

У цыплят со сниженной живой массой на 9-й день после 1-й иммунизации отмечалось: живая масса была достоверно ниже, чем у молодняка 1-й группы (вакцинированных без иммуностимулятора), и составила $217,11 \pm 2,92$ г. Вместе с тем, масса существенно не отличалась от птиц 2-й группы (вакцинированных совместно с нуклевитом) и контактных цыплят ($220,01 \pm 5,71$ и $228,15 \pm 6,74$ соответственно). При исследовании массы органов иммунной системы птиц: тимуса, селезенки и бursы Фабрициуса - нами установлено, что масса и индекс селезенки достоверно были ниже у цыплят 1-й группы ($0,12 \pm 0,02$ г и $0,57 \pm 0,09$) по сравнению с молодняком 2-й ($0,16 \pm 0,03$ г и $0,74 \pm 0,13$) и 3-й групп ($0,17 \pm 0,02$ г и $0,73 \pm 0,09$, соответственно). Масса бursы Фабрициуса была примерно одинаковой у птиц всех групп, но индекс массы был выше у цыплят 1-й группы ($1,47 \pm 0,18$). В 24-дневном возрасте (на 3-й день после 2-й вакцинации) живая масса цыплят 1-й группы была ниже, чем в остальных группах ($896,41 \pm 20,08$ г), а масса молодняка 2-й группы ($949,64 \pm 23,61$ г) была выше, чем у интактной птицы 3-й группы ($900,70 \pm 6,70$ г). Результаты исследования массы и индекса тимуса, селезенки и бursы Фабрициуса опытных цыплят были следующие: масса тимуса достоверно не отличалась у цыплят всех групп, а индекс массы тимуса у птиц 1-й ($2,68 \pm 0,13$) и 2-й ($2,94 \pm 0,24$) групп был ниже, по сравнению с контрольной птицей 3-й группы ($3,25 \pm 0,17$).

Масса селезенки была ниже у бройлеров 1-й группы ($0,75 \pm 0,08$ г) по отношению к птице 2-й ($0,86 \pm 0,05$ г) и 3-й групп ($0,84 \pm 0,03$ г). Достоверно ниже были также показатели массы и индекса бursы Фабрициуса у цыплят 1-й группы ($1,59 \pm 0,06$ г и $1,78 \pm 0,10$), по сравнению с птицей 2-й ($1,84 \pm 0,10$ г и $1,94 \pm 0,12$) и 3-й ($1,91 \pm 0,13$ г и $2,12 \pm 0,15$) групп.

В 28-дневном возрасте (на 7-й день после 2-й вакцинации) живая масса цыплят 2-й группы, получавших иммуностимулятор, была достоверно выше, чем у птиц 1-й и 3-й групп (на $91,8$ г и $57,66$ г соответственно). Масса селезенки у молодняка 2-й группы была выше на $0,19$ г чем у цыплят 1-й группы, и ниже на $0,11$ г по сравнению с контролем (3-я группа). Индекс селезенки у бройлеров 3-й группы был выше на $0,22$, по сравнению с птицей 1-й группы и на $0,15$ по сравнению с цыплятами 2-й группы. Масса бursы цыплят 1-й группы ($2,70 \pm 0,03$ г) была дос-

товерно ниже, по сравнению с птицами всех групп. При сравнении индекса селезенки установлено увеличение этого показателя у контрольных цыплят на $0,15$, а у молодняка 2-й и 3-й групп – на $0,19$ соответственно.

Проведенные нами исследования в производственном опыте также показали, что применение нуклевита и гала-вета в период иммунизации цыплят против вирусных инфекций способствует увеличению среднесуточного прироста живой массы и повышению сохранности поголовья. Так, у цыплят, вакцинированных без иммуностимуляторов, средняя живая масса в день убоя составила $2,03$ кг при среднесуточном приросте живой массы $52,0$ г и сохранности поголовья $94,9$ % (пало 1300 цыплят).

У птиц 2-й группы, получавшей гала-вет, средняя живая масса составила $2,14$ кг при сохранности $95,1$ % (пало 1184 цыпленка). У цыплят 3-й группы, получавшей нуклевит, средняя живая масса составила $2,17$ кг при сохранности $95,5$ % (пало 1120 цыплят).

Экономический эффект при вакцинации птицы без иммуностимуляторов (1-я группа) составил 5331540 руб., при вакцинации с гала-ветом (2-я группа) – 7504200 руб., при иммунизации с нуклевитом (3-я группа) – 7562985 руб. Экономическая эффективность на один рубль затрат была соответственно: в 1-й группе – $6,14$ руб., во 2-й – $8,47$ и в 3-й – $8,54$.

Заключение. Применение иммуностимуляторов гала-вета и нуклевита в период иммунизации цыплят суточного возраста против вирусных болезней (БМ, ИБК, БН, ИББ) способствует формированию более напряженного поствакцинального иммунитета и повышению экономической эффективности ветеринарных мероприятий на $2,3$ – $2,4$ рубля на 1 рубль затрат по сравнению с птицей, вакцинированной без них.

Литература: 1. Анакина Ю.Г. Использование биологически активных препаратов в ветеринарии // Агрпромышленное производство: опыт, проблемы и тенденции развития. Сер. 3. – 1991. – № 4. – С. 93. 2. Бирман Б.Я., Громов И.Н. Иммунодефицит у птиц: практическое пособие. Минск: «Бизнесофсет», 2001. – 139 с. 3. Лазарева Д.Н., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. - М.: Медицина, 1985. – 256 с. 4. Иммулитет и его коррекция в ветеринарной медицине: монография / П.А. Красочко (и др.); под ред. П.А. Красочко; Смоленск, 2001. – 340 с.

УДК 636.5:611.018.41

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПУНКТАТА КОСТНОГО МОЗГА У ПТИЦ И ИЗУЧЕНИЕ МИЕЛОГРАММЫ ПРИ ВАКЦИНАЦИЯХ

Прудников В.С., Громов И.Н., Лях А.Л., Анисим И.А.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Введение

Костный мозг является одновременно органом кроветворения и органом иммунной системы. Несмотря на топографическую разобщенность, функционально костный мозг связан в единый орган благодаря миграции клеток и регуляторным меха-

низмам. Выделяют красный костный мозг и желтый (ожиревший). В миелоидной ткани красного костного мозга из стволовых клеток образуются клетки-предшественники, из которых путем деления и дифференцировки образуются эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и моноциты.

Морфологическое исследование костномозговых пунктатов широко используется в медицинской и ветеринарной практике [2, 3]. Состояние красного костного мозга характеризует статус иммунной системы и позволяет объективно оценить последний при заболеваниях различной этиологии, иммунизациях, иммунокоррекции, применении различных профилактических и лечебных препаратов. Изучение красного мозга является необходимым компонентом комплексного исследования иммунной системы птиц [1]. Однако получение пунктата костного мозга у птиц имеет определенные сложности. Они обусловлены высокой скоростью его свертывания, особенностями локализации в костях, а также достаточной прочностью костей скелета, обусловленной относительно большой степенью их минерализации.

Целью наших исследований явилась оптимизация способа получения костномозгового пунктата, исследование его у интактной и вакцинированной птицы.

Материалы и методы исследований

Исследования проведены на гусятах, цыплятах и ремонтном молодняке кур.

В 1-ом опыте были использованы 24 цыпленка 7-36-дневного возраста. Они подбирались по принципу аналогов и были разделены на 3 группы. Цыплята 1-ой группы (8 голов) были иммунизированы сухой живой вирус-вакциной из штамма "Винтерфильд 2512". Цыплят 2-ой группы (8 голов) иммунизировали сухой живой вирус-вакциной из штамма "Д 78".

Интактная птица 3-ей группы (8 голов) служила контролем.

Иммунизацию цыплят проводили согласно Наставлениям по применению вышеуказанных вакцин, перорально, двукратно, с интервалом 14 дней в 7- и 22-дневном возрасте. На 15-й день после 1-ой и 15-й день после 2-ой вакцинации у 4 цыплят из каждой группы проводили отбор и исследование костного мозга.

В 2-ом опыте исследования были проведены на 24 гусятах-аналогах 15-дневного возраста, разделенных на 2 группы, по 12 птиц в каждой. В 16-дневном возрасте 1-й группе птиц ввели жидкую инактивированную эмульсин-вакцину против пастереллеза из штаммов «КМИЭВ -26, 27, 28» в дозе 0,5 мл.

Птица 2-й группы служила контролем, ей инъекцировали 0,5 мл физиологического раствора. На 7-й, 14-й, 21-й дни после иммунизации у 4-х гусят каждой группы исследовали костный мозг.

В 3-м опыте исследования были проведены на 10 головах ремонтного молодняка кур 130-дневного возраста, разделенных на 2 группы, по 5 птиц в каждой. Птиц 1-ой группы иммунизировали жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против болезни Гамборо согласно Временному наставлению по ее применению, 1-кратно, внутримышечно, в дозе 0,5 мл. Интактная птица 2-ой группы служила контролем. На 14-й день после вакцинации у 5 птиц из каждой группы проводили отбор и исследование костного мозга.

Пунктат костного мозга птиц получали из прокси-

мального отдела большеберцовой кости, заплюсневой-плюсневой кости. Использовали иглы различного диаметра с различным углом скоса. Для аспирации пунктата применяли стеклянные шприцы типа "Рекорд" и пластмассовые шприцы типа "Луер" объемом 5-20 мл.

Миелограмму выводили, исходя из подсчета 1000 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза [2]. При подсчете костномозговых клеток поддерживались унитарной теории кроветворения, дополненной И.А. Болотниковым и Ю.В. Соловьевым [1].

Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [2, 3]:

- лейкоэритробластический индекс – соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков;
- костномозговой индекс созревания псевдозозинофилов – отношение молодых клеток псевдозозинофильной группы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым псевдозозинофилам (палочкоядерные, сегментоядерные);
- костномозговой индекс созревания зозинофилов - соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток зозинофильной группы;
- костномозговой индекс созревания эритрономобластов определяется отношением числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные нормоциты) к количеству всех клеток эритроидного ряда.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований показали, что наиболее приемлемым местом пункции костного мозга являются трубчатые кости тазовых конечностей. Наши наблюдения позволяют предположить более приемлемый вариант пункции красного костного мозга из верхней части диафиза плюсневозаплюсневой кости с латеральной её поверхности (рис. 1). Это обусловлено отсутствием препятствий в виде мышц и сухожилий в данной области. Кость имеет достаточную толщину для проведения пункции, локализуется непосредственно под малоподвижной кожей, хорошо фиксируется.

Введение пункционной иглы в кость необходимо проводить под прямым углом. При проникновении иглы в губчатую кость ощущается характерный хруст. Ряд исследователей предлагают отбирать костный мозг из диафиза большеберцовой кости (рис. 2). При этом хорошо развита мускулатура тазовых конечностей, во-первых, препятствует необходимой фиксации кости и выявлению точного места пункции. Во-вторых, при пункции часты случаи засорения просвета иглы мышечной тканью.

Для обеспечения безопасности исследователя и лучшей аспирации красного костного мозга мы рекомендуем использовать пластмассовые одноразовые шприцы типа "Луер" объемом 10 или 20 мл. Указанные объемы позволяют создать достаточное отрицательное давление и получить костномозговой пунктат в необходимом для дальнейшего ис-

следования количества. Наши исследования показали низкую практичность стеклянных шприцев, которые к тому же являются и травмоопасными.

Наилучшими для пункции, на наш взгляд, являются инъекционные иглы диаметром 1,7-2 мм с хорошо подогнанным мандреном, укороченные до 2 см со скосом жала 45° . Для фиксации скоса мандрена и жала иглы в одной плоскости на канюле иглы выпиливается канавка, в которую загибается свободный участок мандрена.

У птиц раннего возраста в связи с малой степенью минерализации кости пунктат костного мозга можно получать и без мандрена. Насасывание содержимого необходимо проводить до появления первой капли в канюле шприца. Иначе кровянистая ткань костного мозга смешивается с большим количеством крови.

Поскольку свертываемость костного мозга у птиц очень высокая, иглы и мандрены обязательно следует смочить раствором антикоагулянта (гепарин, натрия цитрат и др.). Из полученного пунктата костного мозга необходимо в кратчайшие сроки (до 15-20 секунд) приготовить мазок. В противном случае капля пунктата быстро свертывается.

Исследование пунктата костного мозга в 1-ом опыте выявило, что на 15-й день после 1-ой вакцинации у цыплят 1-ой группы число клеток миелобластического ряда составляло $49,8 \pm 3,61\%$, что было соответственно в 1,4 и 1,3 раза больше по сравнению с птицей 2-ой группы и контролем ($P < 0,05$). При этом увеличение числа миелобластических клеток происходило, главным образом, за счет клеток эозинофильной группы. Так, в костном мозге птиц 1-ой группы общее число эозинофилов составило $32,1 \pm 5,08\%$ (против $16,2 \pm 2,41\%$ у цыплят 2-ой группы и $20,1 \pm 2,47\%$ в контроле; $P < 0,05$).

Миелограмма цыплят 1-ой группы характеризовалась также снижением количества клеток эритробластического ряда до $46,3 \pm 1,01\%$ (в контроле - $52,5 \pm 0,62\%$; $P < 0,01$). При этом количество лимфоцитов, плазмочитов, ретикулярных клеток при этом существенно не отличалось от показателей в других группах. Показатели лейкоэритробластического индекса, костномозговых индексов созревания псевдозоинофилов и эозинофилов у цыплят 1-ой группы составляли соответственно $1,2 \pm 0,08$, $0,7 \pm 0,04$, $1,2 \pm 0,09$ и превышали контрольные значения $27-61\%$ ($P < 0,05$). Это свидетельствует об активизации миелоидного кроветворения, интенсивном омоложении гранулоцитарных клеток. Индекс созревания эритронормобластов при этом существенно не изменялся.

У цыплят 2-ой группы, иммунизированных вакциной из шт. "Д 78", отмечалось незначительное (на 15% ; $P_{2-3} > 0,05$) уменьшение по сравнению с контролем общего числа клеток миелобластического ряда, тогда как число эритробластических клеток, лимфоцитов и плазмочитов оставалось неизменным. Парциальные формулы различных форм костномозговых клеток находились в пределах контрольных данных.

На 15-й день после 2-ой вакцинации в миелограмме цыплят 1-ой группы общее число клеток миелобластического ряда нормализовалось по

сравнению с предыдущим сроком исследования и контролем, составляя $41,0 \pm 2,70\%$. Общее количество эритробластических клеток, а также моноцитов и митозов существенно не изменялось. Вместе с тем, выявлена тенденция к некоторому увеличению содержания лимфоцитов и плазматических клеток по сравнению с исходными данными.

Морфологический состав костного мозга цыплят 2-ой группы существенно не отличался от контроля. Отмечено лишь некоторое снижение по сравнению с исходными данными числа палочкоядерных псевдозоинофилов, моноцитов и одновременное увеличение количества клеток эозинофильной группы.

В клеточном составе костного мозга интактных птиц 3-ей группы значительных изменений по сравнению с исходными данными не наблюдалось.

Изучение парциальных формул различных групп костномозговых клеток показало, что у цыплят 1-ой группы по-прежнему происходила гиперплазия белого ростка, сопровождающаяся омоложением клеток эозинофильного ряда.

Показатели лейкоэритробластического и костномозгового индексов созревания эозинофилов увеличивались до $1,2 \pm 0,33$ и $1,6 \pm 0,07$ и превышали аналогичные показатели у птиц 2-ой группы соответственно в 1,4 и 1,7 раза, а в контроле - в 1,2 и 2,6 раза ($P < 0,05$). При этом костномозговые индексы созревания псевдозоинофилов и эритронормобластов существенно не отличались как от исходных данных, так и от показателей во 2-ой и 3-ей группах.

Исследование костномозгового пунктата во 2-ом опыте показало, что на 7-й день после иммунизации против пастереллеза у птиц 1-й группы количество клеток миелобластического ряда составило $52,1 \pm 1,76\%$ против $31,4 \pm 2,35\%$ в контроле. При этом рост осуществлялся за счет клеток всех рядов миелоидного ростка.

Лейкоэритробластический индекс в 1-й группе составил $1,7 \pm 0,13$ и в 2,4 раза превысил таковой показатель в контроле, что свидетельствует об активной гиперплазии клеток белого ростка у иммунной птицы. Индекс созревания псевдозоинофилов в 1-й группе гусят составил $0,3 \pm 0,03$ против $0,5 \pm 0,03$ в контроле. Количество клеток эозинофильного ряда в 1-й группе составило $33,0 \pm 1,64\%$ (в контроле - $2,7 \pm 1,22\%$), что свидетельствует об усиленной утилизации иммунных комплексов.

На 14-й день после иммунизации общее количество миелобластических клеток в 1-й группе птиц по-прежнему достоверно превышало контрольные показатели. Общее количество клеток эритробластического ряда в этот срок оставалось наибольшим в контроле.

Вместе с тем лейкоэритробластический индекс у иммунных гусят достоверно превышал контроль в 1,6 раза. Отмечена тенденция к увеличению клеток тромбоцитарного ряда в 1-й группе по сравнению с контрольной группой птиц. Рост этого показателя важен ввиду обладания тромбоцитами способностью к фагоцитозу антигенов. Соотношение количества моноцитов, плазмочитов и лимфоцитов между группами птиц оставалось неизменным.

На 21-й день после введения вакцины произош-

ло значительное уменьшение количества миелобластических клеток в группе иммунных гусят, преимущественно за счет клеток псевдозозинофильного и эозинофильного ряда, что является свидетельством затухания микрофагальной реакции. В 1-й группе птиц отмечено значительное увеличение (до $51,4 \pm 1,30\%$) количества клеток эритробластического ряда и нормализация данного показателя по сравнению с контролем. Это свидетельствует об активной пролиферации клеток красного ростка костного мозга у вакцинированной птицы.

Изучение пунктата костного мозга в 3-м опыте показало, что на 14-й день после вакцинации в миелограмме подопытного молодняка кур отмечалось некоторое увеличение числа клеток миелобластического ряда до $29,0 \pm 1,35\%$ (в контроле - $26,3 \pm 2,30\%$; $P > 0,05$) с одновременным снижением содержания эритробластических клеток до $49,6 \pm 2,90\%$ (в контроле - $57,3 \pm 2,24$; $P > 0,05$). Количество плазмочитов достоверно возросло по сравнению с контролем в 5,5 раза (с $0,6 \pm 0,11\%$ до $3,0 \pm 0,56\%$; $P < 0,05$).

Парциальные формулы костномозговых клеток птиц 1-ой группы характеризовались возрастанием

по сравнению с контролем лейкоэритробластического индекса (на 12%; $P > 0,05$) и костномозгового индекса созревания эозинофилов (в 1,7 раза; $P > 0,05$), а также снижением костномозгового индекса созревания псевдозозинофилов (на 17%; $P > 0,05$).

Заключение. Представленные в работе материалы позволяют исследователям оптимизировать получение качественного пунктата костного мозга для дальнейшего изучения. Анализ миелограммы птиц позволяет установить закономерности иммунорфмологической перестройки костного мозга при вакцинации, которые характеризуются увеличением количества клеток всех рядов миелоидного ростка, гиперплазией клеток тромбоцитарного ростка, увеличением лейкоэритробластического и индекса созревания эозинофилов.

Литература: 1. Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. – Л.: Наука, 1980. – С. 66-89. 2. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Мн.: Ураджай, 1986. – С. 16. 3. Коленкин С.М., Михеева А.И. Основные правила исследования пунктата костного мозга // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №2. – С.41-43.

УДК 619: 616. 98: 579. 843. 95: 636. 598: 612. 015

АКТИВНОСТЬ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗ У ГУСЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА

Радченко С.Л., Никандров В.Н., Громова Л.Н., Шоломицкий Д.В.
УО "Витебская государственная академия ветеринарной медицины"

Пастереллез (холера) птиц – широко распространенная инфекционная болезнь птиц, которая наносит большой экономический ущерб птицеводческим хозяйствам. В комплексе мероприятий по предупреждению пастереллеза птиц ведущее место занимает вакцинопрофилактика. В РНИУП "ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН РБ" разработана жидкая инактивированная эмульсион-вакцина против пастереллеза птиц из шт. "КМИЭВ-26, 27, 28". При этом биохимические реакции в органах иммунной системы гусей, привитых данной вакциной, мало изучены. Ряд исследователей для усиления иммуногенных свойств вакцин рекомендуют применять иммуностимуляторы [1,2], однако их влияние на биохимические аспекты формирования поствакцинального иммунитета изучено недостаточно.

Известно, что клетки иммунной системы птиц обладают высокой фосфатазной активностью. В-лимфоциты (заселяющие бурсу Фабрициуса птиц и В-зависимые зоны периферических органов иммунитета) обладают высокой активностью щелочной фосфатазы, а Т-лимфоциты (заселяющие тимус и Т-зависимые зоны периферических органов иммунной системы) и макрофаги - высокой активностью кислой фосфатазы. Щелочная фосфатаза (ЩФ) – фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (К.Ф. 3.1.3.1.) - гидролизует разные синтетические субстраты при оптимальном pH 10,0: при физиологических условиях фермент может использовать

различные субстраты [5]. Кислая фосфатаза (КФ) – фосфомоноэстераза II - проявляет оптимальное действие при pH=4,6 (К.Ф. 3.1.3.2.). ЩФ является гликопротеидом, по структуре это димер с кажущейся значительной вариацией молекулярной массы фермента в разных тканях [6]. ЩФ - металлофермент, в состав его активного центра входит атом цинка. Полагают, что атом цинка повышает активность фермента, обеспечивая конформационные изменения и гидролиз моноэфиров ортофосфорной кислоты [7]. Каждый мономер содержит три металлоосвязывающих центра. Лишенный ионов цинка фермент теряет активность, но восстанавливает ее после добавления металла [4]. При pH 9,5 и избытке ионов Zn^{+2} образуется тетрамер. Каждая субъединица имеет большой a/b домен, имеющий b-структуру, окруженную a-спиралью, и малый домен спиралевидной структуры [8]. Установлено, что только 2 атома цинка определяют каталитическую активность фермента, а 2 других необходимы для поддержания его структуры [9].

Активность фермента возрастает в присутствии ионов магния, для оптимальной активности необходимо адекватное соотношение ионов магния и цинка [5].

Существует теория, которая сводит эти реакции к частному случаю трансферазных реакций. Процессы гидролиза могут рассматриваться как перенос части молекулы субстрата к гидроксильной