

... БІОХІМІЯ ... BIOCHEMISTRY ...

УДК: 577.151.63

Сравнительное исследование активности трансаминаз в крови цыплят, зараженных *Eimeria tenella* и леченных байкоксом

Э.И.Ахмедов

*Институт зоологии Национальной академии наук Азербайджана (Баку, Азербайджан)
parazitolog@mail.ru*

Опыты проводились на 20-дневных цыплятах местной черной породы в лаборатории биохимических основ паразито-хозяйинных отношений Института зоологии НАНА. В результате изучения активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови цыплят, зараженных паразитом *E. tenella* в дозе 20000 спорулированных ооцист и леченных 2,5% байкоксом в дозах 1 мл/л, 2 мл/л и 3 мл/л, было установлено, что у зараженных и нелеченных, а также леченных тремя дозами препарата цыплят снижение активности обоих ферментов носит кратковременный характер. На 5 и 7 дни инвазии у цыплят, зараженных и леченных байкоксом в дозе 1 мл/л и 3 мл/л, активность АСТ и АЛТ в сыворотке крови повышается. На 10 день активность ферментов возвращается к норме. Установлено, что в группе цыплят, леченных байкоксом в дозе 3 мл/л на 3, 5 и 7 дни инвазии активность АСТ на 0,22, 0,31 и 0,28 мкмоль, а активность АЛТ на 0,06, 0,05 и 0,07 мкмоль больше соответствующих показателей зараженных и нелеченных цыплят. Эти данные подтверждают гепатотоксическое влияние байкокса в дозе 3 мл/л. У цыплят, леченных байкоксом в дозе 2 мл/л, в отличие от зараженных нелеченных, активность ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови снижается. Выявлено, что байкоккс в дозе 2 мл/л способствует сохранению в норме активности данных ферментов.

Ключевые слова: АЛТ, АСТ, цыплята, байкоккс, *Eimeria tenella*, ооциста.

Порівняльне дослідження активності трансаміназ у крові курчат, заражених *Eimeria tenella* і лікованих байкоксом

Е.І.Ахмедов

Досліди проводились на 20-денних курчатах місцевої чорної породи у лабораторії біохімічних основ паразито-хазяїнних відносин Інституту зоології Національної академії наук Азербайджану. Вивчення активності аспаратамінотрансферази (АСТ) і аланінамінотрансферази (АЛТ) у сироватці крові курчат, заражених паразитом *E. tenella* в дозі 20000 спорульованих ооцист і лікованих 2,5% байкоксом у дозах 1 мл/л, 2 мл/л і 3 мл/л, виявило, що у заражених і нелікованих, а також лікованих трьома дозами препарату курчат зниження активності обох ферментів носить короточасний характер. На 5 і 7 дні інвазії у курчат заражених і лікованих байкоксом у дозі 1 мл/л і 3 мл/л активність АСТ і АЛТ у сироватці крові підвищується. На 10 день активність ферментів повертається до норми. Встановлено, що в групі курчат, лікованих байкоксом в дозі 3мл/л на 3, 5 і 7 дні інвазії активність АСТ на 0,22, 0,31 і 0,28 мкмоль, а активність АЛТ на 0,06, 0,05 і 0,07 мкмоль більше відповідних показників заражених і нелікованих курчат. Ці дані підтверджують гепатотоксичний вплив байкоксу в дозі 3 мл/л. У курчат, лікованих байкоксом у дозі 2 мл/л, на відміну від заражених нелікованих, активність ферментів АСТ і АЛТ у сироватці крові знижується. Виявлено, що байкоккс в дозі 2 мл/л сприяє збереженню в нормі активності даних ферментів.

Ключові слова: АЛТ, АСТ, курчата, байкоккс, *Eimeria tenella*, ооциста.

The comparative research of transaminase activity in the chickens blood, infected with *Eimeria tenella* and treated with baycox

E.I.Ahmadov

The experiments have been carried out on 20 day old local black rock chickens in the laboratory of biochemical basis of host-parasite relationships of the Institute of Zoology of ANAS. The study of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in blood serum of chickens infected with a parasite *E. tenella* in a dose of 20,000 sporulated oocysts and treated with baycox 2.5% in doses of 1 ml/l, 2 ml/l and 3 ml/l has showed that decrease of activity of both enzymes in chickens infected and untreated and treated with three doses of the drug has short term nature. On the 5th and 7th days of invasion AST and ALT activities in blood serum of chickens,

infected and treated with baycox in a dose of 1 ml/l and 3 ml/l, increased. On the 10th day activity of enzymes returned to normal. It has been found that in the group of chickens, treated with baycox in a dose of 3 ml/l on 3, 5, and 7th days of invasion, AST activity is higher for 0.22, 0.31 and 0.28 mcmol, and ALT activity is higher for 0.06, 0.05 and 0.07 mcmol in comparison with infected and untreated chickens. These data confirm hepatotoxic influence of 3 ml/l baycox dose. Thus, AST and ALT activities in blood serum of chickens treated with baycox in a dose of 2 ml/l decrease in comparison with infected and untreated ones. It has been also revealed that baycox in a dose of 2 ml/l keeps activity of these enzymes in normal.

Key words: AST, ALT, chickens, baycox, *Eimeria tenella*, oocyst.

Введение

Кокцидиостатики используют при лечении наиболее распространенных кишечных протозоозов, среди которых наиболее распространенным является эймериоз. Кокцидии распространены повсеместно. Они наносят экономический ущерб птицеводству, составляющий ежегодно миллиарды долларов (Williams, 2005; Yun et al., 2000; Haug et al., 2008). Для лечения протозоозов испробован ряд химических и лекарственных веществ, как в отдельности, так и в различных комбинациях (Arczewska-Włosek, Świątkiewicz, 2012; Conway et al., 1999; Miguel et al., 2008; Naphade et al., 2010; Rao Zahid Abbas, 2009; Cozma et al., 2001; Fathi et al., 2011; Ташбулатов, 2010). Однако следует иметь в виду, что ни один из самых современных препаратов не может гарантировать 100% излечение болезни. При изучении эффективности кокцидиостатиков научный и практический интерес представляет изучение процессов метаболизма в организме как хозяина, так и паразита. Исследования в этом направлении дают возможность установить наличие или отсутствие побочного влияния препаратов на организм хозяина, помогают уточнить их наиболее эффективные профилактические и лечебные дозы.

Важное место в изучении патогенеза болезни и в разработке методов рациональной терапии при кокцидиозах, а также важным диагностическим признаком ряда заболеваний занимает определение активности трансаминаз, в частности АСТ (аспартатаминотрансферазы) и АЛТ (аланинаминотрансферазы) в крови птиц (Adamu et al., 2013).

Аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза осуществляют обратимый перенос аминокислот на кетокислоты, играют большую роль в процессах синтеза и распада аминокислот, являясь активным компонентом промежуточного азотистого обмена. Эти ферменты, в норме находящиеся внутри клеток, в случае повреждения определенной ткани или органа высвобождаются из затронутых порчей клеток и, соответственно, их активность повышается. По активности данных ферментов можно судить о состоянии всего организма, о патологических процессах, сопровождающихся повреждением тканей.

Целью данной работы было изучение активности трансаминаз в крови цыплят при экспериментальных эймериозах (*Eimeria tenella*), а также выяснение наиболее эффективных доз байкокса при лечении птиц.

Материалы и методы исследования

Нами проведены эксперименты на цыплятах местной черной породы, выращенных в виварии с суточного до 20-дневного возраста в условиях, исключающих спонтанное заражение кокцидиями. Подопытных цыплят кормили стандартным птичьим комбикормом для бройлеров.

Цыплят 20-дневного возраста разбивали на 3 группы: контрольные (незараженные), зараженные нелеченные и зараженные леченные. В свою очередь, зараженные леченные цыплята были разделены на 3 подгруппы, которых лечили через сутки после заражения раствором 2,5%-го байкокса (фирма «Bayeg AG», Германия) соответственно в дозе 1 мл/л (профилактическая), 2 мл/л (лечебная) и 3 мл/л (токсическая) с питьевой водой в течение двух дней (в каждой группе и подгруппе было 20 голов цыплят).

Цыплят заражали путем введения в зоб спорулированных ооцист *E. tenella* в дозе 20 тыс. ооцист на 1 птицу. Материалом для заражения были ооцисты *Eimeria tenella* (Apicomplexa, Coccidia, Eimeriinae, Eimeria), имеющиеся в лаборатории биохимических основ паразито-хозяйственных отношений Института зоологии.

Для определения активности трансаминаз образцы крови брали без антикоагулянта из плечевой вены с использованием стерильного шприца. Сыворотку отделяли после центрифугирования при 3000 об/мин. в течение 15 мин.

Активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови определяли по В.Г.Колб, В.С.Камышникову (1976) соответственно эндогенным стадиям развития паразита в кишечнике, то есть на 3, 5, 7 и 10 дни инвазии. Результаты выражали в мкмоль.

Для статистической обработки результатов использовали статистическую программу IBM SPSS Statistics 20. Цифровые данные выражали в $M \pm Sd$. Различия считали достоверными при $P \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

У птиц, зараженных *E. tenella*, первые клинические признаки заболевания проявились с развитием меронтов второй генерации в кишечнике хозяина. В зависимости от применяемой дозы препарата у леченных цыплят, в отличие от зараженных, клиническая картина имела разные проявления. У птиц, леченных байкоксом в дозе 1 мл/л, инвазия протекала в сравнительно легкой степени, и процент выживших цыплят был больше, чем у зараженных нелеченных, но, в общем, клиническая картина у цыплят обеих подгрупп была почти одинаковой. У птиц, леченных дозами препарата 2 мл/л и 3 мл/л, эймериоз протекал сравнительно слабее, при этом доза 3 мл/л вызвала состояние беспокойства и стресса, которые не отмечались в группе зараженных и леченных байкоксом в дозе 1 мл/л и 2 мл/л.

В период инвазии и во время лечения цыплят изучение активности трансаминаз в крови выявило заметные изменения в активности АСТ и АЛТ (табл. 1).

В отличие от группы цыплят, леченных байкоксом в дозе 1 мл/л, в группе цыплят, леченных в дозах 2 мл/л и 3 мл/л, изменение активности АСТ в крови начинается на 3 день инвазии ($P < 0,01$). Это изменение характеризуется повышением активности АСТ по сравнению с цыплятами нелеченной группы.

Максимальные показатели активности аспартатаминотрансферазы у леченных групп были в группе леченных дозой 3 мл/л на 5–7 дни инвазии. По сравнению с группой зараженных нелеченных, разница в активности АСТ в группе зараженных и леченных дозой 3 мл/л на 5 день находится в пределах 0,31 мкмоль ($P < 0,01$), а на 7 день составляет 0,28 мкмоль ($P < 0,01$). На 10 день инвазии активность фермента была на 0,21 мкмоль ниже контроля ($P > 0,05$).

Применение препарата в дозе 2 мл/л на 3 день инвазии привело к повышению, а на 5 и 7 дни к понижению активности аспартатаминотрансферазы, по сравнению с показателями зараженных нелеченных птиц. Эти различия были статистически достоверны. На 10 день активность фермента превышала показатели нелеченных контрольных групп на 0,23 мкмоль ($P > 0,05$).

Байкоккс в дозе 3 мл/л привел к более значительному повышению активности аспартатаминотрансферазы в крови птиц, чем дозы 1 мл/л и 2 мл/л этого препарата.

Из приведенных данных видно, что активность аспартатаминотрансферазы в крови у зараженных цыплят, а также у цыплят, леченных байкоксом в дозах 1 мл/л и 3 мл/л, повышается на 5–7 дни инвазии, а на 10 день возвращается к норме (за исключением группы зараженных нелеченных цыплят). Активность АСТ достигает своего максимума на 7 день инвазии при лечении байкоксом в дозе 3 мл/л. В отличие от доз 1 мл/л и 3 мл/л, байкоккс в дозе 2 мл/л вызывает уменьшение активности фермента при экспериментальных заражениях. Из приведенных данных явствует, что применение байкоккса в дозе 2 мл/л способствует сохранению нормального уровня аспартатаминотрансферазы.

Аланинаминотрансфераза, как и аспартатаминотрансфераза, является одним из ключевых ферментов, участвующих в реакциях переаминирования.

Как следует из таблицы, активность АЛТ в крови цыплят на 3 день инвазии, в период развития шизонтов первой генерации, претерпевает статистически достоверные изменения ($P < 0,05$). Следующая стадия паразита – развитие второй генерации шизонтов – вызывает повышение активности АЛТ. В этот период активность превышает соответствующие показатели активности контрольных цыплят ($P < 0,001$) на 66,7%. Повышенный уровень активности АЛТ в крови сохраняется до 7 дня инвазии и к 10 дню снижается до нормы.

При лечении зараженных цыплят в дозе 1 мл/л активность аланинаминотрансферазы не претерпевает достоверных изменений по сравнению с аналогичными показателями зараженных нелеченных птиц в течение всего инвазионного процесса.

По сравнению с цыплятами зараженных нелеченных групп, у цыплят, леченных байкоксом в дозе 2 мл/л, активность АЛТ снижалась соответственно эндогенным стадиям развития паразита в

кишечнике в пределах 0,01–0,02 мкмоль. Эти отклонения на 5 и 7 дни инвазии были достоверны ($P < 0,05$).

Таблица 1.
Активность трансаминаз в крови цыплят, зараженных в дозе 20000 ооцист *E. tenella* и леченных байкоксом ($M \pm Sd$, мкмоль)

Дни инвазии	Контроль	Зараженные нелеченные	Зараженные, леченные в дозе		
			1 мл/л	2 мл/л	3 мл/л
Аспартатаминотрансфераза					
3	2,32±0,01	2,10±0,02 $P < 0,001$	2,11±0,03 $P > 0,05$	2,30±0,02 $P < 0,05$	2,32±0,02 $P < 0,05$
5	2,33±0,01	3,01±0,01 $P < 0,001$	3,03±0,04 $P < 0,001$	2,30±0,01 $P < 0,01$	3,32±0,01 $P < 0,01$
7	2,50±0,02	3,17±0,01 $P < 0,001$	3,21±0,02 $P < 0,001$	2,95±0,01 $P < 0,05$	3,45±0,01 $P < 0,05$
10	2,70±0,01	2,44±0,01 $P < 0,01$	2,45±0,07 $P > 0,05$	2,67±0,02 $P > 0,05$	2,49±0,02 $P > 0,05$
Аланинаминотрансфераза					
3	0,05±0,01	0,04±0,02 $P < 0,05$	0,04±0,03 $P > 0,05$	0,03±0,01 $P > 0,05$	0,10±0,01 $P < 0,01$
5	0,06±0,01	0,10±0,02 $P < 0,001$	0,10±0,03 $P < 0,05$	0,08±0,01 $P < 0,05$	0,15±0,01 $P < 0,01$
7	0,06±0,01	0,09±0,02 $P < 0,001$	0,09±0,02 $P < 0,05$	0,08±0,01 $P < 0,05$	0,16±0,01 $P < 0,01$
10	0,07±0,01	0,08±0,01 $P > 0,05$	0,08±0,04 $P > 0,05$	0,06±0,01 $P > 0,05$	0,06±0,01 $P > 0,05$

В группе цыплят, леченных байкоксом в дозе 3 мл/л, на 3, 5 и 7 дни инвазии активность АЛТ в 2,5, 1,5 и 1,8 раз больше соответствующих показателей цыплят, зараженных и нелеченных. Эти данные подтверждают гепатотоксическое влияние байкокса, применяемого в лечебных целях в дозе 3 мл/л. В отличие от доз 1 мл/л и 3 мл/л препарата, доза 2 мл/л препятствует повышению активности АЛТ и АСТ. Активность этих ферментов в данный период приближается к уровню показателей контрольной группы.

Суммируя полученные данные, можно констатировать, что лечение эймериоза байкоксом сопровождается увеличением активности ферментов АСТ и АЛТ. Динамика активности АСТ и АЛТ в сыворотке крови при лечении эймериоза цыплят байкоксом зависит от применяемых доз препарата.

Анализ данных свидетельствует об эффективности байкокса в дозе 2 мл/л и позволяет рекомендовать его при лечении эймериоза цыплят.

Список литературы

- Колб В.Г., Камышников В.С. Колориметрический динитро-фенилгидразиновый метод определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови // Клиническая биохимия. – Минск, Беларусь, 1976. – С. 78–83. /Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. Kolorimetricheskij dinitro-fenilgidrazinovyj metod opredeleniya aktivnosti aminotransferaz v syvorotke krovi // Klinicheskaya biokhimiya. – Minsk, Belarus', 1976. – S. 78–83./
- Ташбулатов А.А. Кенокс клинер – эффективный препарат для борьбы с кокцидиями // Ветеринария. – 2010. – №5. – С. 23–25. /Tashbulatov A.A. Kenokoks kliner – effektivnyy preparat dlya bor'by s koktsidiyami // Veterinariya. – 2010. – №5. – S. 23–25./
- Adamu M., Boonkaewwan C., Gongruttananun N., Vongpakorn M. Hematological, biochemical and histopathological changes caused by coccidiosis in chickens // Kasetsart J. (Nat. Sci.). – 2013. – Vol.47. – P. 238–246.

-
- Arczewska-Włosek A., Świątkiewicz S. The effect of a dietary herbal extract blend on the performance of broilers challenged with *Eimeria* oocysts // *Journal of Animal and Feed Sciences*. – 2012. – Vol.1, №2. – P. 133–142.
- Conway D.P., Dayton A.D., McKenzie M.E. Comparative testing of anticoccidials in broiler chickens: the role of coccidial lesion scores // *J. Poultry Science*. – 1999. – №78. – P. 529–535.
- Cozma V., Suciuc V., Negrea O. et al. Experimental research on therapeutic value as coccidiostatics of toltrazuril and diclazuril in chicken eimeriosis // *Scientia Parasitologica*. – 2001. – Vol.1. – P. 75–81.
- Fathi M., Sadraei J., Ghaffarifar F. Effects of two anticoccidial drugs, Monensin, Toltrazuril and the mixture of them on *Cryptosporidium parvum* in vitro // *J. Microbiol.* – 2011. – Vol.4 (2). – P. 71–74.
- Haug A., Gjevre A.G., Skjerve M., Kaldhusdal M. A survey of the economic impact of subclinical *Eimeria* infections in broiler chickens in Norway // *Avian Pathol.* – 2008. – Vol.37. – P. 333–341.
- Miguel J.A., Asenjo B., Ciria J. et al. Comparison of control methods for coccidiosis in native Spanish 'Castellana Negra' chickens // *Spanish Journal of Agricultural Research*. – 2008. – №6 (4). – P. 531–536.
- Naphade S.T., Hiware C.J., Desarda S.M. Studies on the pathological changes during experimental caecal coccidiosis of broiler chicks treated with allopathic amprolium and homeopathic medicine *mercurius corrosivus* // *Trends Research in Science and Technology*. – 2010. – Vol.1, №2. – P. 49–55.
- Rao Zahid Abbas, Zafar Iqbal, Muhammad Nisar Khan et al. Prophylactic efficacy of diclazuril in broilers experimentally infected with three field isolates of *Eimeria tenella* // *Int. J. Agric. Biol.* – 2009. – Vol.11, №5. – P. 606–610.
- Williams R.B. Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: Rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity // *J. Avian Pathol.* – 2005. – Vol.34. – P. 159–180.
- Yun C.H., Lillehoj H.S., Lillehoj E.P. Intestinal immune responses to coccidiosis // *Dev. Comp. Immunol.* – 2000. – Vol.24. – P. 303–324.

Представлено: Б.А.Ахмедов / Presented by: B.A.Ahmedov

Рецензент: С.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 24.04.2013