

уменьшение отечности ткани и снижение болезненности, но животные неуверенно опирались на больную конечность. Местные изменения характеризовались наличием грануляционной ткани. К 11±1,16 суткам размеры раневого дефекта значительно уменьшились, вся рана заполнилась грануляционной тканью, а по краям раны наблюдали рост эпидермального ободка. Отечность и гиперемия ткани в области раны отсутствовали. Животные уверенно опирались на пораженную конечность и при движении наблюдалась еле заметная хромота. Защитная повязка далее не накладывалась. На 16±1,47 сутки в группе коров с применением МСК ЖТ при визуальном осмотре вся поверхность раны была заполнена здоровой грануляционной тканью розового цвета. Наблюдался активный рост эпидермального ободка, на месте язвы образовалась рубцовая ткань. При ходьбе животные уверенно наступали на пораженную конечность, хромота отсутствовала. Полное клиническое выздоровление наступило в среднем на 18±1,18 сутки с начала применения препарата из стволовых клеток.

У коров контрольной группы, после снятия антисептической повязки через 6±1,74 суток с начала лечения, общее состояние было удовлетворительным, однако при движении отмечалась хромота и животные с осторожностью опирались на больную конечность, сохранялась болезненность и отечность. Поверхность раны немного подсохла, участок раны был покрыт коричневой корочкой. Дальнейшее лечение пораженного участка проводили аламицином в виде аэрозоля. К 11±1,91 суткам большая часть раны покрылась струпом. Местные изменения характеризовались уменьшением отечности тканей, снижением болезненности, отмечалось образование нормальной грануляционной ткани. На 17±1,43 сутки раневая поверхность была заполнена мелкозернистой грануляционной тканью, эпителизация раневого дефекта практически завершилась. Выздоровление животных контрольной группы наступило на 23±1,56 сутки с начала опыта.

Заключение. В результате исследования нами установлено, что подкожная клетчатка из области основания хвоста крупного рогатого скота, полученная от животных после убоя, является хорошим источником биомассы мезенхимальных стволовых клеток. В результате проведенных клинических испытаний было установлено, что применение клеточного трансплантата мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани крупного рогатого скота, позволяет сократить время заживления гнойно-некротических поражений копытцев (язв Рустергольца) у коров на 5±0,38 суток по сравнению с аналогичной схемой лечения без использования МСК ЖТ.

Результаты проведенного исследования показали возможность успешного использования комплексной схемы терапии с использованием МСК ЖТ и целесообразность ее дальнейшего развития. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани могут быть успешно использованы в качестве альтернативы для усиления регенерации тканей при заживлении гнойно-некротических поражений копытцев крупного рогатого скота.

Литература. 1. Использование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани для лечения крупного рогатого скота с гнойно-некротическими болезнями / Н. И. Костюк [и др.] // Экология и животный мир. – 2020. – № 1. – С. 70–78. 2. Руколь, В. М. Профилактика и лечение коров при болезнях конечностей / В. М. Руколь, А. А. Стекольников // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 50–53. 3. Руколь, В. М. Мероприятия при хирургической патологии крупного рогатого скота на молочных комплексах Гомельской области : рекомендации / В. М. Руколь, В. А. Журба, Э. И. Веремей ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с. 4. Руколь, В. М. Профилактика и лечение коров при болезнях конечностей / В. М. Руколь, А. А. Стекольников // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 50–53. 5. Руколь, В. М. Технологические основы ветеринарного обслуживания молочного крупного рогатого скота с хирургическими болезнями в Республике Беларусь : дис. ... докт. вет. наук : 06.02.04 : защищена 22.02.13 / Руколь Василий Михайлович. – Санкт-Петербург, 2013. – 461 с. 6. Comparative analysis of in vitro proliferative, migratory and pro-angiogenic potentials of bovine fetal mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue / M. Jervis [et al.] // Vet. Res. Commun. – 2019. – V. 43. – P. 165–178. 7. Caplan, A. I. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! / A. I. Caplan // Stem Cells Transl Med. – 2017. – V. 6. – P. 1445–1451. 7. Kofler, J. Pathogenesis and Treatment of Toe Lesions in Cattle Including “Nonhealing” Toe Lesions / J. Kofler // Vet. Vet. Clin. Food Anim. – 2017. – V. 33. – С. 301–328.

Поступила в редакцию 01.02.2021

УДК 636.5:611.08:615.371

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-1-56-61

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЦЫПЛЯТ

*Селиханова М.К., *Громов И.Н., **Скротская К.В.

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

**Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», г. Минск, Республика Беларусь

*С использованием сканирующей электронной микроскопии проведена морфологическая оценка патогенных свойств вируса инфекционной анемии цыплят. Показано, что данный вирус вызывает в организме птиц ряд структурных нарушений. **Ключевые слова:** сканирующая электронная микроскопия, инфекционная анемия цыплят, вирус, патогенные свойства.*

USE OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPY FOR ASSESSMENT OF PATHOGENIC CHARACTERISTICS OF CHICKEN INFECTIOUS ANEMIA VIRUS

***Selikhanova M.K., *Gromov I.N., **Skrotskaya K.V.**

**Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus*

***Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

*With the use of a scanning electron microscopy, the morphological evaluation of pathogenic properties of the chicken infectious anemia virus was carried out. It is demonstrated that this virus induces a number of structural disturbances in chicken body. **Keywords:** scanning electron microscopy, infectious chicken anemia, virus, pathogenic properties.*

Введение. Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ) – высококонтагиозная вирусная болезнь птиц раннего возраста, характеризующаяся поражением кроветворной и иммунной систем, апластической анемией, иммунодефицитом, серозными отеками подкожной клетчатки и некрозами кожи. Спонтанное и экспериментальное заражение цыплят циркулирующим вирусом определяет в целом сходный характер патоморфологических изменений в органах и тканях птиц. Наиболее патогномичными (наиболее характерными) признаками являются морфологические изменения в центральных органах кроветворения и иммуногенеза [1, 5]. В настоящее время инфекционная анемия регистрируется во многих странах с развитым птицеводством, в том числе в Республике Беларусь, Российской Федерации и Украине [6]. В комплексе диагностических мероприятий особая роль отводится морфологическим методам исследования, результаты которых позволяют в предельно короткие сроки поставить предположительный диагноз на ИАЦ [5]. Однако в данном методе нет возможности изучить трехмерную организацию.

Преимуществом перед другими методами исследования структуры органов и тканей обладает сканирующая (растровая) электронная микроскопия. Благодаря очень высокой глубине резкости указанный метод исследований дает возможность получить объемную трехмерную картину, что позволяет наглядно и конкретно представить себе не только топографическую организацию органа или ткани, но и межклеточные и межтканевые взаимодействия в изучаемом образовании. Данный метод все более широко применяется в медицинской и ветеринарной морфологии, так как для сканирующей электронной микроскопии не требуется специальной подготовки образцов [3, 8].

Целью нашей работы явилось исследование патогенных свойств вируса инфекционной анемии цыплят с использованием сканирующей электронной микроскопии.

Материалы и методы исследований. Для проведения опыта было подобрано 2 группы СПФ-цыплят, опытная и контрольная, по 4 головы в каждой, разделенных по принципу аналогов. На первые сутки эксперимента цыплят опытной группы заражали вирулентным штаммом «Краснодарский» (АБИМ) вируса инфекционной анемии (депонирован в Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского под № 2722) внутримышечно в область голени в дозе 0,2 мл. Материалом для исследований служили кусочки органов от трупов цыплят. На 4-е сутки опыта цыплят убивали для проведения исследований. Эвтаназию птицы мы осуществляли согласно требованиям, изложенным в Европейской конвенции по защите домашних животных. Для изучения структурных изменений отбирали красный костный мозг, кусочки тимуса, фабрициевой бурсы, селезенки. Кусочки органов отмывали фосфатным буфером с pH=7,3 при t=37⁰C, а затем фиксировали 10%-ным нейтральным формалином [4, 7]. Обезвоживание материала проводили в спиртах возрастающей концентрации, а высушивание – на воздухе. Высушенные кусочки органов хранили в эксикаторе с силикагелем. Напыление золотом проводили в вакуумной камере. Изучение объектов проводили в сканирующем (растровом) электронном микроскопе «LEO 1420» (Германия) с ускоряющим напряжением 20 кВ и максимальной разрешающей способностью 10 нм. Для визуализации изображения, микроморфометрии и микрофотосъемки использовали программно-аппаратный комплекс «SEM SYSTEM LEO 32» (Германия).

Морфологическую идентификацию клеток проводили с учетом «Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов» [2].

Результаты исследований. Результаты сканирующей электронной микроскопии показали, что у 4-дневных цыплят контрольной группы красный костный мозг был представлен кроветворными островками с клетками разной степени зрелости (рисунки 1, 2).

Также визуализировались участки губчатого вещества кости и надкостницы (рисунок 3). Ячейки губчатого вещества кости располагались под разными углами друг к другу, содержали красный костный мозг. Здесь выявлялась ретикулярная ткань, с множеством синусоидных капилляров (рисунок 4). Они были выстланы эндотелием, имели широкий диаметр просвета и многочисленные поры в

стенке, в которых присутствовали макрофаги, а также лимфоциты. К базальной мембране эндотелия со стороны, противоположной просвету синуса, прилежат ретикулярные клетки, выполняющие роль адвентиция. Созревающие эритробласты либо находятся в тесном контакте с центральным макрофагом, либо соединены с ним отростками.

Гранулоцитопозитические клетки в костном мозге образуют скопления, которые не содержат центральных макрофагов.

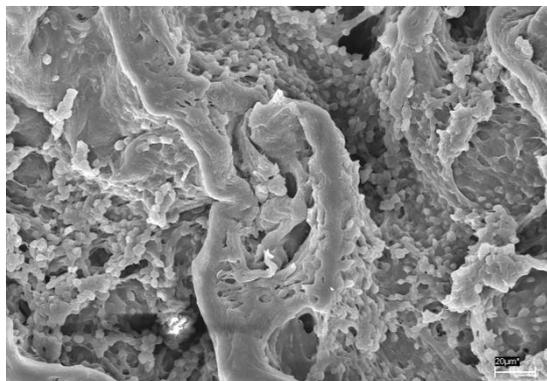


Рисунок 1 – Структура красного костного мозга интактного 4-дневного цыпленка. Синусоидные капилляры с лимфоцитами и эритроцитами. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 1000

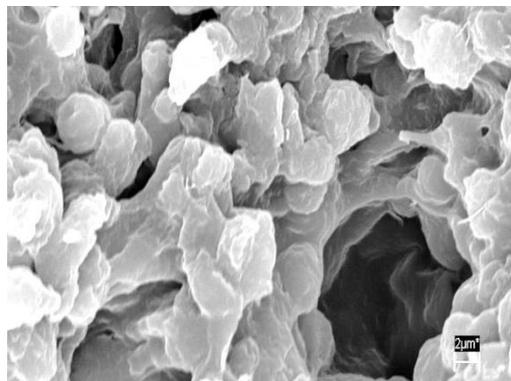


Рисунок 2 – Лимфоциты и макрофаги в красном костном мозге 4-дневного цыпленка контрольной группы. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 5000

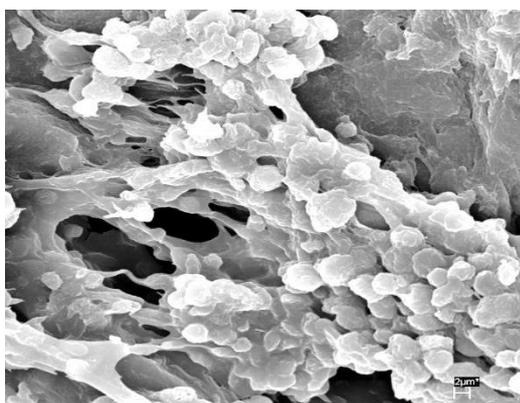


Рисунок 3 – Ячейки губчатого вещества кости с клетками красного костного мозга 4-дневного цыпленка контрольной группы. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 3000

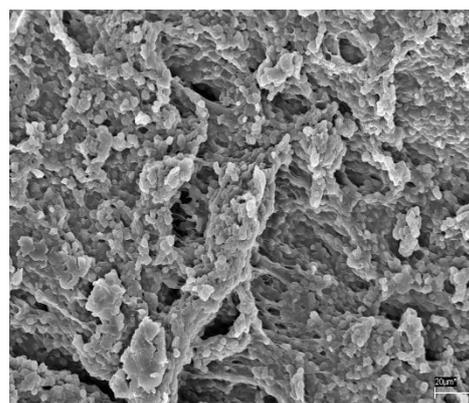


Рисунок 4 – Ретикулярная ткань костного мозга 4-дневного цыпленка контрольной группы с синусоидными капиллярами. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 1000

При исследовании костного мозга птиц опытной группы наблюдалось опустошение миелоидной (кроветворной) ткани за счет резкого уменьшения количества кроветворных клеток (рисунок 5). Хорошо просматривались только отростчатые ретикулярные клетки и единичные кроветворные, многие в состоянии апоптоза (рисунок 6). Фрагменты погибших клеток просматривались в виде зернистой массы (рисунок 7).

При исследовании тимуса интактных цыплят установлено, что орган состоит из коркового и мозгового вещества. Мозговое вещество выглядело более светлым в связи с относительно меньшим количеством лимфоцитов. В мозговом веществе дольки тимоциты имели более округлую форму. Здесь также хорошо были видны ретикулоэпителиальные клетки. Выросты одного эпителиоретикулоцита прикреплялись к отросткам соседнего. Тем самым эти клетки образовывали своеобразную трехмерную сеть (футляра), в ячейке которой и находились лимфоциты и лимфобласты. Пластинка их собственной базальной мембраны была видна внутри футляра. Как в корковом, так и мозговом (в меньшей степени) веществе обнаруживались макрофаги большого размера, с характерным микро-рельефом поверхности, которые обычно были окружены множеством лимфоцитов. Капилляры окружены довольно толстой непрерывной базальной мембраной и перицитами. Корковое вещество долек было более компактным, чем мозговое. Тимусные лимфоциты (timoциты) здесь тесно прилегали друг к другу, имели полигональную форму с четкими гранями и углами, поверхность их была гладкая (рисунок 8). Кроме лимфоидных элементов, в корковом веществе мало заметны эпителиоретикулярные клетки. Они представляли собой многоотростчатые, часто ветвящиеся клеточные элементы. Генерации лимфоцитов на различных стадиях развития были представлены более крупными молодыми экземплярами и мелкими зрелыми клетками с гладкой плазмолеммой.

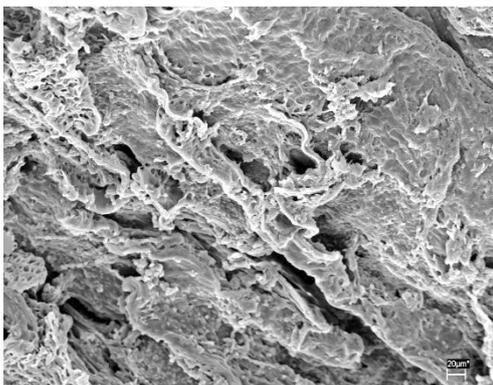


Рисунок 5 – Миелоидная ткань 4-дневного цыпленка опытной группы с уменьшением количества кроветворных клеток. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 500

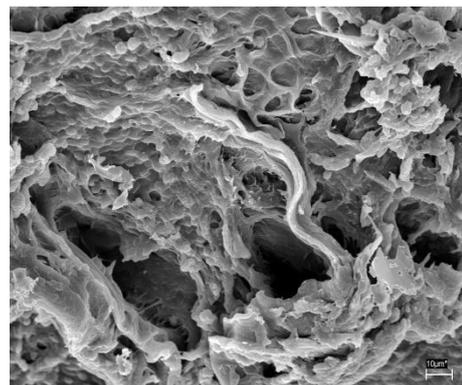


Рисунок 6 – Клетки ретикулярной ткани 4-дневного цыпленка опытной группы. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 1500

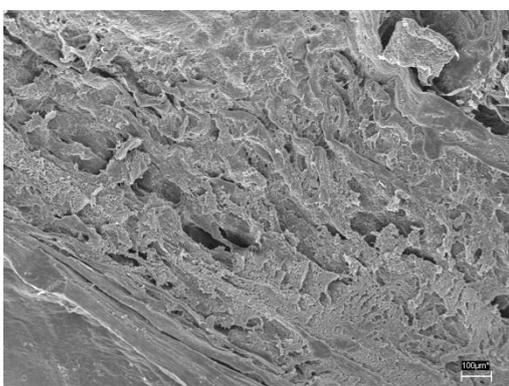


Рисунок 7 – Фрагменты погибших клеток в виде зернистой массы. Сканограмма. LEO 1420. Ув.: x 500

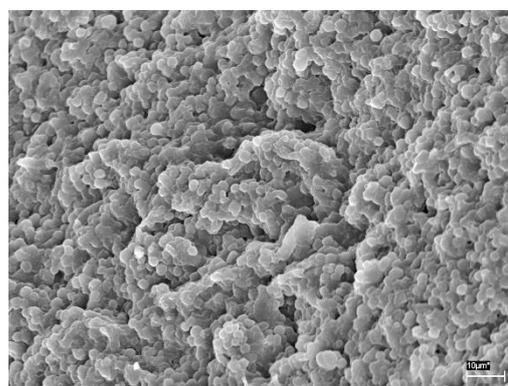


Рисунок 8 – Тимоциты цыплят 4-дневного возраста контрольной группы. Сканограмма. LEO 1420.: x 2000

В тимусе цыплят опытной группы наблюдалось значительное уменьшение числа лимфоцитов. Часть клеток имели признаки ранних этапов апоптоза (сжатие клетки, ее уменьшение в размерах, более компактное расположение (рисунок 9)). На фоне выраженной делимфатизации хорошо просматривались отростки эпителиоцитов.

В слизистой оболочке клоакальной бursы 4-дневных цыплят контрольной группы обнаруживались многочисленные лимфатические узелки, состоящие из периферической корковой зоны с преобладанием зрелых форм лимфоцитов и центральной мозговой зоны, представленной лимфоцитами и лимфобластами (рисунки 10, 11). Зоны разграничены между собой сетью капилляров и базальной мембраной, вдоль которой располагается тонкий слой эпителиальных клеток, между которыми располагаются крупные и средние лимфоциты. Между лимфоидными узелками располагались прослойки межузелковой соединительной ткани с кровеносными сосудами.

В клоакальной бурсе цыплят подопытной группы наблюдалась делимфатизация (рисунок 12). Также выделялись отростчатые эпителиальные клетки, имеющие микроворсинки в плазмолемме.

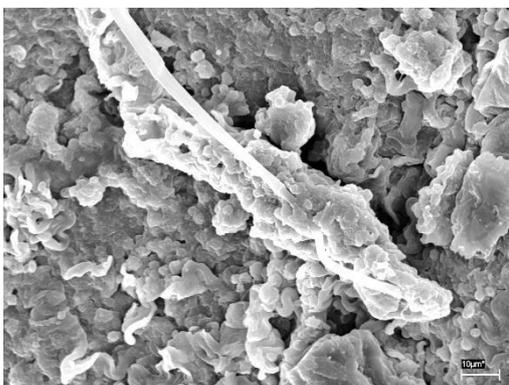


Рисунок 9 – Сокращение и пикноз клеток тимуса цыплят 4 – дневного возраста опытной группы. Сканограмма. LEO 1420.: x 2000

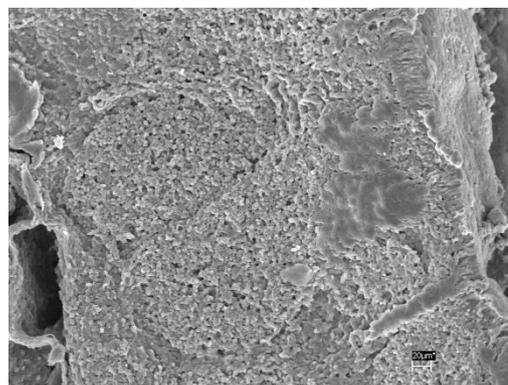


Рисунок 10 – Корковая и мозговая зоны клоакальной бursы цыплят 4 – дневного возраста контрольной группы. Сканограмма. LEO 1420.: x 1000

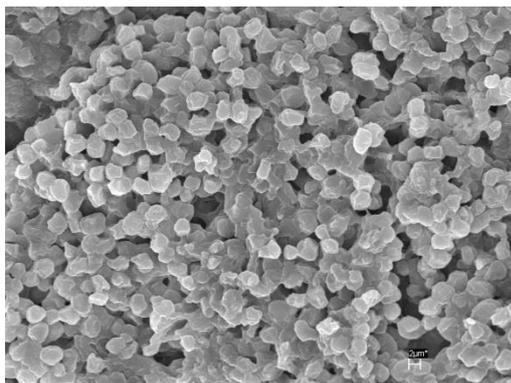


Рисунок 11 – Зрелые формы лимфоцитов в корковой зоне лимфатических узлов. Сканограмма. LEO 1420.: x 3000

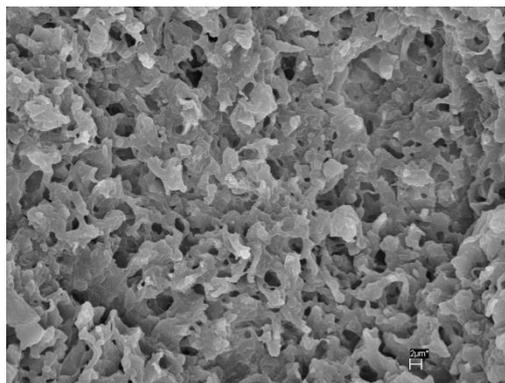


Рисунок 12 – Опустошение лимфатических узлов корковой зоны. Сканограмма. LEO 1420.: x 2000

При электронной микроскопии селезенки интактных цыплят лимфоидные узелки (белая пульпа) представляли собой структуры, состоящие из комплекса клеток лимфоидной ткани, залегающих в периферически расположенной центральной артерии (рисунок 13). Хорошо была заметна периартериальная зона – своеобразная муфта, состоящая из малых лимфоцитов. Красная пульпа селезенки была представлена ретикулярной тканью с находящимися в ней синусоидными капиллярами. В просвете и стенке синусоидных капилляров выявлялись эритроциты. Одной более широкой стороной они были обращены в полость синуса. Суженная часть эритроцитов оставалась в стенке. Ретикулярные клетки имели звездчатую форму. Выявлялись глубокие впячивания плазмолеммы. Их удлинённые отростки образовывали шнуры, поддерживающие стенку синусоидных капилляров. В сети ретикулярных клеток также видны макрофаги, плазматические клетки и лимфоциты. Эти клеточные формы формировали пульпарные тяжи. Венозные синусы представляли собой специализированные сосуды диаметром 10-40 мкм, выстланные палочковидными эндотелиоцитами. Эндотелиальные клетки располагались вдоль оси и сосуда параллельно друг другу и соединялись только своими боковыми отростками. Снаружи синусы покрыты прерывистой базальной мембраной. В участках межэндотелиальных контактов имелась сплошная базальная мембрана. Кроме того, стенки синусов оплетены кольцевидными отростками ретикулярных клеток, расположенных в селезеночных тяжах. Пространство вокруг венозных синусов заполнено клеточными элементами и сетью ретикулярных фибробластоподобных клеток. Их удлинённые отростки образуют шнуры, поддерживающие сосудистую стенку. В сети ретикулярных клеток видны макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты и плазматические клетки. Эти клеточные формы в совокупности и образуют селезеночные тяжи. Макрофаги идентифицируются по их характерной шероховатой с множеством микроотростков поверхности; они прикреплены как к ретикулярным клеткам, так и палочковидным эндотелиоцитам. Форма их округлая.

У цыплят подопытной группы была выражена делимфатизация белой пульпы и пульпарных тяжей (рисунок 14). Сами лимфоциты находились в состоянии деструкции.

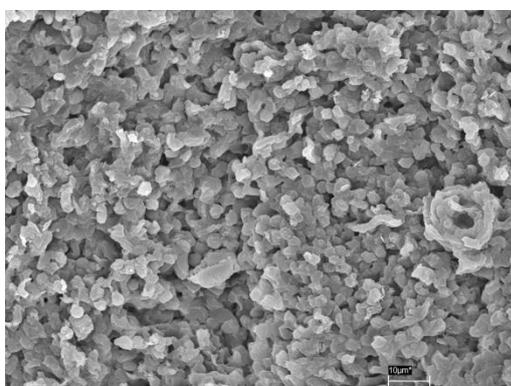


Рисунок 13 – Лимфоидная ткань селезенки цыпленка 4-дневного возраста контрольной группы. Сканограмма. LEO 1420.: x 2000

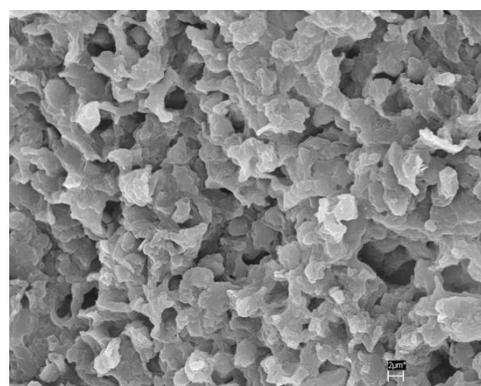


Рисунок 14 – Пустоты и отсутствие лимфоцитов в белой пульпе селезенки у цыпленка 4-дневного возраста опытной группы. Сканограмма. LEO 1420.: x 4000

Заключение. Полученные результаты электронно-микроскопических исследований свидетельствуют о том, что заражение цыплят вирулентным штаммом «Краснодарский» (АБИМ) вируса

инфекционной анемии индуцирует развитие в организме птиц структурных изменений, среди которых можно выделить как иммуноморфологические, так и патоморфологические процессы. В костном мозге отмечается атрофия миелоидной ткани, некроз отдельных кроветворных клеток, формирование их фрагментами зернистой массы (детрит). В тимусе подопытных цыплят под влиянием вируса ИАЦ развивается акцидентальная инволюция, морфологическими признаками которой являются атрофия и делимфатизация коркового вещества долек. В клоакальной бурсе наблюдается снижение плотности расположения лимфоцитов, появление экземпларов с наличием апоптозных телец. В селезенке была выражена делимфатизация белой пульпы.

Литература. 1. Алиев, А. С. Цирковирусная инфекция птиц / А. С. Алиев // *Ветеринария*. – 2011. – № 9. – С. 27–32. 2. Волкова, О. В. Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов / О. В. Волкова, В. А. Шахламова, А. А. Миронова. – М.: Медицина, 1987. – 464 с. 3. Использование сканирующей электронной микроскопии для оценки структурных изменений в организме цыплят, вакцинированных ИББ на фоне полимикотоксикоза и применения митофена / Ф. С. Алараджи [и др.] // *Био*. – 2016. – № 7/8 (190/191). – С. 10–14. 4. Микроскопическая техника: руководство / Д. С. Саркисов [и др.]; под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – С. 240–251. 5. Морфологические изменения в костном мозге и крови цыплят при инфекционной анемии / И. Н. Громов [и др.] // *Ветеринарная патология*. – 2012. – № 1 (39). – С. 72–78. 6. Патогенность изолятов вируса инфекционной анемии цыплят / А. С. Алиев [и др.] // *Ветеринария*. – 2015. – № 5. – С. 20–24. 7. Уикли, Б. С. Электронная микроскопия для начинающих / Б. С. Уикли / пер. с англ. И. В. Викторова. – М.: Мир, 1975. – С. 223–234. 8. Сканирующая электронная микроскопия как способ оценки иммуногенности и реактогенности противовирусных вакцин / И. Н. Громов [и др.] // *Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»*. – Витебск, 2010. – Т. 46, вып. 1, ч. 1. – С. 10–14.

Поступила в редакцию 29.01.2021

УДК 619:615.356

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-1-61-64

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «ВИТОЛ-140» В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ СОБАК И КОШЕК ПРИ ДЕРМАТИТАХ

Спиридонова Н.В., Петров В.В.

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

*Применение ветеринарного препарата «Витол-140» в комплексной терапии собак и кошек при дерматитах способствует нормализации гематологических показателей, ускоряет сроки выздоровления животных и повышает эффективность лечения. **Ключевые слова:** ветеринарный препарат «Витол-140», дерматиты, собаки, кошки, комплексная терапия, выздоровление.*

EFFICACY OF A VETERINARY PREPARATION “VITOL-140” IN COMPLEX TREATMENT OF DOGS AND CATS WITH DERMATITES

Spiridonova N.V., Petrov V.V.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The use of a veterinary preparation “Vitol-140” in complex therapy of dogs and cats suffering from dermatitis promotes normalization of hematological parameters, improves the time of recovery and increases the efficacy of therapy. **Keywords:** veterinary preparation “Vitol-140”, dermatitis, dogs, cats, complex therapy, recovery.*

Введение. В последнее десятилетие в нашей стране отмечается существенное увеличение популяции мелких домашних животных (собак и кошек), особенно это характерно для крупных городов. Большая концентрация животных на ограниченной площади способствует распространению у них различных заболеваний, из которых заболевания кожи занимают одно из ведущих мест [5, 7]. Кожа играет главную роль во взаимодействии животного с окружающей средой. Она выполняет высокоспециализированные и разнообразные функции, способствующие выживанию животных. Кожный покров обеспечивает механическую защиту организма от внешних воздействий, препятствуя проникновению физических и химических агентов, микроорганизмов и радиации, имея защитную или отпугивающую окраску, осуществляя посредством множества нервных окончаний чувственное восприятие, а через выделение феромонов способствует успешному размножению данного вида. По отношению к организму животного кожа играет ключевую роль в гомеостазе, предотвращая потери жидкости, электролитов, макромолекул, регулируя температуру тела. Следует отметить ее значительную роль в синтезе витамина D. Кожа – хранилище витаминов, минеральных веществ и жира, она играет определенную роль в выделении продуктов обмена [9].