

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИМФОИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЯХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО КАНАЛА И ФАБРИЦИЕВОЙ БУРСЕ ЦЫПЛЯТ НА ФОНЕ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА И ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК***Мищенко Л.П., **Громов И.Н., **Реутенко М.А.**

*ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан

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

*Пероральная иммунизация цыплят против инфекционного бронхита вирус-вакциной «Dalguban B+» на фоне применения кормового комплекса (пребиотика) «Анд Сид Перфект», кормовой добавки (подкислителя) «Анд Сид Оптима» и пробиотика «Миалакто» обеспечивает достоверное увеличение размеров лимфоидных узелков, площади диффузной лимфоидной ткани в пищеводной и слепкишиечных миндалинах, расширение и лимфатизацию корковой и мозговой зон лимфоидных узелков клоакальной сумки, по сравнению с применением антибиотика тилозина в стандартном рационе. **Ключевые слова:** вирус-вакцина, иммуноморфология, инфекционный бронхит, кормовые добавки, пищеварительный канал, пищеводная миндалина, слепкишиечные миндалины.*

STRUCTURAL CHANGES IN THE LYMPHOID FORMATIONS IN THE DIGESTIVE CANAL AND CLOACAL BURSA OF CHICKENS BY THE IMMUNIZATION AGAINST INFECTIOUS BRONCHITIS AND THE APPLICATION OF COMPLEX FODDER SUPPLEMENTS***Mishchenko L.P., **Gromov I.N., **Reutenko M.A.**

**Kazakh Research Institute of Livestock and Forage Production, Almaty, Republic of Kazakhstan

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

*The oral immunization of chickens against infectious bronchitis with the «Dalguban B+» virus-vaccine together with the use of the «Ande Cid Perfect» feed complex (prebiotic), «And Cid Optima» feed additive (acidifier) and the «Mialakto» probiotic causes a significant increase in the size of lymphoid nodules, the area of diffuse lymphoid tissue in the esophageal and caecal tonsils, expansion and lymphatization of the cortical and medullar zones of the lymphoid nodules of the cloacal bursa, compared with the use of the antibiotic tylosin in the standard diet. **Keywords:** virus-vaccine, immunomorphology, infectious bronchitis, feed additives, alimentary canal, esophageal tonsil, caecal tonsils.*

Введение. В странах ЕАС и СНГ постоянно ужесточаются требования к применению антибактериальных препаратов [1, 10]. Эффективной мерой профилактики и лечения болезней пищеварительного канала является применение комплексных добавок на основе пробиотиков, пребиотиков, фитобиотиков и подкислителей. Данные препараты являются альтернативой антибактериальным средствам: они безопасны и эффективны в биологической защите птиц, в том числе позволяют получить свободную от остаточных количеств лекарственных средств в продукцию [2, 4, 11]. Часто у птиц по различным причинам наблюдается иммунодефицитное состояние, которое отрицательно сказывается на организме птиц, устойчивости к заболеваниям и продуктивности. Имеется взаимосвязь между иммунной системой птицы, ее здоровьем и кишечной микрофлорой, представленной пробиотическими микроорганизмами. В настоящее время в ветеринарной практике применяются пробиотические препараты различного видового состава, предназначенные для коррекции кишечного биоценоза, стимуляции откорма, повышения естественной резистентности молодняка. Пробиотики в отличие от антибиотиков не вызывают привыкания условно-патогенных микроорганизмов [3, 12].

Разработка и изготовление лекарственных препаратов и кормовых добавок требует их обязательного морфологического обоснования, которое позволяет наиболее точно определить эффективность их применения на организм животных [5]. Особый интерес представляет изучение влияния комплексных кормовых добавок на морфологию пищеварительного канала, а также лимфоидной ткани, ассоциированной с пищеварительной трубкой, учитывая тесную взаимосвязь данных структур с содержимым и микрофлорой кишечника. Что касается литературных данных по этому вопросу, то они немногочисленны и носят фрагментарный характер. Остается также малоизученным влияние кормовых добавок на иммуноморфологические изменения в лимфоидном аппарате кишечника птиц, перорально иммунизированных живыми вирусными вакцинами.

Цель исследований – выявить структурные изменения в лимфоидном аппарате пищеварительного канала и фабрициевой бурсе цыплят на фоне иммунизации против инфекционного бронхита и применения комплексных кормовых добавок «Анд Сид Перфект», «Анд Сид Оптима» и «Миалакто».

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работы была выполнена в 2020–2021 гг. в лаборатории кафедры патанатомии и гистологии УО ВГАВМ, ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», а также в условиях птицефабрики ТОО «АСА DAMU» (Республика Казахстан).

Исследования были проведены на 3000 цыплят яичного кросса «Коралл» 1-104-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 3 группы, по 1000 птиц в каждой.

Цыплятам 1-й группы в рацион вводили следующие добавки:

- кормовой комплекс (пребиотик) «Анд Сид Перфект» (производитель: «FF Chemicals BV», Нидерланды; состав – аммония формиат – 6,3-7,7%, муравьиная кислота – 11,7-14,3%, натрия бутират – 22,5-27,5%, порошок цикория – 27,0-33,0%, кремнезем – 22,5-27,5%) в дозе 2 кг на тонну корма;
- кормовая добавка (подкислитель) «Анд Сид Оптима» (производитель: «FF Chemicals BV», Нидерланды; состав – муравьиная кислота – 27,0-33,0%, пропионовая кислота – 9,0-11,0%, лимонная кислота – 9,0-11,0%, бензойная кислота – 4,5-5,5%, чесночный порошок – 4,5-5,5%, кремнезем – 39,6-48,4%) в дозе 1 кг на тонну корма;
- пробиотик «Миалакто» (производитель: «Woogene B&G Co, Ltd», Южная Корея; состав – *Clostridium butyricum* – не менее 1x10⁶ КОЕ, *Lactobacillus plantarum* – не менее 1x10⁶ КОЕ, вспомогательные компоненты – дрожжи, глюкоза) в дозе 3 кг на тонну корма.

Все кормовые добавки задавали 3 курсами в одинаковые сроки: с 2 по 8 день, с 25 по 30 день и с 60 по 65 день опыта.

Цыплятам 2-й группы в рацион вводили кормовой комплекс «Анд Сид Перфект» и пробиотик «Миалакто». Указанные добавки применяли в те же сроки и в тех же дозах, что и птице 1 группы.

В возрасте 17 и 56 дней цыплят 1-й и 2-й групп перорально иммунизировали против инфекционного бронхита сухой живой вирус-вакциной «Himmvac Dalguban B+» (производитель – «KBNP, INC», Республика Корея). Вакцина содержит штамм «K2» (CE172, аналог нефропатогенного штамма «Qx»). Непосредственно перед употреблением вакцину растворяли в дистиллированной воде с добавлением стабилизатора «Севамун». После проведения иммунизации флаконы от вакцины были продезинфицированы.

Цыплятам 3-й (контрольной) группы выпаивали антибиотик «Тилозин» 2 курсами, в 1-3-дневном и 30-35-дневном возрасте, согласно схеме ветеринарных обработок, применяемой в хозяйстве. Пребиотики, пробиотики и подкислители они не получали. Иммунизация против ИБК не проводилась. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение.

В 30-дневном (на 14-й день после первой вакцинации) и 104-дневном возрасте (на 48-й день после повторной иммунизации) по 10 цыплят из каждой группы убивали для изучения гистологических изменений в фабрициевой бурсе и лимфоидной ткани, ассоциированной с пищеварительным каналом (пищеводная и слепкишишечные миндалины, пейеровы бляшки подвздошной кишки) [7, 8]. Эвтаназию птицы мы осуществляли согласно требованиям, изложенным в Европейской конвенции по защите домашних животных, а также в методических указаниях по гуманной эвтаназии домашних животных [9].

Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [6]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) микротоме «MICROM HM 340 E». Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилин–эозином и по Браше. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70». Гистологическое исследование проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6» (Россия). Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Результаты исследований. Пищеводная (эзофагиальная) миндалина локализовалась на границе железистого желудка и пищевода, была образована тонким слоем соединительной ткани и покрыта однослойным плоским эпителием. Кроме того, выявлялись фрагменты жировой клетчатки с артериями, венами и нервами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладких миоцитов, которые располагались циркулярно, косо и циркулярно. Большую часть слизистой оболочки занимали железы железистого желудка, окруженные тонкими прослойками мышечной пластинки слизистой оболочки. Собственная пластинка и эпителиальный слой образовали многочисленные складки, где выявлялись слизистые железы и лимфоидная ткань в виде диффузных скоплений и узелков (рисунок 1).

Во все сроки исследований число лимфоидных узелков в пищеводной миндалине цыплят подопытных и контрольной групп изменялись недостоверно. У 30-дневных подопытных птиц 1 группы отмечалось достоверное увеличение, по сравнению с контролем, размеров лимфоидных узелков на 38-65%, а также площади диффузной лимфоидной ткани – на 42%. Сходные, но менее выраженные изменения отмечались у подопытных цыплят 2 группы.

К 104-дневному возрасту микроморфометрические показатели пищеводной миндалины цыплят 2 группы постепенно нормализовались по сравнению с контрольными значениями. В то же время у цыплят 1 группы размеры лимфоидных узелков, а также площадь диффузной лимфоидной ткани были на 15-29% достоверно больше, чем у цыплят контрольной группы (рисунок 2). При мик-

роморфометрическом исследовании пейеровых бляшек цыплят 1 и 2 опытных групп 30- и 104-дневного возраста нами установлена тенденция к увеличению, по сравнению с показателями контрольной группы, числа и размеров лимфоидных узелков, площади диффузной лимфоидной ткани, однако изменения были недостоверными.

Гистологическое исследование слепки кишечных миндалин вблизи места бифуркации показало, что слизистая оболочка была обильно инфильтрирована диффузными скоплениями лимфоцитов. Площадь диффузной лимфоидной ткани в слепки кишечных миндалинах у цыплят 1 и 2 опытных групп составила соответственно $8771,35 \pm 329,12$ и $8154,75 \pm 91,25$ $\mu\text{м}^2$, а у птиц контрольной группы – $6346,47 \pm 498,84$ $\mu\text{м}^2$ ($P < 0,05$).

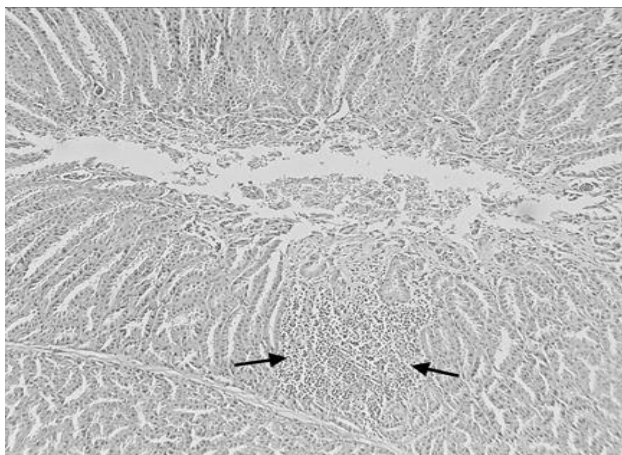


Рисунок 1 – Микрофото. Скопление диффузной лимфоидной ткани в слизистой оболочке пищеводной миндалины 30-дневного цыпленка 3 группы (контроль). Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

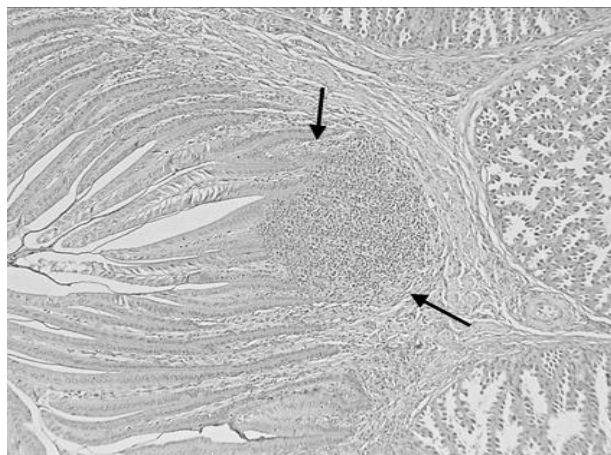


Рисунок 2 – Микрофото. Пищеводная миндалина 104-дневного цыпленка 1 опытной группы. Гиперплазия лимфоидного узелка. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

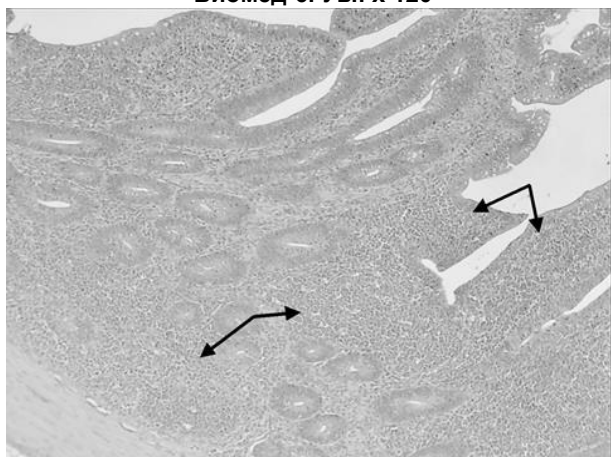


Рисунок 3 – Микрофото. Диффузная лимфоидная ткань в слизистой оболочке слепки кишечной миндалины 30-дневного цыпленка 3 группы (контроль). Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

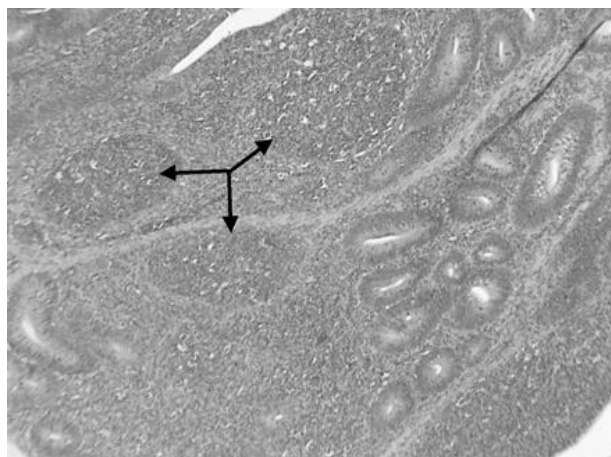


Рисунок 4 – Микрофото. Слепки кишечная миндалина 30-дневного подопытного цыпленка 1 группы. Формирование лимфоидных узелков. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

Среди диффузных скоплений лимфоидной ткани выявлялись многочисленные лимфоидные узелки ($7,75 \pm 0,28$ – $8,75 \pm 1,24$ на срезе). Их размеры у цыплят 1 опытной группы достоверно увеличивались по сравнению с контролем в 1,6-1,8 раза, а у птиц 2 группы – в 1,4-1,5 раза (рисунки 3, 4). Аналогичные изменения выявлены нами в цекальных миндалинах птиц 104-дневного возраста. Так, размеры лимфоидных узелков у цыплят контрольной группы варьировали в пределах $115,29 \pm 10,85$ – $234,18 \pm 17,75$ $\mu\text{м}$, а площадь диффузной лимфоидной ткани – $7153,50 \pm 615,25$ $\mu\text{м}^2$. У птиц 1 опытной группы данные показатели достоверно увеличивались по сравнению с контролем в 1,3-1,9 раза, а во 2 группе – в 1,2-1,7 раза.

При изучении клоакальной сумки птиц 1 и 2 групп отмечалась гиперплазия лимфоидных узелков. Это подтверждалось результатами микроморфометрических исследований (рисунки 5, 6). Так, в 30-дневном возрасте у цыплят 1 и 2 опытных групп размеры корковой зоны лимфоидных узелков фабрициевой бursы были соответственно в 2,7 и 2,8 раза больше ($P < 0,001$), чем в контроле. При этом размеры мозговой зоны фабрициевой бursы подопытных цыплят различались в 1,6-1,9 раза с показателями в контроле ($P < 0,01$). Соотношение корковой и мозговой зон лимфоидных узелков клоакальной сумки птиц 1 и 2 опытных групп составило $2,72 \pm 0,24$ – $3,31 \pm 0,31$, а у цыплят контрольной группы – $1,83 \pm 0,16$ ($P < 0,05$). Одновременно отмечались признаки выраженной лимфа-

тизации. Плотность лимфоцитов на условную единицу площади в корковой и мозговой зонах лимфоидных узелков фабрициевой бursы подопытных цыплят 1 и 2 групп достоверно возрастала по сравнению с контролем в 1,9-2,2 раза. У 104-дневных подопытных цыплят обеих групп размеры корковой и мозговой зон лимфоидных узелков фабрициевой бursы превышали контрольные значения в 1,8-2,2 раза ($P < 0,01$). Соотношение корковой и мозговой зон лимфоидных узелков клоакальной сумки птиц 1 и 2 опытных групп варьировало в пределах $3,17 \pm 0,28 - 3,29 \pm 0,35$ (в контроле – $2,57 \pm 0,30$; $P < 0,01$).

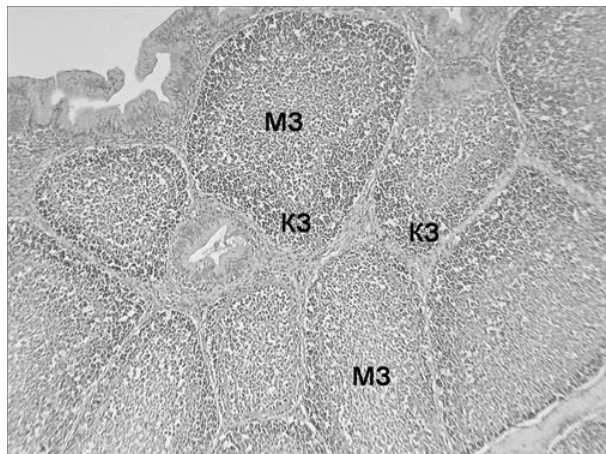


Рисунок 5 – Микрофото. Фабрициева бурса 30-дневного цыпленка 3 группы (контроль). Дифференциация лимфоидных узелков на корковую (кз) и мозговую (мз) зоны. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

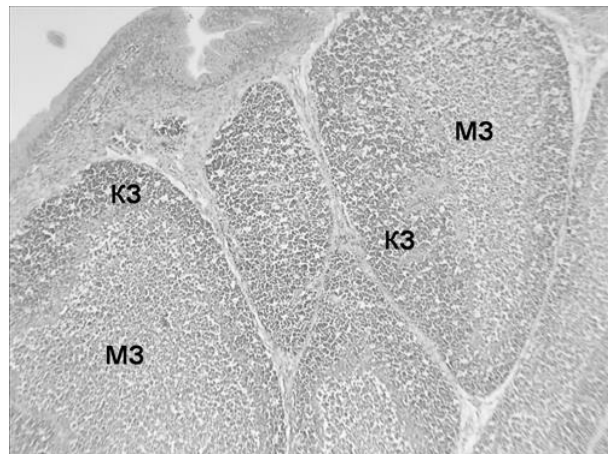


Рисунок 6 – Микрофото. Расширение корковой (кз) и мозговой зон (мз) лимфоидных узелков фабрициевой бursы 30-дневного цыпленка 1 группы. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Ув.: x 120

Плотность расположения лимфоцитов на условную единицу площади корковой и мозговой зон лимфоидных узелков фабрициевой бursы подопытных цыплят 1 и 2 групп нормализовалось с контрольными значениями.

Заключение. Пероральная иммунизация цыплят против инфекционного бронхита вирус-вакциной «Dalguban B+» из штамма «К-2» на фоне применения кормового комплекса (пребиотика) «Анд Сид Перфект», кормовой добавки (подкислителя) «Анд Сид Оптима» и пробиотика «Миалакто» вызывает достоверное увеличение размеров лимфоидных узелков, а также площади диффузной лимфоидной ткани в пищеводной и слепкишечных миндалинах, по сравнению с применением антибиотика тилозина в стандартном рационе. Введение в рацион вакцинированных цыплят кормового комплекса «Анд Сид Перфект» и пробиотика «Миалакто» (без применения подкислителя «Анд Сид Оптима») инициирует развитие сходных, но менее выраженных структурных изменений. Добавление в корм цыплят пребиотика «Анд Сид Перфект», подкислителя «Анд Сид Оптима» и пробиотика «Миалакто» на фоне иммунизации цыплят против ИБК не оказывает существенного влияния на микроморфометрические показатели лимфоидного аппарата пейеровых бляшек подвздошной кишки.

Иммунизация цыплят вирус-вакциной «Dalguban B+» на фоне применения пребиотика «Анд Сид Перфект», подкислителя «Анд Сид Оптима» и пробиотика «Миалакто» обуславливает развитие выраженных иммуноморфологических изменений в клоакальной сумке, которые сопровождаются расширением корковой и мозговой зон лимфоидных узелков, увеличением плотности расположения лимфоцитов в них.

Литература. 1. Бобылёва, Г. А. *Итоги работы птицеводческой отрасли России и задачи на будущее* / Г. А. Бобылёва // *Птица и птицепродукты*. – 2018. – № 2. – С. 4–6. 2. Гамко, Л. Н. *Влияние подкислителей на продуктивность и сохранность цыплят–бройлеров* / Л. Н. Гамко, Т. А. Таринская // *Птицеводство*. – 2015. – № 2. – С. 34–36. 3. Гибатова, Р. *Перспективы применения пробиотиков в птицеводстве* / Р. Гибатова // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2015. – № 7. – С. 6–10. 4. Гласкович, М. *Биологически активные добавки и их использование в птицеводстве* / М. Гласкович // *Ветеринарное дело*. – 2015. – № 6. – С. 19–24. 5. Громов, И. Н. *Морфология иммунной системы птиц при вакцинации против вирусных болезней* / И. Н. Громов. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – С. 20–60. 6. *Микроскопическая техника : руководство* / Д. С. Саркисов [и др.]; под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – Москва : Медицина, 1996. – 544 с. 7. Громов, И. Н. *Отбор и фиксация патологического материала для гистологической диагностики болезней птиц : рекомендации* / И. Н. Громов, В. С. Прудников, Н. О. Лазовская. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 24 с. 8. *Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие* / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с. 9. Полоз, А. И. *Методические указания по гуманной эвтаназии животных* / А. И. Полоз, А. Ю. Финогенов ; ИЭВ им. С. Н. Вышелесского. – Минск, 2008. – 45 с. 10. Фисинин, В. И. *Мировые и российские тренды развития птицеводства* / В. И. Фисинин // *Животноводство России*. – 2018. – № 4. – С. 2–4. 11. *Фитобиотик на защите иммунитета птицы* / Г. Ю. Лаптев [и др.] // *Птицеводство*. – 2019. – № 7/8. – С. 25–30. 12. Monika, J. *Significance of Probiotics and Prebiotics in Health and Nutrition*. / J. Monika, G. Khushboo, J. Payal // *Malaya Journal of Biosciences*. – 2014. – Vol. 1 (3). – P. 181–195.

Поступила в редакцию 19.10.2021.