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сб. науч. тр. : в 4 т. / УО ГТАУ ; редкол.: В.К. Пестис [и др.] - Гродно, 2006. – Т. 3. – С. 114-118. 2. Использование ультрамикрометодов в анализе энзиматической активности сыворотки крови птиц / Л.К. Кожевникова [и др.] // Методы иммунологии птиц. – Петрозаводск, 1976. – С. 50-58. 3. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с. 4. Кутищев, И. Воздействие лития глицината на цыплят / И.Кутищев // Птицеводство. – 2006. – № 9. – С. 33. 5. Лях Ю.Г., Пленина Л.В. Изменение биохимических и гематологических показателей крови свиней при введении вакцины против легочного пастереллеза // Ветеринарная наука – производству. Научные труды. – 2002 - Т. 36. - С. 122-127. 6. Особенности липидного обмена ремонтного молодняка кур, вакцинированного против ИБК / Д.Т. Соболев, В.М. Холод, И.Н. Громов и др. // Птицеводство Беларуси. – 2003. -№ 3. – С.9-11. 7. Радченко С.Л. Активность некоторых ферментов сыворотки крови гусят при иммунизации против пастереллеза // Ученые записки ВГАВМ: Материалы III научно-практической конференции по результатам научных исследований ВГАВМ за 1999 год, в. Витебск, 25-26 апреля 2000 г. – Витебск, 2000. – Т. 36, ч.1 – С. 79-80. 8. 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.

Статья поступила 19.02.2010 г.

УДК 636.5:611.08:615.371

СКАНИРУЮЩАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ИММУНОГЕННОСТИ И РЕАКТОГЕННОСТИ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН

Громов И.Н., Прудников В.С., Гуков Ф.Д.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Скروتская К.В.

НИИ физико-химических проблем БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

С использованием сканирующей электронной микроскопии проведена морфологическая оценка эффективности моно- и ассоциированных противовирусных вакцин. Показано, что указанные биопрепараты вызывают в организме птиц ряд структурных нарушений, среди которых можно выделить как иммуноморфологические изменения, так и патоморфологические процессы.

With use of a scanning electron microscopy the morphological assessment of efficacy mono-and associated antiviral vaccines is made. It is shown, that the specified biological preparations invoke in an organism of auks a number of structural breaking among which it is possible to secrete as immunomorphological changes, and pathomorphological processes.

Введение. В настоящее время для специфической профилактики наиболее опасных вирусных болезней птиц: болезни Ньюкасла (БН), инфекционного бронхита кур (ИБК), инфекционной бурсальной болезни (ИББ), инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ) используются дорогостоящие вакцины производства России, Голландии и др. стран. Поэтому усовершенствование специфической профилактики инфекционных заболеваний птиц путем разработки отечественных вакцин является приоритетным направлением научных исследований и имеет важное прикладное значение. Морфологическое обоснование разрабатываемых и внедряемых в производство вакцин является обязательным. Использование морфологических методов исследования позволяет оценивать не