

вием галавета и нуклевита, особенно на 5-ый день после 1-ой иммунизации в 1,5-2,2 раза возрастала по сравнению с контролем и птицей, вакцинированной без иммуностимуляторов масса тимуса, селезенки и бursы Фабриция. В дальнейшем эти показатели постепенно выравнивались и на 14-ый день после 2-ой иммунизации они уже существенно не отличались, за исключением массы бursы Фабриция, которая была по-прежнему больше у цыплят вакцинированных и получавших галавет.

Снижение прироста живой массы у вакцинированных цыплят без иммуностимуляторов свидетельствует об иммунодепрессивном действии вакцинных штаммов вирусов и о высокой реактогенности вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабина М.П. Повышение резистентности и стимуляция у цыплят-бройлеров// Информационный бюллетень по птицеводству. -Минск., 2002-№ 2-С.38-40
2. Бабина М.П. Профилактика иммунной недостаточности и связанных с нею болезней цыплят-бройлеров// Проблемы микробиологии и биотехнологии; Мат. Междунар. Конф.,г.Минск, 25-27 ноября 1998 г. -Минск, 1998.-С.152-153
3. Бирман; Б.Я., Громов И.Н., Громов И.Н. Иммунодефициты птиц.-Минск"Бизнесофест", 2001-139 с.
4. Прибытько С.П. Влияние иммуностимулятора натрия тиосульфата на иммунорегуляцию у цыплят, вакцинированных против болезни Марека; Дис канд. вет. наук: 16.00.02., Витебск, -1998-114с.
5. Придыбайло Н.Д., Афанасьева Г.Е., Яшшева Л.П. Иммуностимулирующие свойства тималина у птиц // роль полипептидных биорегуляторов (цитомединов) в регуляции гомеостаза: Тез. Докл. Науч. Конф., Ленинград, 24-25 ноября 1987 г.-Ленинград, 1987-С.83.

Л.Н. Громова, ассистент

В.М. Холод, доктор биологических наук, профессор

Б.Я. Бирман, доктор ветеринарных наук

И.Н. Громов, кандидат ветеринарных наук

Н.Ю. Германович, кандидат биологических наук, доцент

ДИНАМИКА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНАХ УТЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЭНТЕРОВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ

УО "Витебская государственная ордена "Знак Почета" академия ветеринарной медицины",

г. Витебск, Республика Беларусь

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского НАН Беларуси»,

г. Минск, Республика Беларусь

Объектам исследования служили утята 1-22-дневного возраста.

Целью исследований явилось изучение содержания ДНК и РНК в органах иммунной системы утят, иммунизированных против ЭВГУ жидкой вирус-вакциной с применением иммуностимуляторов.

Установлено, что парентеральная иммунизация утят против ЭВГУ увеличивает концентрации ДНК и РНК в органах иммунитета - тимусе, бурсе Фабриция, селезенке, железе Гардера. Это свидетельствует об активизации лимфопролиферативных процессов и антителосинтезирующей функции плазмочитов, секретирующих иммуноглобулины.

Введение вакцины совместно с натрия тиосульфатом способствует увеличению уровня нуклеиновых кислот в иммунокомпетентных органах утят. Применение альвеозана существенно не влияет на содержание ДНК и РНК в органах иммунной системы птиц. Использование плацентина вызывает угнетение синтеза нуклеиновых кислот в процессе формирования поствакцинального иммунного ответа против ЭВГУ.

Object of investigation were ducklings 1-22 days old.

Objective of research was the study of DNA and RNA content in organs of the immune system in ducklings immunized against EVH (enteroviral hepatitis) by fluid viral vaccine with the application of immunostimulators.

It has been stated, that parenteral immunization of ducklings against EVH increases the concentration of DNA and RNA in the immune organs - thymus, bursa Fabricius, spleen, Garder's gland. It show the activation of lymphoproliferative processes and antibody synthesizing function of plasmocytes secreting immunoglobulines.

Vaccinating with sodium tioulsulphate promotes the increase of nucleic acids level in immunocompetent organs of ducklings. The application of alveozan does not essentially influence the DNA and RNA content in organs of avian immune system. The of placentin causes the depression of nucleic acids synthesis in the process of formation of vaccinate immune response against EVH of ducklings.

Введение. Изучению процессов иммуногенеза у птиц, вакцинированных против инфекционных болезней, посвящено значительное количество работ в отечественной и зарубежной литературе. При этом большинство исследований направлено на установление иммуноморфологических изменений у вакцинированных птиц, а также на оценку напряженности поствакцинального гуморального иммунитета (определение титров специфических антител). Возможные биохимические изменения в организме животных, сопровождающие вакцинный процесс, изучены крайне недостаточно.

В работах ряда исследователей [2, 3, 4] показано, что формирование поствакцинального иммунитета у животных сопряжено с интенсификацией обмена нуклеиновых кислот в органах и тканях. Поэтому определение уровня нуклеиновых кислот в органах иммуногенеза дает объективную оценку иммунного статуса млекопитающих и птиц, изменяющегося при использовании живых и инактивированных вакцин. Так, изучение уровня ДНК в иммунокомпетентных органах позволяет судить о степени выраженности пролиферативных процессов (бласттрансформация Т- и В-лимфоцитов) в ответ на введение антигена. Изменение содержания РНК в органах иммунной системы вакцинированных птиц свидетельствует об усилении или угнетении их белоксинтезирующей (в том числе антителосинтезирующей) функции и объективно отражает состояние гуморального звена иммунного ответа.

Таким образом, изучение обмена нуклеиновых кислот в центральных и периферических органах иммуногенеза вакцинированных животных позволяет судить не только о состоянии иммунного статуса, но и о степени иммуногенности и остаточной реактогенности используемых вакцин.

Для снижения остаточных реактогенных и иммунодепрессивных свойств живых вирус-вакцин против инфекционных болезней животных рекомендуется применять иммуностимуляторы [1]. При этом влияние иммуностимуляторов на состояние обмена нуклеиновых кислот у млекопитающих и птиц, вакцинированных против инфекционных болезней, также не изучено.

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований явилось изучение содержания нуклеиновых кислот в органах иммунной системы утят, парентерально иммунизированных против энтеровирусного гепатита (ЭВГУ) жидкой вирус-вакциной из шт. "КМИЭВ-16" с применением иммуностимуляторов: микробного полисахарида альвеозана, натрия тиосульфата и плацентина.

Материал и методы исследований. Исследования были проведены на 75 утятах 1-22-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов, и разделенных на 5 групп, по 15 птиц в каждой.

Утятам 1-ой группы (контроль) в 1-дневном возрасте инъецировали 0,2 мл стерильного изотонического (0,85%-ного) раствора натрия хлорида, однократно, внутримышечно, в область бедра.

Утят 2-ой группы иммунизировали жидкой вирус-вакциной из шт. "КМИЭВ-16" против ЭВГУ согласно временному наставлению по применению вакцины (без применения иммуностимуляторов), однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,2 мл.

Утята 3-ой группы были иммунизированы совместно с иммуностимулятором микробным полисахаридом альвеозаном (в дозе 5 мг на птицу).

Птице 4-й группы вакцину вводили совместно с иммуностимулятором 7%-ным водным раствором натрия тиосульфата.

Утят 5-ой группы иммунизировали совместно с иммуностимулятором плацентином (в дозе 0,1 мл на птицу).

Иммунизацию птиц 2-5-ой опытных групп проводили в 1-дневном возрасте. Непосредственно перед употреблением вакцину растворяли (в соотношении 1:100) в стерильном изотоническом 0,85%-ном растворе натрия хлорида.

За всей птицей было установлено клиническое наблюдение.

На 7-ой, 14-й и 21-й дни после вакцинации по 5 утят из каждой группы убивали. Из тимуса, бursы Фабрициуса, селезенки и железы Гардера готовили гомогенаты на 0,25 М растворе сахарозы. В полученных гомогенатах определяли содержание дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК) по Шмидту и Тангаузеру [5] с последующим выведением соотношения ДНК/РНК.

Полученные данные были обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований показали, что в тимусе 8-дневных утят 1-ой группы (контроль) (в сроки на 7-ой день после иммунизации) содержание ДНК составляло $15,35 \pm 1,69$ мг/г ткани (рис. 1).

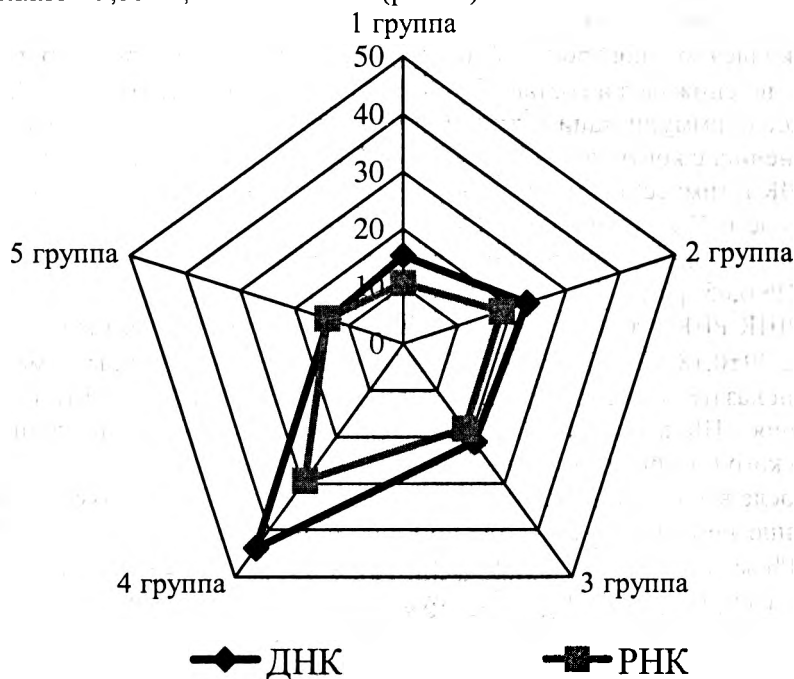


Рис. 1. Содержание ДНК и РНК в тимусе утят на 7-ой день после вакцинации против ЭВГУ (в мг/г ткани).

У подопытных птиц 2-ой и 3-й групп указанный показатель увеличивался по сравнению с контролем в 1,4 - 1,5 раза ($P < 0,05$), а утят 4-ой группы - в 2,9 раза ($P < 0,001$). Это связано, вероятно, с активизацией процессов размножения и первичной антигеннезависимой дифференцировки предшественников Т-лимфоцитов в тимусе. У подопытных утят 5-ой группы данный показатель существенно не изменялся по сравнению с контролем, а по отношению к иммунной птице 2-ой группы был ниже на 40% ($P < 0,001$).

Содержание РНК в тимусе 8-дневных интактных утят составляло $10,57 \pm 1,30$ мг/г ткани (рис. 1). У иммунных птиц 2-ой и 3-й групп концентрация РНК возрастала по сравнению с контролем в 1,7 раза ($P < 0,05$). У птиц 5-ой группы содержание РНК в тимусе находилось на уровне контрольных показателей. Иммунизация утят 4-ой группы совместно с натрия тиосульфатом приводила к достоверному увеличению концентрации РНК в 2,8 раза по сравнению с контролем и в 1,6 раза по сравнению с птицей 2-й группы, вакцинированной без иммуностимуляторов. Это свидетельствует о высоком уровне процессов биосинтеза белка как пластического материала в Т-лимфоцитах – предшественниках зрелых Т-лимфоцитов.

Соотношение ДНК/РНК в тимусе утят контрольной группы на 7-й день после вакцинации составляло $1,45 \pm 0,06$. Это соотношение характерно для тимуса. Паренхимой органа является лимфоэпителиальная ткань, в которой преобладающим типом клеток являются тимоциты (Т-лимфоциты тимуса), характеризующиеся очень высоким ядерно-цитоплазматическим отношением (ЯЦО). Иммунизация птиц 4-ой группы вызывала увеличение данного показателя по сравнению с контролем в 1,2 раза ($P < 0,001$). Это свидетельствует о преобладании пролиферативной способности тимоцитов над процессами роста клеток в период интерфазы между делениями. У подопытных утят 2-ой, 3-й и 5-ой групп коэффициент ДНК/РНК снижался и составлял соответственно $1,26 \pm 0,03$ ($P < 0,05$), $1,14 \pm 0,06$ ($P < 0,05$) и $0,98 \pm 0,01$ ($P < 0,001$).

На 14-й день после вакцинации концентрация ДНК в тимусе утят контрольной группы существенно не отличалась по сравнению с исходными данными. У подопытных утят 2-5-ой групп происходило снижение содержания ДНК до уровня $10,96 \pm 0,25$ – $17,50 \pm 0,25$ мг/г ткани. Это обусловлено, по-видимому, усилением миграции иммунокомпетентных Т-лимфоцитов из тимуса в кровь.

Концентрация РНК в тимусе подопытных птиц 2-ой и 5-ой групп существенно не отличалась от контрольных показателей, а у вакцинированных утят 3-й и 4-ой групп - снижалась соответ-

венно в 1,3 ($P>0,05$) и 1,5 ($P<0,01$) раза. Это указывает на возможное снижение белоксинтезирующей функции органа.

Соотношение ДНК/РНК в тимусе утят всех групп уменьшалось по сравнению с предыдущим сроком исследований. При этом у подопытных утят 2-ой, 3-й и 4-ой групп данный показатель существенно не отличался от контроля. У иммунизированных утят 5-ой группы коэффициент ДНК/РНК значительно снижался и составлял $0,86\pm 0,06$ (в контроле $1,06\pm 0,1$; $P<0,05$).

На 21-й день после иммунизации у птиц 3-ой и 5-ой групп содержание ДНК в тимусе нормализовалось по сравнению с контролем, а у утят 2-ой и 4-ой групп - возрастало на 12-26% ($P<0,05$).

Содержание РНК в тимусе подопытных утят 3-ой и 5-ой групп существенно не изменялось по сравнению с контролем. У иммунных птиц 4-й группы концентрация РНК составила $17,98\pm 0,74$ мг/г ткани, что было достоверно выше по сравнению с птицей 1-ой и 2-ой групп соответственно в 1,6 ($P<0,001$) и 1,2 ($P<0,05$) раза.

Соотношение ДНК/РНК в тимусе утят 1-ой, 2-ой, 3-й и 5-ой групп было примерно одинаковым и составляло $1,39\pm 0,18$ - $1,53\pm 0,07$. У подопытных утят 4-ой группы отмечено достоверное снижение данного показателя на 31% по сравнению с контролем ($P<0,05$), что было связано с увеличением содержания РНК в органе. Это указывает на высокую степень процессов биосинтеза белка как пластического материала в тимоцитах.

На 7-ой день после вакцинации концентрация ДНК в бурсе Фабрициуса птиц 2-ой, 4-ой и 5-ой групп существенно не отличалась от контроля. У иммунных утят 3-ой группы концентрация ДНК была на 28-31% меньше по сравнению с контролем и птицей 2-ой группы, иммунизированной без применения иммуностимуляторов. Иммунизация птиц 2-5-ой групп вызывала достоверное повышение уровня РНК на 27-50% по сравнению с контролем. В результате у подопытных утят всех групп происходило уменьшение коэффициента ДНК/РНК с $1,01\pm 0,04$ (контроль) до $0,58\pm 0,04$ - $0,69\pm 0,05$ ($P<0,01$). Это указывает на возможную активизацию процессов биосинтеза белка как пластического материала в В-лимфоцитах – предшественниках зрелых В-лимфоцитов.

На 14-й день после вакцинации у утят 3-й и 5-ой групп концентрация ДНК была ниже, чем у птиц 2-ой группы, соответственно на 25% и 33% ($P<0,05$; $P<0,001$). Это указывает на возможное усиление миграции В-лимфоцитов в кровь для участия в иммунных реакциях, либо свидетельствует о подавлении процессов размножения и первичной антигеннезависимой дифференцировки предшественников зрелых форм В-лимфоцитов.

Содержание РНК в бурсе Фабрициуса подопытных утят 2-5-ой групп незначительно снижалась по сравнению с предыдущим сроком исследований и составляла $10,10\pm 0,10$ - $13,90\pm 2,68$ мг/г ткани. При этом соотношение ДНК/РНК в бурсе Фабрициуса вакцинированных птиц всех групп было по-прежнему выше, чем в контроле.

На 21-й день после вакцинации у неиммунных утят отмечалось дальнейшее снижение уровня ДНК по сравнению с предыдущим сроком исследования. Вероятно, это связано с постепенным созреванием В-лимфоцитов бursы в раннем постнатальном онтогенезе. Зрелые В-лимфоциты имеют меньшие размеры ядра и цитоплазмы, по сравнению с В-лимфоцитами. У птиц 2-ой группы содержание ДНК было в 2,8 раза выше, чем в контроле ($P<0,01$), а у утят 3-5-ой групп - в 1,4-1,6 раза ($P<0,05$). При этом соотношение ДНК/РНК в бурсе вакцинированных птиц 2-5-ой групп возрастало с $0,62\pm 0,03$ (контроль) до $0,81\pm 0,03$ - $1,57\pm 0,08$ ($P<0,05$).

На 21-й день после вакцинации у птиц 2-5-ой опытных групп зарегистрировано значительное уменьшение содержания РНК в 1,3-2 раза ($P<0,05$) по сравнению с предыдущим сроком исследований и нормализация данного показателя по сравнению с контролем.

В селезенке подопытных птиц 2-ой и 4-ой групп на 7-ой день после вакцинации концентрация ДНК была соответственно в 1,6 и 1,3 раза выше ($P<0,05$), чем в контроле (рис. 2). Это связано, вероятно, с активизацией процессов размножения и вторичной антигензависимой дифференцировки Т- и В-лимфоцитов в селезенке в ответ на введение вакцинного антигена. У подопытных утят 3-й и 5-ой групп данный показатель существенно не изменялся по сравнению с контролем, а по отношению к иммунной птице 2-ой группы был достоверно ($P<0,001$) ниже в 1,8 раза.

Содержание РНК в селезенке 8-дневных интактных утят составляло $8,96\pm 0,59$ мг/г ткани (рис. 2).

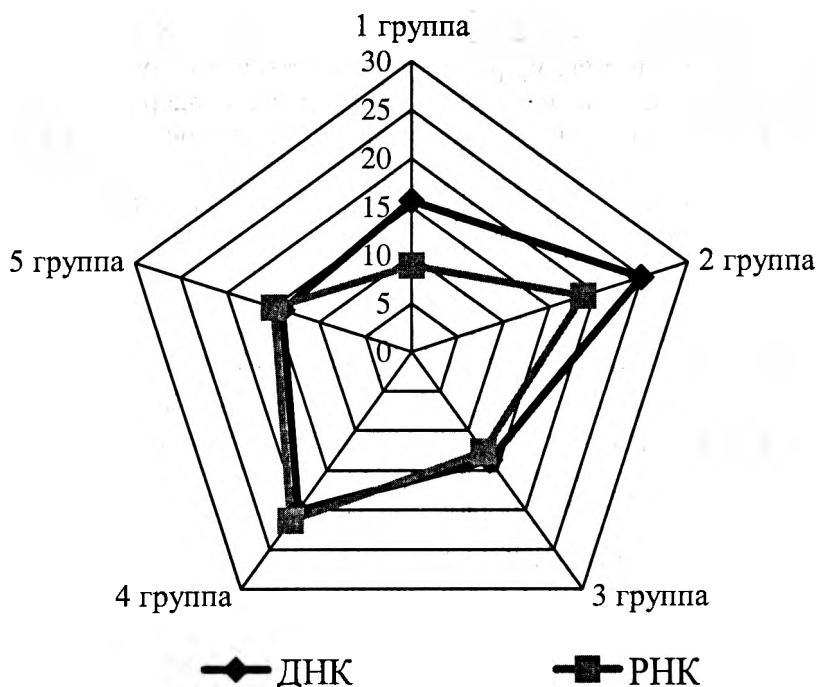


Рис. 2. Содержание ДНК и РНК в селезенке утят на 7-ой день после вакцинации против ЭВГУ (в мг/г ткани).

У иммунных птиц 2-ой, 3-й и 5-ой групп концентрация РНК возрастала до уровня $12,72 \pm 1,94$ - $18,71 \pm 0,90$ ($P < 0,05$) мг/г ткани. У утят 4-ой группы данный показатель достигал $21,35 \pm 2,59$ мг/г ткани ($P < 0,05$). Это свидетельствует о возможном усилении антителосинтезирующей функции плазмоцитов, секретирующих иммуноглобулины (IgG, IgA, IgM) и обеспечивающих гуморальные реакции иммунитета.

На 14-й день после вакцинации концентрация ДНК в селезенке птиц 2-5-ой групп снижалась до уровня $9,37 \pm 0,56$ - $13,95 \pm 0,42$ мг/г ткани. При этом содержание РНК достоверно увеличивалось по сравнению с контролем в 1,3-1,5 раза ($P < 0,01$). В результате у иммунных утят всех групп происходило уменьшение коэффициента ДНК/РНК с $1,27 \pm 0,05$ (контроль) до $0,77 \pm 0,03$ - $0,91 \pm 0,09$ ($P < 0,05$). Это обусловлено, по-видимому, активизацией синтеза белка в иммунокомпетентных клетках.

На 21-й день после иммунизации содержание ДНК и РНК в селезенке подопытных птиц 2-5-ой групп уменьшалось по сравнению с предыдущим сроком исследований и контролем. Эти изменения обусловлены снижением антителосинтезирующей функции селезенки, что свидетельствует о возможном затухании иммунных реакций в эти сроки исследований.

Концентрация ДНК в железе Гардера у 8-дневных интактных утят (в сроки на 7-ой день после вакцинации) составляла $2,64 \pm 0,63$ мг/г ткани. Низкое содержание ДНК в железе Гардера по сравнению с другими изученными нами органами иммунной системы утят, возможно, связано с низким развитием лимфоидной ткани и преобладанием в паренхиме эпителиальной железистой ткани. Клетки эпителия, как известно, характеризуются низкими ЯЦО и содержанием ДНК. У подопытных птиц 2-5-ой групп данный показатель существенно не отличался от контроля. При этом у иммунных утят 3-й группы концентрация ДНК была на 46% меньше ($P < 0,05$) по сравнению с птицей 2-ой группы, иммунизированной без применения иммуностимуляторов.

Концентрация РНК в железе Гардера у контрольных утят составляла $14,81 \pm 1,04$ мг/г ткани. У подопытных утят 2-ой, 4-ой и 5-ой групп отмечено достоверное повышение уровня РНК по сравнению с контролем на 33-58%.

Отношение ДНК/РНК у птиц контрольной и подопытных групп было примерно одинаковым и составляло $0,14 \pm 0,03$ - $0,18 \pm 0,04$. Относительно низкий коэффициент ДНК/РНК обусловлен, по-видимому, преобладанием в паренхиме органа эпителиальной ткани, образующей экзокринные концевые отделы железы, и слабым развитием лимфоидной ткани.

На 14-й день после вакцинации содержание ДНК в железе Гардера иммунных птиц 2-ой, 3-й и 5-ой групп существенно не отличалось от контроля. У утят 4-ой группы концентрация ДНК была в 1,4 раза выше ($P < 0,05$), чем у птиц 2-ой группы. Это указывает на возможное усиление процессов размножения и вторичной антигензависимой дифференцировки лимфоцитов под влиянием имму-

ностимулятора. Содержание РНК у подопытных утят 2-ой, 4-ой и 5-ой групп незначительно снижалось по сравнению с предыдущим сроком исследований и нормализовалась по сравнению с контролем. При этом соотношение ДНК/РНК в железе Гардера птиц всех групп (контрольной и опытных) было примерно одинаковым и находилось на уровне $0,13 \pm 0,01 - 0,18 \pm 0,04$.

На 21-й день после вакцинации содержание ДНК в железе Гардера у утят 2-ой и 4-ой было в 1,5 раза выше, чем в контроле. Концентрация РНК у утят 1-ой, 2-ой, 4-й и 5-ой групп достоверно не отличалась по сравнению с предыдущим сроком исследований и составляла $13,16 \pm 0,96 - 15,95 \pm 0,13$ мг/г ткани. У иммунизированных утят 3-ой группы данный показатель превышал контрольные значения в 1,4 раза ($P < 0,05$).

Соотношение ДНК/РНК у вакцинированных птиц 2-ой и 4-ой групп увеличивалось до уровня $0,22 \pm 0,02 - 0,23 \pm 0,03$ (в контроле - $0,18 \pm 0,01$). У утят 3-й и 5-ой групп коэффициент ДНК/РНК снижался и составлял соответственно $0,12 \pm 0,02$ и $0,13 \pm 0,04$ ($P > 0,05$).

Выводы

1. Однократная парентеральная иммунизация утят против ЭВГУ жидкой вирус-вакциной шт. "КМИЭВ-16" увеличению концентрации ДНК и РНК в центральных органах иммунитета - тимусе и бурсе Фабрициуса. Это свидетельствует об активизации процессов пролиферации (размножения) и высоком уровне биосинтеза белка как пластического материала в Т- и В-лимфообластах - предшественниках зрелых Т- и В-лимфоцитов.

2. В периферических органах иммунной системы (селезенка, железа Гардера) вакцинированных утят содержание ДНК и РНК достоверно возрастает, что указывает на усиление лимфопролиферативных процессов и антителосинтезирующей функции плазмочитов, секретирующих иммуноглобулины.

3. Введение вакцины совместно с натрия тиосульфатом способствует увеличению уровня нуклеиновых кислот в иммунокомпетентных органах вакцинированных утят. Применение альвеозана существенно не влияет на содержание ДНК и РНК в органах иммунной системы птиц. Использование плацетина вызывает угнетение синтеза нуклеиновых кислот в процессе формирования поствакцинального иммунного ответа против ЭВГУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирман Б.Я., Громов И.Н. Иммунодефициты птиц: Практическое пособие. – Мн.: УП "Бизнесофсет", 2001. – 140 с.
2. Конопатов Ю.В., Болотников И.А., Лебедева А.И. Влияние сульфадимезина и левомицетина на содержание общего белка в крови и нуклеиновых кислот в некоторых органах цыплят при вакцинации против пастереллеза // Методы иммунологии птиц / Карельский филиал АН СССР. – Петрозаводск, 1976. – С. 59-67.
3. Фан Тхань Фьонг. Нуклеиновые кислоты в лимфоидной ткани у кур, вакцинированных аэрозольным и подкожным методами против пастереллеза птиц // Вестник сельскохозяйственной науки, 1969. - №3. – С. 121.
4. Хоанг Ван Тьен. Динамика нуклеиновых кислот и титр антител у цыплят, привитых против псевдочумы // Ветеринария, 1968. - №9. – С. 26-27.
5. Шевченко Н.А., Шевченко В.Г. Выделение, количественное определение и анализ нуклеиновых кислот у сельскохозяйственных животных (Методические указания). – Боровск, 1984. – С. 6-8.

УДК 619:616.98:579.887.111-76.636.4

Н.Н. Андросик, доктор ветеринарных наук, профессор

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТТОГЕНЕЗА МИКОПЛАЗМОЗА У СВИНЕЙ

РНИУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского НАН Беларуси", г. Минск, Республика Беларусь