

Литература. 1. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / Б.У. Кэлнек [и др.]; под ред. Б.У. Кэлнека, Х. Джона Барнса, Чарльза У. Биерда и др.; пер. с англ. И. Григорьева, С. Дорош, Н. Хрущева, И. Суровцев. – М.: АКВАРИУМ БУК, 2003. – С. 829–849. 2. Вирусная анемия – скрытая угроза промышленному птицеводству / А.С. Алиев [и др.] // Перспективное птицеводство. – 2012. – № 1. – С. 20-25. 3. Инфекционная анемия цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2011. – №1. – С. 49-53. 4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли; под ред. В.В. Португалова; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – С. 577-592. 5. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград: Медицина, 1969. – 432 с. 6. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.]; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с. 7. Серологический мониторинг инфекционной анемии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса / В.А. Лобанов [и др.] // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2003. – №2. – С. 66-69.

Статья передана в печать 26.02.2014 г.

УДК 619:616.72-002-022.6:636.5.053:611.018

ЦИТО- И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА

Лазовская Н.О., Прудников В.С.

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

В статье приведены данные по влиянию вакцинации цыплят против реовирусного теносиновита отечественной сухой живой вакциной из штамма «КМИЭВ-V118» на цито- и гистохимические показатели.

The article presents data on the effect of vaccination of chickens against reovirus tenosynovitis of domestic dry live vaccine strain of "KMIEV-V118" on cyto- and histochemical indicators.

Ключевые слова: цыплята, реовирусный теносиновит, вакцинация, аскорбиновая кислота, РНК, лимфоциты, кислая и щелочная фосфотаза, натрия тиосульфат.

Keywords: chickens, reovirus tenosynovitis, vaccination, ascorbic acid, RNA, lymphocytes, acid and alkaline phosphatase, sodium thiosulfate.

Введение. Стремительно развиваясь, птицеводство в Республике Беларусь заняло одно из ведущих мест среди отраслей сельского хозяйства. В настоящее время на рынке преобладают тенденции, связанные с ужесточением требований к качеству и безопасности выпускаемой продукции. В связи с этим для руководителей и специалистов предприятий очень важно своевременно и адекватно реагировать на меняющиеся условия производства.

В настоящее время птицеводство в Беларуси развивается в соответствии с программой развития на 2011–2015 годы. Целью данной программы является обеспечение стабильного снабжения населения республики высококачественной птицеводческой продукцией, позволяющей полностью удовлетворить потребности в яйце и мясе птицы, а также реализовать данную продукцию на экспорт.

Как известно, производство мяса птицы сосредоточено на крупных специализированных предприятиях, мощности которых позволяют осуществить единовременную посадку миллиона и более голов. Это в свою очередь создает определенные трудности в соблюдении принципа «все пусто – все занято», приводит к сокращению санитарных разрывов. К тому же зачастую стада комплектуются привезенной из-за границы птицей с недостаточной, либо недостоверной информацией о ее происхождении. На фоне нарушений в кормлении и содержании, несоблюдения ветеринарно-санитарных правил и неизбежности технологических стрессов происходит угнетение иммунной системы птицы и снижение резистентности ее организма, что приводит к активизации возбудителей инфекционных болезней различной этиологии. К таким заболеваниям относят реовирусную инфекцию птиц.

Реовирусная инфекция (теносиновит кур, вирусный артрит) – контагиозная болезнь, проявляющаяся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, высокой ранней смертностью, плохим ростом, снижением яйценоскости и выводимости цыплят. При хроническом течении болезнь сопровождается разрывом сухожилий голени и эрозиями суставных хрящей. Чаще болеет птица мясного направления [1, 2, 3].

Вирус, вызывающий данную болезнь, является иммуносупрессором, что в свою очередь ведет к снижению способности иммунной системы цыплят адекватно отвечать на последующие вакцинации против других вирусных инфекций. Установлено также, что реовирусы оказывают иммуносупрессивное действие на организм больной птицы, и это способствует усилению патогенности других инфекционных агентов, включая эймерии, криптоспоридии, кишечную палочку и возбудителя инфекционной анемии птиц [2].

Реовирусы наиболее контагиозны для цыплят в раннем возрасте. Попадая в организм цыпленка, вирус, в первую очередь, поражает эпителиальные клетки тонкого кишечника и бursy Фабрициуса, а затем быстро распространяется в другие органы за 24-48 ч. [1, 2].

Реовирусы птиц широко распространены во всем мире. Они были выделены от цыплят при различных патологических процессах, которые проявлялись в виде артритов, перикардитов, миокардитов,

«синдрома плохого всасывания корма», «синдрома плохого оперения», иммуносупрессии, некроза головки бедренной кости и т.д. [1, 2]. Клинические признаки болезни связаны с возрастом больной птицы. Так у молодняка отмечается хромота («ходульная походка»), отеки сухожильных влагалищ, гибателей фаланг пальцев сухожильный голеноплюсного сустава одной или обеих тазовых конечностей. [1, 2].

В настоящее время реовирусы птиц распространены во многих странах мира: Аргентина, США, Бельгия, Китай, Болгария, Польша, Объединенные Арабские Эмираты, Южная Африка, Филиппины, Индонезия, Нигерия, Иран, Германия и др. [11, 13, 14]. В литературе имеются данные о циркуляции вируса среди молодняка и взрослых кур, полученных как от иммунных, так и от неиммунных родителей в Российской Федерации, а также в Украине [7, 9].

Основополагающим подходом к предотвращению реовирусных инфекций является специфическая профилактика родительского поголовья, которая защищает молодняк благодаря переносу материнских антител [8, 9], однако, сообщения об эффективности вакцинации неоднозначны, поскольку неизвестно, вирус какого серотипа играет наибольшую роль в возникновении болезни и каково значение гетерологичного иммунитета в защите, также на снижение результативности вакцинации оказывают влияние множество полевых вариантов вируса [7, 12]. Существуют данные о прорыве иммунитета у вакцинированного против реовирусной инфекции родительского стада, а также наличие антител к вирусу у молодняка, полученного как от иммунного [14], так и от неиммунного поголовья [7].

В соответствии с Государственной программой развития производства ветеринарных препаратов на 2010–2015 годы планируется завершить к 2015 году создание производства отечественных биологических, фармацевтических и диагностических ветеринарных препаратов и обеспечить ими потребности птицеводства до 80 процентов [8]. В связи с этим сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» г. Минск была разработана сухая живая вакцина против реовирусного теносиновита цыплят.

Материалы и методы исследований. Целью наших исследований явилось изучение цито- и гистохимических показателей у цыплят при иммунизации их против реовирусного теносиновита сухой живой вакциной отечественного производства из штамма «КМИЭВ-V118».

Экспериментальная часть исследований была проведена на 70 цыплятах 1-45-дневного возраста, которые были подобраны по принципу аналогов и разделены на 4 группы. Птица первой группы служила контролем. Цыплят второй группы вакцинировали в возрасте 7 дней отечественной сухой живой вакциной против реовирусного теносиновита без применения натрия тиосульфата. Птицу третьей группы иммунизировали в 7 дней с применением натрия тиосульфата, а поголовье четвертой группы вакцинировали в суточном возрасте. Биопрепарат вводили внутримышечно в верхнюю треть внутренней поверхности бедра. В качестве растворителя для вакцины во второй и четвертой группах применяли натрия хлорид, а в третьей – дистиллированную воду с растворенной в ней новокаином и натрия тиосульфатом (на 100 мл воды добавляли 0,25 г новокаина и 7,0 г натрия тиосульфата). На 7-й, 14-й и 21-й дни после иммунизации проводили убой по 5 цыплят из каждой группы методом декапитации с одновременным забором крови для приготовления мазков. Мазки фиксировали в метаноле. Содержание РНК определяли по методу Браше в модификации М.С. Жакова и И.М. Карпутя [4]. Оценку относительного количества РНК в лимфоцитах осуществляли по трехбалльной системе, путем подсчета 100 клеток. Интенсивно окрашенные клетки отмечали ++, среднеокрашенные – +, слабоокрашенные – +, неокрашенные – 0. Для объективного сопоставления полученных результатов выводили средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле G. Astaldi и L. Verga [10]. Для проведения гистохимических исследований отбирали кусочки внутренних органов (сердце, печень, почки, селезенка, Бурса Фабрициуса) и фиксировали их в жидкости Карнуа, затем подвергали их уплотнению путем заливки в парафин, после чего готовили гистосрезы по общепринятой методике [6]. Аскорбиновую кислоту в миокарде, печени и почках, определяли методами Жира и Леблон [5] с докраской препаратов гематоксилин-эозином [6], характеризуя интенсивность выявления восстановленного аскорбиновой кислотой нитрата серебра черного цвета. Активность фосфатаз определяли в селезенке и бурсе Фабрициуса: активность кислой фосфатазы – нитратом свинца по Гомори, щелочной – кальций-кобальтовым методом по Гомори. При этом в местах ферментативной активности фосфатаз выявляются отложения сульфида коричневого или черного цвета [5]. Активность ферментов и интенсивность гистохимических реакций оценивали визуально и условно определяли: ++++ – очень высокая, +++ – высокая, ++ – умеренная, + – низкая, 0 – отрицательная.

Цифровой материал обрабатывали статистически с помощью компьютерной программы Microsoft Excel-2003.

Результаты исследований. При цитохимическом исследовании мазков крови нами было установлено, что количество РНК в лимфоцитах у цыплят, иммунизированных в 7 дней без- и с применением иммуностимулятора на 7-й день после вакцинации было на 20,59 и 38,24% ($P < 0,001$) выше, чем в контроле, соответственно.

Количество РНК в лимфоцитах на данном этапе исследования у цыплят, вакцинированных в 7 дней с применением натрия тиосульфата, было достоверно выше на 14,63%, чем у птицы, иммунизированной без него.

На 14-й день после вакцинации наблюдали дальнейшее увеличение данного показателя. Так, количество РНК в лимфоцитах у цыплят, вакцинированных в суточном возрасте, в 7 дней без- и с применением иммуностимулятора, было достоверно выше на 34,39, 35,67 и 38,85 % ($P < 0,001$), чем у интактного поголовья, соответственно.

Количество РНК в лимфоцитах у цыплят, вакцинированных в 7 дней с применением натрия тиосульфата, было достоверно выше, чем без него.

На 21-й день после иммунизации содержание РНК в лимфоцитах иммунизированной птицы значительно не отличалось от контроля.

При гистохимическом исследовании органов вакцинированных цыплят нами установлено, что на 7-й день после вакцинации аскорбиновая кислота выявлялась в виде зерен темно-коричневого цвета в незначительном количестве в миокарде, печени и почках. Причем, следует отметить, что содержание аскорбиновой кислоты у иммунизированного поголовья было выше по сравнению с неиммунным. В этот же период исследований активность кислой и щелочной фосфотаз у вакцинированных цыплят значительно не отличалась от контроля. При этом кислая фосфотаза выявлялась в виде черно-коричневых гранул небольшого размера в тимусе и в периартериальных муфтах селезенки, а щелочная – в виде зерен черного цвета, различных размеров в лимфоидных узелках селезенки и бурсе Фабрициуса.

На 14-й день исследований содержание аскорбиновой кислоты в миокарде, печени и почках у вакцинированной птицы было примерно одинаковым по сравнению с интактными цыплятами. В тимусе в данный период исследования нами было выявлено незначительное увеличение активности кислой фосфотазы у вакцинированной птицы всех групп по сравнению с контролем, в то время как в селезенке значительных изменений не выявлено. Активность щелочной фосфотазы в селезенке и бурсе Фабрициуса у иммунных цыплят незначительно превышала контрольные показатели.

Между группами иммунизированной птицы выраженных отличий нами не установлено.

На 21-й день исследований достоверных отличий в содержании аскорбиновой кислоты в паренхиматозных органах, а также в активности кислой и щелочной фосфотаз между группами не выявлено.

Заключение. Проведенные нами исследования показали, что при иммунизации цыплят отечественной сухой живой вакциной против реовирусного теносиновиита происходит достоверное увеличение количества РНК в лимфоцитах, кратковременное повышение содержания аскорбиновой кислоты в печени, миокарде и почках. Кроме этого, на 14-й день после иммунизации отмечается незначительное увеличение активности кислой фосфотазы в тимусе и щелочной фосфотазы в селезенке, бурсе Фабрициуса по сравнению с контролем.

Литература. 1. Алиев, А.С. Реовирусная инфекция птиц / А.С. Алиев // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2005. – №12. – С. 28-32. 2. Алиев, А.С. Реовирусная инфекция птиц : Обзор иностранной литературы / А.С. Алиев // *Ветеринария*. – 2002. – №1. – С. 53-57. 3. Вирусные болезни животных / В.Н.Сюрин [и др.] ; под общ. ред. В.Н. Сюрин. – Москва: ВНИТИБП, 1998. – 928с. 4. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 5. Луппа, Х. Основы гистохимии / Х. Луппа ; под. ред. Н.Т. Райхлина ; пер. с нем. И.Б. Бухвалова, Е.Д. Вальтер. – М. : Мир, 1980 – 343 с. 6. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 7. Николаенко Ю.Ю. Распространение и специфическая профилактика реовирусной инфекции в Украине / Ю.Ю. Николаенко, Л.И. Наливайко, И.Ю. Безрукавая // VI Международный ветеринарный конгресс по птицеводству. – Москва, 26-29 апреля 2010. – С. 54–58. 8. Программа развития птицеводства в Республике Беларусь на 2011-2015 гг. 9. Пругло, В.В. Реовирусные инфекции птиц / В.В. Пругло // *Ветеринария в птицеводстве*. – 2006. – № 5–6. – С. 31–35. 10. Терентьева, Э.И. Цитохимия элементов кроветворения при лейкозе / Э.И. Терентьева. – М., 1968. – 51 с. 11. Classification of Dutch and German avian reoviruses by sequencing the σ C protein / A. Kant [et al.] // *Veterinary Research*. – 2003. – Vol.34, №2. – P. 203–212. 12. Effect of maternal antibodies on the pathogenesis of Avian Reovirus infections in broiler chickens using real-time reverse transcriptase polymerase chain / K. Guo [et al.] // *Journal of Agricultural Science and Technology*. – 2012. – Vol. 2, № 9A. – P.1058-1063. 13. Hedayati, M. Detection of avian reoviruses causing tenosynovitis in breeder flocks in Iran by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and restriction enzyme fragment length polymorphism (RFLP) / M. Hedayati, B. Shojadoost, S.M. Peighambari // *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. – 2013. – Vol. 7, №2. – P. 135–142. 14. Martin E. Reovirus as an etiologic component of current leg problems in Ontario broilers / E. Martin, M. Brash, D. Ojkic // *AHL Newsletter*. – 2012. – Vol. 16, №4. – P. 35.

Статья передана в печать 26.03.2014 г.

УДК: 619:616.98:579.842.11:615.371:632.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ И КРАТНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА И КЛЕБСИЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

***Ломако Ю.В., *Красочко П.П., *Яромчик Я.П., **Борисовец Д.С. **Амосова Л.А., **Зубовская И.В., *Прудников А.В.**

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск
**РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

Сконструирована ассоциированная вакцина против колибактериоза и клебсиеллеза крупного рогатого скота, изучена ее антигенная активность, отработаны оптимальная доза и кратность применения изготовленного биопрепарата.

Установлено, что разработанная вакцина обладает высокой антигенной активностью и вызывает выработку антибактериальных антител в организме лабораторных животных в титрах $8,5-9,6 \log_2$, а ее применение стельным коровам в период сухостоя однократно в дозе 2,0 мл способствует выработке колостральных антител у полученных от них телят в титрах от 5,0 до $10,2 \log_2$.