

которых до иммунизации (фон), а затем после нее на 14, 21 и 28-е сутки были отобраны пробы крови. Сыворотку исследовали в РТГА согласно "Методическим указаниям по определению уровня антител к вирусу гриппа птиц в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)". Вакцину считали иммуногенной, если через 28 суток после вакцинации у 80% цыплят опытной группы титры антител в сыворотках крови были не ниже  $4,0 \log_2$ . При этом титры антител в сыворотках крови у цыплят контрольной группы за период опыта не должны увеличиваться.

Об антигенной активности вакцины судили по нарастанию титров специфических антител в сыворотках крови цыплят в опытной группе (РТГА).

Результаты изучения антигенной активности вакцины представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, введение вакцины цыплятам приводило к нарастанию титров антител в сыворотках крови с 2,0 до 7,0  $\log_2$  для подтипа H5N2 к 28 суткам.

Таблица 4 – Антигенная активность инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа птиц подтипа H5N2 в РТГА

Подтип вируса	Титры антител, $\log_2$			
	фон	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
H5	0	2,0	6,0	7,0

**Заключение.** Таким образом, в результате проведенных исследований

- разработан опытный образец инактивированной эмульгированной вакцины против вируса гриппа птиц подтипа H5N2

- вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета типа «вода в масле»

- изготовленный образец вакцины стерилен, безвреден

- образец вакцины обладает высокой антигенной активностью и приводит к формированию напряженного иммунитета у цыплят.

УДК619:616-091.8:615.371:636.4

#### ВЛИЯНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ НА СОДЕРЖАНИЕ РНК, АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛИКОГЕНА В ОРГАНАХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ СВИНЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И СТРЕПТОКОККОЗА

Казючиц М.В., Прудников В.С.

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

*Применение совместно с вакциной СГС иммуностимуляторов натрия тиосульфата и витамина С способствует статистически достоверному повышению в периферической крови содержания РНК в лимфоцитах и гликогена в нейтрофилах, а в органах и клетках происходит более заметное распределение гликогена и аскорбиновой кислоты.*

*Application of sodium thiosulphate and vitamin C together with the vaccine SPS promotes statistically authentic increase in peripheral blood maintenance RNA in lymphocytes and glycogen in neutrophils, and in organs and cells there is more appreciable distribution of a glycogen and acidum ascorbolicum.*

**Введение.** В настоящее время представление иммуноморфологического обоснования к применению вакцин, иммуностимуляторов и лекарственных веществ в ветеринарной медицине выступает не столько в форме дополнительной рекомендации, сколько в виде непреложного требования, так как оно позволяет интерпретировать морфологические изменения в иммунной системе животных на организменном, системном, органном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях.

Морфологические показатели крови расширяют представление о состоянии иммунной системы животных. Они учитывают количество микрофагов, макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, функциональную активность фагоцитов, а также активность Т- и В-лимфоцитов по содержанию в их цитоплазме РНК [6, с. 100; 7, р. 2408].

Изменение содержания РНК в органах иммунной системы вакцинированных животных свидетельствует об усилении или угнетении их белоксинтезирующей (в том числе антителосинтезирующей) функции и объективно отражает состояние гуморального звена иммунного ответа. Поэтому определение уровня нуклеиновых кислот в органах иммуногенеза дает объективную оценку иммунного статуса млекопитающих и птиц, изменяющегося при использовании живых и инактивированных вакцин [2, с. 24].

Количественное определение и качественное выявление ферментов в органах и тканях (кислой и щелочной фосфатаз и др.) также характеризует функциональную активность клеток иммунной и других систем.

С помощью гистохимических и иммуноцитохимических методов исследования выявляют в органах иммунной и неиммунных систем химические вещества (аскорбиновую кислоту, гликоген и др.), характеризующие тот обмен веществ, метаболитами которого они являются. Гликоген является одним из источников энергии. Обеспечивает фагоцитоз микро- и макрофагами. Витамин С оказывает благоприятное влияние на общую реактивность организма, укрепляет неспецифические механизмы защиты, а также активирует антителогенез [6, с. 101].

**Материал и методы.** Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории кафедры патанатомии и гистологии, а также в СГЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области. Был изучен иммуноморфогенез у поросят при вакцинации их ассоциированной поливалентной вакциной против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза без и совместно с иммуностимуляторами натрия тиосульфатом и аскорбиновой кислотой.

Объектом исследований были поросята из благополучного по сальмонеллезу, пастереллезу и стрептококкозу хозяйства, иммунизированные ассоциированной поливалентной вакциной (опытная серия) против данных заболеваний с применением иммуностимуляторов натрия тиосульфата и аскорбиновой кислоты.

Для этого было использовано 40 поросят крупной белой породы 30-35-дневного возраста, полученных от неиммунных свиноматок на фоне принятой технологии кормления, содержания и схемы ветеринарных мероприятий. Животные подбирались по принципу аналогов. Поросята были разделены на 4 группы по 10 в каждой. Поросят 1-й группы вакцинировали против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза вакциной СПС согласно наставления; животных 2-й группы – вакциной СПС совместно с витамином С; поросят 3-й группы – вакциной СПС совместно с иммуностимулятором натрия тиосульфатом. Контролем служили интактные животные 4-й группы, которым вводили изотонический раствор натрия хлорида.

Иммунизацию поросят проводили двукратно внутримышечно с интервалом 7 дней, в дозах 4 мл первично и 5 мл повторно. Витамин С добавляли в вакцину в дозе 0,05г на голову непосредственно перед вакцинацией. Натрия тиосульфат применяли с вакциной в 30%-й концентрации. Вакцины готовили на УП «Витебская биофабрика».

После иммунизации за всеми животными было установлено клиническое наблюдение.

На 7-й день после 1-й, 14-й и 21-й дни после 2-й вакцинации от четырех животных из каждой группы отбирали пробы крови и получали костный мозг для морфологического исследования.

Кровь для исследования получали из орбитального венозного синуса угла глаза [5, с.11]. Кровь брали в две сухие чистые пробирки. В одной из пробирок ее стабилизировали гепарином (2,0-2,5 Ед/мл), а другую, без гепарина, использовали для получения сыворотки. Сыворотку крови получали после свертывания крови при температуре +37°C с последующим охлаждением до +4°C и центрифугированием в течение 15 мин. при 3000 об/мин.

Содержание РНК в лимфоцитах определяли по методу Браше в модификации М.С. Жакова и И.М. Карпутя [3, с.22].

Относительное количество РНК в клетках крови оценивали по трехбалльной системе, подсчитывая 100 клеток. Интенсивно окрашенные клетки отмечали ++, среднеокрашенные ++, слабоокрашенные + и неокрашенные – 0. Для более объективного сопоставления полученных данных выводили средний цитохимический коэффициент (СЦК), который подсчитывали по формуле G. Astaldi и L. Verga.

С целью проведения иммуноморфологических исследований на 7-й день после 1-й, 14-й и 21-й дни после 2-й вакцинации по 3 поросенка из каждой группы убивали.

Для исключения возможного влияния времени суток на результаты исследования убой животных осуществлялся в одно и то же время. Забор материала осуществляли сразу же после убоя поросят.

Кусочки ткани с места введения биопрепарата, тимуса, селезенки, лимфоузлов (правый и левый подчелюстные и брыжеечные), печени, миокарда, почек, надпочечников, скелетных мышц фиксировали в жидкости Карнуа, 10%-м растворе нейтрального формалина, 96%-м этиловом спирте, 10%-м растворе нитрата серебра [4, с. 52-60, 89-114, 122-166, 275-277].

Зафиксированный материал подвергали заливке в парафин. Из уплотненного патологического материала на санном микротоме готовили гистологические срезы [1, с. 89-114], затем их окрашивали для обзорного изучения гематоксилин-эозином, для дифференциации иммунокомпетентных клеток – метиловым зеленым-пиронином (по методу Браше) в модификации М.С. Жакова и И.М. Карпутя [3, с.50].

С помощью гистохимических методов выявляли химические вещества, характеризующие состояние обмена веществ.

Аскорбиновую кислоту в тканях определяли по Жиру и Леблону с докраской препаратов гематоксилин-эозином. Выявление аскорбиновой кислоты основано на том, что находящаяся в тканях аскорбиновая кислота сильно восстанавливает азотнокислое серебро. Образующиеся гранулы черного цвета состоят не из аскорбиновой кислоты, а из восстановленного серебра; они указывают лишь на то, что в этих участках клетки азотнокислое серебро было восстановлено аскорбиновой кислотой [1, с.160].

Гликоген выявляли ШИК-реакцией по Шабашу [1, с.199]. Данный метод основан на окислении полисахаридов малыми дозами периодатов калия или натрия с образованием свободных альдегидных групп, которые дают с фуксинсернистой кислотой соединение вишневого цвета.

Гликоген определяли в скелетных и сердечной мышцах, в печени, в микро- и макрофагах лимфатических узлов, селезенки и в нейтрофилах периферической крови.

**Результаты.** При цитохимическом исследовании форменных элементов крови у вакцинированных животных нами отмечалось значительное увеличение содержания гликогена в нейтрофилах и РНК в лимфоцитах. Так у поросят, иммунизированных вакциной СПС с натрия тиосульфатом, наиболее высоким содержание гликогена в нейтрофилах отмечалось на 14-й день после второй вакцинации: СЦК=1,66±0,02 против 1,52±0,02 в контроле (p<0,01) и 1,64±0,03 у животных, вакцинированных без него (p <0,05). Содержание РНК в лимфоцитах вакцинированных животных этой группы также достигало к этому времени максимальной величины и составило 1,95±0,11 против 1,76±0,04 в контроле и 1,83±0,07 у поросят, вакцинированных без натрия тиосульфата (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание гликогена в нейтрофилах и РНК в лимфоцитах поросят, иммунизированных вакциной СПС без и с применением иммуностимуляторов

Группы животных	Гликоген в нейтрофилах (СЦК)	РНК в лимфоцитах (СЦК)
На 7-й день после первой вакцинации		
Контроль	1,44±0,33	1,35±0,07
Вакцина СПС	1,56±0,02; p<0,001	1,51±0,08; p<0,001
Вакцина СПС+ НТ	1,54±0,03; p<0,001; p <sub>1</sub> <0,05	1,59±0,06; p<0,001; p <sub>1</sub> >0,05

Вакцина СПС+ витамин С	1,56±0,04; p<0,001; p <sub>1</sub> >0,05	1,57±0,03; p<0,001; p <sub>1</sub> >0,05
На 14-й день после второй вакцинации		
Контроль	1,52±0,02	1,76±0,04
Вакцина СПС	1,64±0,03; p<0,01	1,83±0,07; p>0,05
Вакцина СПС+ НТ	1,66±0,02; p<0,01; p <sub>1</sub> >0,05	1,95±0,11; p<0,05; p <sub>1</sub> >0,05
Вакцина СПС+ витамин С	1,62±0,04; p<0,01; p <sub>1</sub> >0,05	1,86±0,07; p<0,05; p <sub>1</sub> >0,05
На 21-й день после второй вакцинации		
Контроль	1,50±0,04	1,48±0,06
Вакцина СПС	1,58±0,01; p<0,05	1,59±0,04; p>0,01
Вакцина СПС+ НТ	1,59±0,02; p>0,05; p <sub>1</sub> <0,05	1,62±0,08; p<0,01; p <sub>1</sub> >0,05
Вакцина СПС+ витамин С	1,56±0,03; p>0,05; p <sub>1</sub> >0,05	1,58±0,06; p>0,05; p <sub>1</sub> >0,05

Примечание: \* - p>0,05; \*\* - p<0,05; \*\*\* - p<0,01; \*\*\*\* - p<0,001; \* - по отношению к контролю; p<sub>1</sub> – по отношению к вакцинированным без иммуностимуляторов.

При гистоцитохимическом исследовании в регионарных месту введения вакцины левых подчелюстных лимфоузлах животных всех групп на 7-й день после первой иммунизации повышалось, по сравнению с контролем, содержание гликогена и аскорбиновой кислоты, а также заметно возрастало количество РНК-содержащих (плазматических) клеток.

Наиболее выраженной плазмоцитарная реакция наблюдалась в регионарных месту введения вакцины левых подчелюстных лимфоузлах поросят, иммунизированных с натрия тиосульфатом (135,9±8,16, p<0,001) и витамином С (123,1±6,48, p<0,001) против 34,9±1,96 в контроле и 109,7±12,14 у животных, вакцинированных без иммуностимуляторов.

В контррегионарных месту введения вакцины правых подчелюстных лимфоузлах на 7-й день после первой иммунизации в цитоплазме микро- и макрофагов вакцинированных животных всех групп выявлялось небольшое повышение содержание гликогена и витамина С по сравнению с контролем. Наиболее высокими эти показатели были у животных, вакцинированных с натрия тиосульфатом.

Одновременно у животных всех групп также установлено незначительное увеличение числа вторичных лимфоидных узелков по сравнению с контролем. В них повышалось содержание В-лимфоцитов и плазмобластов. Цитоплазма клеток была интенсивно насыщена РНК и витамином С. В цитоплазме мягкотных тяжей существенно не изменялось количество лимфобластов, но заметно возрастало число плазматических клеток. Наибольшее увеличение отмечалось у поросят, вакцинированных с натрия тиосульфатом, где общее количество плазматических клеток возрастало по сравнению с контролем с 26,0±3,16 до 78,6±5,29 (p<0,001), а по сравнению с животными, вакцинированными без и с иммуностимуляторами – с 63,3± 7,48 до 78,6± 5,29 (p<0,001). Наряду с активизацией плазмоцитарной реакции в контррегионарных месту введения вакцины правых подчелюстных лимфоузлах вакцинированных поросят повышалось, по сравнению с интактными животными, на 13,8-16,4 число эозинофилов и на 28,7-50,3 количество нейтрофилов, что свидетельствует об активизации фагоцитарной активности этих клеток.

В отдаленных месту введения вакцины брыжеечных лимфоузлах поросят всех групп на 7-й день после первой и 14-й день после второй иммунизации при гистоцитохимическом исследовании также выявлялось, по сравнению с интактными животными, повышение в макрофагах и ретикулярных клетках содержание витамина С и гликогена. При этом у поросят, вакцинированных с витамином С и натрия тиосульфатом эти показатели были незначительно выше по сравнению с животными, иммунизированными стандартной вакциной.

В мозговых тяжях брыжеечных лимфоузлов вакцинированных животных общее количество плазматических клеток возрастало в 3-4 раза по сравнению с контролем. Наиболее высоким оно было у поросят, иммунизированных с натрия тиосульфатом (120,4±5,16 против 34,3±5,48 в контроле, p<0,001). Увеличение количества плазматических клеток происходило примерно в одинаковой степени, как за счет повышения содержания плазматических клеток, так и за счет увеличения числа плазмобластов и проплазматических. Наряду с активизацией плазмоцитарной реакции в брыжеечных лимфоузлах вакцинированных животных всех групп возрастало по сравнению с невакцинированными поросятами в 1,3-1,7 раза количество эозинофилов, в 1,9-2,4 раза число нейтрофилов и в 1,16-1,27 раза содержание митотически активных клеток.

При гистоисследовании селезенки на 7-й день после первой и 14-й день после второй иммунизации у иммунных животных всех групп в трабекулах и ретикулярных клетках было заметное увеличение, по сравнению с интактными поросятами, содержание витамина С и гликогена.

В красной пульпе селезенки вакцинированных животных между венозными синусами возрастало по сравнению с контролем число плазмобластов, проплазматических и плазматических. Наиболее выраженными эти показатели были у поросят, вакцинированных с натрия тиосульфатом. У животных этой группы общее количество плазматических клеток в селезенке возрастало по сравнению с контролем с 140,3±16,19 до 579,7±22,59 (p<0,001). При этом данный показатель был выше на 69,4 по сравнению с поросятами, иммунизированными без иммуностимулятора и на 38,0 – по сравнению с животными, вакцинированными с витамином С.

Во внутренних органах (печень, почки, надпочечники, сердце) к этому времени также происходило перераспределение гликогена и витамина С. При этом содержание гликогена у вакцинированных животных всех групп на 7-й день после первой иммунизации возрастало в надпочечниках и уменьшалось в печени, миокарде и незначительно в почках. Содержание витамина С повышалось в печени, миокарде и почках и понижалось в надпочечниках, за исключением животных, вакцинированных с витамином С.

Содержание гликогена и аскорбиновой кислоты в регионарных месту введения вакцины левых подчелюстных лимфоузлах вакцинированных животных на 14-й день после 2-й иммунизации наиболее высоким было по-прежнему у поросят, иммунизированных совместно с натрия тиосульфатом и витамином С.

При гистоцитохимическом исследовании внутренних органов уже к 14-му дню после второй иммунизации содержание гликогена и витамина С нормализовалось у иммунных животных всех групп в миокарде, незначительно возрастало в почках, но оставалось пониженным по сравнению с интактными поросятами: витамина С в надпочечниках, за исключением животных, получавших витамин С, а гликогена – в печени. Вместе с тем у животных, иммунизированных с натрия тиосульфатом и витамином С эти различия были слабо выражены.

В печени вакцинированных животных к этому времени отмечалось увеличение содержания гликогена, а в надпочечниках и тимусе – витамина С. В других органах эти показатели нормализовались.

К 21-му дню после повторной иммунизации эти показатели постепенно выравнивались у иммунных животных всех групп, но были выше по сравнению с интактными поросятами.

В контррегионарных месту введения вакцины правых подчелюстных лимфоузлах иммунных поросят всех групп к этому времени содержание гликогена и аскорбиновой кислоты было примерно одинаковым и существенно не отличалось от контрольных показателей.

В брыжеечных лимфоузлах вакцинированных животных всех групп на 21-й день после повторной иммунизации содержание гликогена и аскорбиновой кислоты существенно не отличалось от аналогичных показателей интактных поросят.

Содержание гликогена в печени и сердечной мышце нормализовалось, а количество витамина С возрастало в печени и существенно не изменялось в миокарде. При этом указанные показатели были достоверно выше у животных, иммунизированных совместно с натрия тиосульфатом и витамином С.

К 21-му дню после второй иммунизации данные показатели в селезенке полностью нормализовались.

К 21-му дню после второй иммунизации показатели содержания гликогена и витамина С во внутренних органах вакцинированных животных полностью нормализовались.

**Заключение.** В периферической крови у животных, иммунизированных вакциной СПС одновременно с натрия тиосульфатом на 7-й день после 1-й и 14-й день после 2-й вакцинации, возрастает по сравнению с поросятами, иммунизированными без него, содержание РНК в лимфоцитах (на 4,46,  $p < 0,05$ ).

При гистоцитохимическом исследовании органов в печени, почках, надпочечниках и миокарде под действием натрия тиосульфата и витамина С более интенсивно происходит перераспределение гликогена и витамина С. При этом в печени, миокарде и почках повышается содержание витамина С и уменьшается количество гликогена, а в надпочечниках наблюдается незначительное снижение содержания витамина С и увеличение количества гликогена.

**Литература.** 1. Артишевский, А.А. Гистология с техникой гистологических исследований / А.А. Артишевский, А.С. Леонтьев, Б.А. Слука. – Минск : Вышэйшая школа, 1999. – 236 с. 2. Динамика нуклеиновых кислот в иммунокомпетентных органах утят, вакцинированных против энтеровирусного гепатита с применением иммуностимуляторов / Л.Н. Громова [и др.] // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. – 2004. – № 1. – С. 23–28. 3. Жаков, М.С. Окраска мазков крови и костномозговых пунктатов по методу Браше / М.С. Жаков, И.М. Карпуть // Лабораторное дело. – 1967. – №1 – С. 52. 4. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 5. Методические указания по взятию крови у животных / Витебский ветеринарный институт ; П.Я. Конопелько [и др.] – Витебск, 1989. – 36 с. 6. Морфология воспаления и иммунитета у животных при вакцинациях и болезнях / В.С. Прудников [и др.] // Ветеринарная наука – производству / Институт экспериментальной ветеринарии НАН Беларуси – Минск, 2005. – Вып. 37. – С. 95–102. 7. The role biological response modifiers in disease control / M. Campos, D. Godson, H. Hughes, L. Babiuk // Dalry Science. – 1993. – Vol. 76 (8). – P. 2407-2417.

УДК 619:576.895.42:636.1(476)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И НЕКОТОРЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОРИБАТИДНЫХ КЛЕЩЕЙ – ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ МОНИЕЗИЙ В БЕЛАРУСИ

Кирищенко В.Г.

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

*Орибатидные клещи выявлены на всех типах обследованных пастбищ. Из 27 установленных видов наиболее распространены: Tectocheus velatus (Michel, 1880), Scheloribates laevigatus (C.L. Koch, 1836), Scheloribates latipes (C.L. Koch, 1844), Galumna obvia (Berlese, 1914), Ceratozetes gracilis (Michel, 1884). Плотность клещей в весенний, летний, осенний периоды варьирует: максимальное количество – в третьей декаде мая, минимальное количество – в октябре. Разработан способ выгонки орибатидных клещей.*

*The oribatid ticks have been revealed on all types of examined pastures of the 27 identified species the most wide spread were. The tick population varies during the spring, summer, autumn periods with its highest during the third decade of May, it is lowest during October. The new method for eliminating the ticks has been developed.*

**Введение.** Панцирные клещи, или орибатиды (Acari-formes: Oribatida), – одна из доминирующих по численности и биомассе групп почвообитающих беспозвоночных. Они встречаются в самых разнообразных местах обитания, но наиболее обычны в почвах. В лесных почвах их плотность достигает сотен тысяч на 1 м<sup>2</sup>, а биомасса 5–15% от всего населения ландшафта (Кривоуцкой, 1975).

Орибатиды заселяют практически все типы почв Земли. В настоящее время в мире известно свыше 7000 видов более чем из 1000 родов (Balogh, 1992 а, b), в том числе около 1300 видов в России. Количество вновь найденных и описываемых видов и родов увеличивается постоянно. Так, например, за период с 1972 по 1992 г. количество известных родов увеличилось с 700 до 1000. Предполагают, что к настоящему времени известно только около 20% от реальной мировой фауны панцирных клещей (Balogh, 1992a).