

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КРОВІ КУРЕЙ ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ Х ВОРОБИ МАРЕКА ТА ЗАРАЖЕННІ ЕПІЗООТИЧНИМ ШТАМОМ ЗБУДНИКА

Коваленко Л.В., Стегній Б.Т., Бойко В.С., Романько М.Є.

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Встановлена динаміка активності лужної фосфатази, α -амілази аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази сироватки крові курчат після зараження епізootичним штамом збудника хвороби Марека та вакцинації проти цього захворювання.

Ферменти – специфічні білкові каталізатори, які присутні у всіх клітинах. Майже всі біохімічні реакції, що протікають в організмі в своєму закономірному поєднанні, каталізуються відповідними ферментами. Направляючи та регулюючи обмін речовин, ферменти грають найважливішу роль у всіх процесах життєдіяльності [1].

Трансферази (аланінамінотрансфераза (АлАТ) та аспартатамінотрансфераза (АсАТ)) – окремий клас ферментів, які каталізують перенос функціональних груп та молекулярних залишків від однієї молекули до іншої, а також приймають участь у біохімічних перетвореннях вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот та амінокислот [2, 3].

Гідролази (лужна фосфатаза, α -амілаза) – клас ферментів, які каталізують гідроліз ковалентного зв'язку. Приймають участь в обміні білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів, ліпідів та інших біологічно важливих сполук [2, 3, 4].

Органоспецифічні ферменти відображають фізіологічний стан відповідних органів. Так, АсАТ – мітохондріальний фермент, який має найвищу активність у печінці, серцевому м'язі та нирках. Аланінамінотрансфераза знаходиться в цитоплазмі та мітохондріях клітин печінки. Лужна фосфатаза пов'язана з зовнішньою поверхнею каналікулярної мембрани гепатоцитів, а також знаходиться в кістках. Альфа-амілаза – панкреатичний фермент, але він також є в тканинах печінки [5, 6, 7].

Особливості ферментної системи при різноманітних патологічних станах широко вивчені в біології та гуманній медицині, останнім часом дослідження у цьому напрямку розвиваються також у галузі ветеринарної медицини [8]. Одним з найменш вивчених аспектів патогенезу є вплив інфекційного процесу на ферментну систему тварин. У доступній нам літературі практично відсутня інформація щодо характеру змін активності органоспецифічних ферментів при хворобі Марека, збудник якої є нейро- та епітеліотропним вірусом [9]. Тому метою нашої роботи було вивчення особливостей змін динаміки активності ферментів курчат, підданих вакцинації та зараженню епізootичним штамом вірусу хвороби Марека.

Матеріали та методи. Науково-дослідна робота була проведена на базі Дніпропетровської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ» спільно з лабораторією біотехнології ННЦ «ІЕКВМ». У досліді використовували інтактних добових курчат-бройлерів кросу Кобб-500, з благополучного щодо інфекційних хвороб птахогосподарства. Було сформовано 3 групи курчат-аналогів по 30 голів у кожній.

Курчатам 1-ї групи (n=30) внутрішньом'язово вводили „Вакцину бівалентну культуральну проти хвороби Марека” в дозі 0,2 см³ на голову.

У 20-добовому віці курчата 1-ї та 2-ї дослідних груп були заражені патогенним штамом „JM” вірусу хвороби Марека. Птицю контрольної (3-ї) групи не піддавали вакцинації та інфікуванню.

Впродовж 85 діб вели спостереження за поведінкою та клінічним станом птиці. На 14-, 30-, 50-, 70-, 85-у добу по 5 голів птиці з кожної групи були еутаназовані та знекровлені, при розтині звертали увагу на ураження внутрішніх органів, характерні для хвороби Марека. Відібрані зразки сироваток крові піддавали дослідженню на визначення активності ферментів.

Активність ферментів аланін- (АлАТ; КФ 2.6.1.2) та аспартатамінотрансфераз (АсАТ; КФ 2.6.1.1), лужної фосфатази (ЛФ; КФ 3.1.3.1) та -амілази проводили з використанням стандартних наборів реактивів виробництва фірми P.Z. CORMAY (Польща).

Одержаний цифровий матеріал біометрично обробляли з використанням програми Microsoft Excel. Різницю вважали вірогідною при $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення. Аналізуючи дані рис. 1, можна констатувати стійку тенденцію до підвищення активності α -амілази у курчат 2-ї групи протягом досліджу. На 70-ту добу досліджу цей показник складає $12,90 \pm 0,8$ мг/схл, при значенні у контролі $10,63 \pm 1,91$, при цьому ця різниця стає вірогідною і складає 45,0%. У сироватках крові вакцинованих курчат (1-а група) змін активності цього ферменту не реєстрували.

Отримані нами дані свідчать (таблиця), що інфекційний процес при хворобі Марєка справляє більш виражений вплив на активність іншої гідролази – лужної фосфатази, що проявляється у зниженні активності цього ферменту на 35% ($p \leq 0,05$) вже через 10 діб після зараження, (30-та доба досліджу). На 50-у 70-у та 85-ту добу відсоток її пригнічення відносно контрольних показників складає 54%, 40% та 59% відповідно.

Вакцинація спричиняє короткострокове зниження активності ЛФ: через 14 діб цей показник у птиці 1-ї групи менший за контрольний на 17,0% ($p \leq 0,05$). На наступних термінах досліджень активність цього ферменту у курчат дослідної групи практично не відрізняється від контролю, окрім 85-ї доби, коли спостерігається тенденція до її знижен

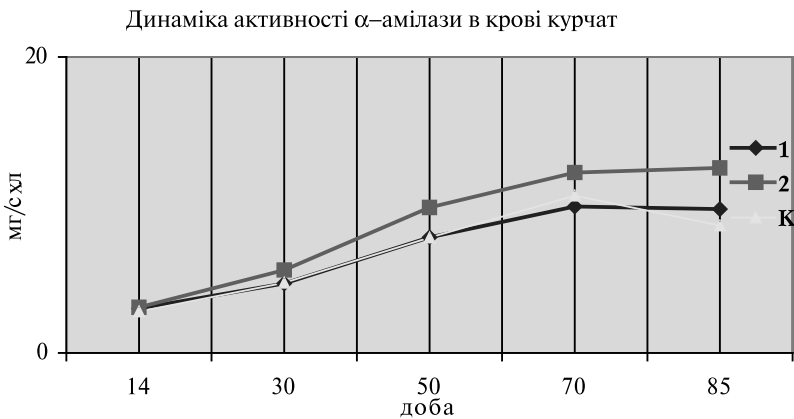


Рис. 1

Отримані нами дані свідчать, що на початкових термінах досліджу (14-а доба) у сироватках крові вакцинованих курчат дослідних груп відбувається незначне підвищення (до 6,0%) активності АсАТ у порівнянні з контролем.

На 30-ту добу досліджу (через 10 діб після зараження) спостерігається зворотна тенденція, причому більш виражена для АЛАТ: у курчат 1-ї та 2-ї груп її активність була знижена на 15% та 21% ($p \leq 0,05$) відповідно. Пригнічення активності цього ферменту на такому ж рівні супроводжує розвиток інфекційного процесу у птиці 2-ї групи впродовж терміну спостережень. Наприкінці досліджу відмічено статистично вірогідне зниження активності АсАТ на 26% порівняно з контролем, при цьому виражена тенденція до зниження цього показника (на 11%) спостерігається з 50-ї доби досліджу. Встановлені зміни свідчать про вплив патогенного штаму збудника хвороби Марєка на функціональний стан серця та печінки, причому серце залучається до патологічного процесу на початкових стадіях інфікування, що може бути обумовлено тропізмом вірусу.

Для оцінки глибини впливу інфекційного агента на функціональний стан вищезначених органів було використано коефіцієнт де Рітєса (відношення активності АсАТ до АЛАТ) [10]. Як свідчать дані таблиці, у курчат 2-ї групи встановлено зниження цього показника відносно контролю, особливо виражене на 30-у та 50-у добу експерименту (через 10 та 40 діб після зараження) і складає 21 та 15% відповід-

но ($p \leq 0,05$). На наступних термінах досліджень різниця цих показників була статистично недостовірною.

Таблиця 1 – Біохімічні показники сироватки крові курчат ($M \pm m$, $n=5$)

Групи тварин	Доба дослідю				
	14	30	50	70	85
Активність АсАТ, ммоль/годхл.					
1	1,63±0,03	1,71±0,58	1,74±0,24	1,65±0,08	1,30±0,09
2	1,54±0,05	1,76±0,13	1,56±0,17	1,48±0,30	1,06±0,20*
КОНТ-роль	1,57±0,21	1,80±0,06	1,76±0,10	1,66±0,20	1,43±0,12
Активність АлАТ, ммоль/годхл.					
1	0,52±0,03	0,54±0,17	0,60±0,05	0,70±0,14	0,82±0,07
2	0,47±0,06	0,51±0,01*	0,55±0,11	0,61±0,24	0,70±0,09
КОНТ-роль	0,52±0,04	0,64±0,04	0,70±0,08	0,78±0,10	0,85±0,15
АсАТ/АлАТ					
1	3,13±1,20	3,16±0,22	2,90±0,17	2,35±0,20	1,46±0,12
2	3,27±0,26	3,43±0,26	2,84±0,08	2,42±0,14	1,51±0,24
КОНТ-роль	3,02±0,20	2,82±0,27	2,51±0,10	2,13±0,68	1,68±0,26
Лужна фосфатаза, нмоль/схл					
1	3343,2±408,2*	9585,0±115,0	9225,40±629,3	4336,75±323,8	3824,20±446,2
2	7916,5±683,7	6160,4±117,3*	4820,40±300,4	2731,82±32,6*	2680,90±210,0*
КОНТ-роль	6591,8±345,9	9462,0±698,0	10565,90±2743,5	4612,72±828,2	6623,30±973,0

Примітка * – різниця значень вірогідна при $p \leq 0,05$ відносно показників контрольної групи.

Необхідно відмітити, що клінічні ознаки захворювання у птиці 2-ї групи починали проявлятися лише з 65-ї доби дослідю, а саме: сильна депресія, зниження ваги птиці, блідість слизових оболонок, відсутність апетиту, діарея та задуха з послідуємим розвитком одно- та двосторонніх паралічів. При розтині спостерігали макроскопічні щільні пухлини у внутрішніх органах, розширення зоба, легені мали сіруватий колір та дифузні пухлинні осередки. У вакцинованій птиці клінічних та патанатомічних ознак розвитку інфекційного процесу хвороби Марека не встановлено. Аналіз динаміки активності амінотрансфераз після зараження курчат 1-ї групи свідчить, що вакцинація запобігає розвитку патобіохімічних зрушень у серцевому м'язі та тканині печінки птиці, а показники активності α -амілази – і у підшлунковій залозі.

Висновки. 1. Розвиток інфекційного процесу при хворобі Марека супроводжується підвищенням активності α -амілази та зниженням активності лужної фосфатази до 59%, АсАТ та АлАТ до 21 та 27% відповідно. Найбільш виражені негативні зміни функціонального стану трансаміназ проявляються протягом 10-40 діб після зараження.

2. Щеплення курчат вакциною бівалентною культуральною проти хвороби Марека в дозі 0,2 см³ не справляє вираженого негативного впливу на функціональний стан ферментів крові птиці та запобігає розвитку патобіохімічних зрушень у тканинах підшлункової залози, серця та печінки після введення епізоотичного штаму вірусу хвороби Марека «JM».

Список літератури

1. Вилкінсон, Д. Принципы и методы диагностической энзимологии [Текст]: пер. с англ. / Д. Вилкінсон. – М.: Медицина, 1981. – 624 с. 2. Rej, R. They use enzymes for everything [Text] / R. Rej. // Clin. Chem. – 1998. – Vol. 44, № 6. – P. 1149-1153. 3. Долгов, В.В. Лабораторная энзимология [Текст] / В.В. Долгов, А.В. Козлов, В.В. Раков. – М., 2002. – 159 с. 4. Berry, M.N. Enzymatic determination of potassium in serum [Text] / M.N. Berry [et al.] // Clin. Chem. – 1989. – Vol. 35. – P. 817-820. 5. Wu, A.H.B. Diagnostic enzymology and other biochemical markers of organ damage [Text] / A.H.B. Wu. Mc. Clatchey ed. – 2nd ed. – Lippincott Williams & Wilkins. – 2002. – P. 281-305. 6. Zimmerman, H.J. Function and integrity of the liver [Text] /

H.J. Zimmerman, J.B. ed. Henry // Clinical diagnosis and treatment. – 17th ed. Philadelphia, Saunders, 1984.
7. Wong, W.C.C. The clinical chemistry laboratory and acute pancreatitis [Text] / W.C.C. Wong, A.W. Butch, J.L. Rosenblum // Clin. Chem. – 1993. – Vol. 39. – P. 234-243. 8. Enzyme tests // A manual of laboratory diagnostic tests / F.T. Fishbach ed. – 7th ed. – Lippincot Williams & Wilkins, 2004. – P. 383-414. 9. Сюрин, В.Н. Ветеринарная вирусология [Текст] / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина. – М.: Колос, 1984.
10. Войченко, И.В. Лабораторные тесты (клиническое использование) [Текст] : справочник врача / И.В. Войченко [и др.]; под общ. ред. В.М. Захарчук. – К.: ТОВ «Доктор-Медиа», 2009. – 288 с.

ACTIVITY OF CHICKEN BLOOD FERMENTS AT VACCINATION AGAINST MAREK'S DISEASE AND INFECTION BY VIRUS EPIZOOTIC STRAIN

Stegniy B.T., Kovalenko L.V., Boyko V.S., Roman'ko M.Ye.

NSC "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

There was determined activity of alkaline phosphatase, α -amylase alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase of chicken blood serum after infection by epizootic strain of Marek's disease agent and after vaccination against this disease.

УДК 619:578.835.2:631.14:636.4

ВИВЧЕННЯ ЦИРКУЛЯЦІЇ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ У СВИНОГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

Кольчик О.В.

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У статті представлені результати серологічних і молекулярно-генетичних досліджень сироваток крові та патологічного матеріалу від свиней у господарствах України. Виявлено розповсюдження вірусних захворювань (РРСС, ПВІС та ЦВС-II) серед свинопоголів'я, що призводить до виникнення та клінічного прояву репродуктивного та респіраторного синдромів у свиней.

Упродовж останніх 20 років спостерігається розповсюдження вірусних захворювань свиней у країнах світу з розвиненим свинарством. Вони спричиняють значні економічні збитки за рахунок масової загибелі поросят, зниження привісків, народження нежиттєздатного молодяку, мертвонародження, передчасних пологів, абортів і великих витрат на проведення ветеринарно-санітарних та оздоровчих заходів [1, 2, 3].

Вірусні захворювання супроводжуються ураженням окремих систем організму – шлунково-кишкового, респіраторного трактів і органів відтворення. Найбільш важливими збудниками захворювань з респіраторним синдромом свиней є вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (РРСС), цирковірус свиней 2 типу (ЦВС-2) і бактерії: мікоплазми, актинобацилюси, пастерели, гемофілюси та сальмонели, з репродуктивним синдромом - збудник РРСС, парвовірусної інфекції (ПВІС), при змішаному перебігу з хламідіозами, ешерихіозами, стрепто-, стафілококкозами, коринебактеріозами та лептоспірозами. Основними збудниками гастроентеритів є віруси трансмісивного гастроентериту, рота- і коронавіруси свиней [1, 2, 4].

За літературними даними синдром післявідомного мультисистемного виснаження (СПМВ) зумовлює асоціацію збудників цирко-, парвовірусних інфекцій, репродуктивно-респіраторного синдрому свиней, який відмічають у поросят 6-14-тижневого віку, іноді місячного та 4-6 місячного віку [5,7,8]. Захворюваність поросят складає 5-20 %, летальність – до 70-80 %. Найбільший відхід реєструють у поросят 8-13 тижневого віку. Серологічні дослідження, які були проведені в Німеччині, Канаді, Новій Зеландії, Бельгії, Іспанії, Великобританії, Північній Ірландії, Італії, Нідерландах, Швейцарії, Японії, Сполучених Штатах Америки, свідчать про широке поширення серед дорослих свиней таких вірусів, як ЦВС-2, ПВС, РРСС [6, 9, 10, 11].

На цей час профілактика основних вірусних захворювань свиней складна, малоефективна та не приносить очікувані результати. Для розробки ефективних протієпізоотичних засобів необхідним є проведення поглибленого епізоотологічного