

УДК 619:616.98:578.822.2:615.37

*И.Н. ГРОМОВ, кандидат ветеринарных наук, доцент

*В.С. ПРУДНИКОВ, доктор ветеринарных наук, профессор

**Б.Я. БИРМАН, доктор ветеринарных наук, профессор

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

**РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

ИММУНОМОРФОГЕНЕЗ У КУР, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА

Объектом исследования служил ремонтный молодняк кур 130 - 144-дневного возраста.

Целью работы явилось изучение иммуноморфологических реакций у ремонтного молодняка кур при парентеральной иммунизации их против инфекционного ларинготрахеита жидкой инактивированной эмульсин-вакциной.

Установлено, что при парентеральной иммунизации ремонтного молодняка кур против ИЛТ в органах иммунной системы птиц развиваются выраженные иммуноморфологические изменения, характеризующиеся усилением пролиферативной и миграционной способности лимфоцитов в тимусе и бурсе Фабрициуса, активизацией плазмочитарной реакции в бурсе Фабрициуса, селезенке и слепкишиечных миндалинах, лейкоцитозом, псевдозозинофилией. Показано, что иммунизация птиц против ИЛТ обеспечивает достоверное повышение уровня специфических противовирусных антител в 2,2 - 4,5 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует о создании достоверно напряженного поствакцинального иммунитета против данной болезни.

Subject under investigation were hen youngsters 130-144 days old.

The immunomorphogenesis in hen youngsters parenteral immunized by liquid inactivated oil-emulsion vaccine against infectious laryngotracheitis have been investigated.

The outcomes of researches have shown, that application of this vaccine for parenteral immunisation of hen youngsters against infectious laryngotracheitis induced expressed immunomorphological processes in thymus, bursa Fabricius, spleen, caecal tonsils and blood. The immunisative of this vaccine increases the level of specific serum antibodies, contributes to development of higher, active immunity against infectious laryngotracheitis.

Введение. В комплексе мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционного ларинготрахеита кур (ИЛТ) основное место уделяется проведению специфической профилактики, которая предусматривает парентеральную иммунизацию ремонтного молодняка кур инактивированными вакцинами с целью создания трансовариального иммунитета у птиц раннего возраста, а также применение цыплятам живых вирус-вакцин по мере снижения уровня пассивных материнских антител [3, 4].

Для иммунизации ремонтного молодняка кур против ИЛТ на птицефабриках Республики Беларусь используются зарубежные вакцины, имеющие высокую коммерческую стоимость. В связи с этим в БелНИИЭВ разработана жидкая инактивированная эмульсин-вакцина против ИЛТ. В настоящее время проходят ее широкие производственные испытания. Применение указанной вакцины в птицеводческих хозяйствах РБ является наиболее перспективным, учитывая более низкую, по сравнению с зарубежными аналогами, стоимость. Иммуноморфогенез у птиц при использовании данной вакцины не изучен. Вместе с тем иммуноморфологическое обоснование разрабатываемых и внедряемых в производство вакцин является обязательным [3, 5].

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований явилось изучение иммуноморфологических реакций у ремонтного молодняка кур при парентеральной иммунизации их против ИЛТ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной БелНИИЭВ

Материал и методы исследований. Исследования были проведены на 24 головах ремонтного молодняка кур 130-144-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов, и разделенных на 2 группы, по 12 птиц в каждой.

Птиц 1-ой (опытной) группы иммунизировали жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против ИЛТ согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл.

Интактная птица 2-ой группы служила контролем.

За всей птицей было установлено клиническое наблюдение.

На 3-й, 7-ой и 14-й день после вакцинации от 4-5 птиц из каждой группы брали кровь для морфологических исследований и получения сыворотки. В эти же сроки по 4 птицы из каждой группы убивали. Для иммуноморфологических исследований отбирали кусочки тимуса, бursы Фабрициуса и слепки кишечника миндалин. Материал фиксировали в жидкости Карнуа, а затем подвергали уплотнению путем заливки в парафин.

Для дифференциации иммунокомпетентных клеток срезы окрашивали по Браше. Для объективной оценки характера изменений в органах иммунной системы птиц определяли содержание Т- и В-лимфоцитов, лимфо- и плазмобластов, незрелых и зрелых плазмочитов, митозов, подсчитывали общее количество клеточных элементов. Подсчет клеточных элементов проводили в 50 полях зрения микроскопа (объектив x 90, окуляр x 10, бинокуляр x 1,5).

На гистологических срезах тимуса и бursы Фабрициуса при 50-кратном наложении морфометрической линейки определяли абсолютные размеры коркового и мозгового вещества долек тимуса и лимфоидных узелков бursы Фабрициуса (объектив x 8, окуляр x 10, бинокуляр x 1,5). Затем вычисляли соотношение этих величин. Площадь элементов стромы и паренхимы в тимусе определяли, используя методику точечного счета с наложением окулярной сетки Г. Г. Автандилова [7]. Количество лимфоцитов, приходящееся на условную единицу площади сетки Г. Г. Автандилова, подсчитывали при 50-кратном наложении ее на корковую и мозговую зону долек тимуса (объектив x 40, окуляр x 10, бинокуляр x 1,5).

Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева после разведения крови по методике А. А. Кудрявцева и А. А. Кудрявцевой [6]. Мазки крови птиц готовили на тонких обезжиренных предметных стеклах, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле и окрашивали по Романовскому-Гимза. Лейкограмму выводили на основании подсчета 100 клеток. Контроль напряженности поствакцинального иммунитета против ИЛТ осуществляли путем постановки РНГА [3, 4].

Цифровые данные обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. На 3-й день после вакцинации у птиц 1-ой группы зарегистрировано некоторое уменьшение размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса при увеличении удельного объема паренхимы в них. Плотность расположения тимоцитов существенно не изменялась.

На 7-ой день после иммунизации размеры коркового вещества долек тимуса у подопытных птиц возрастали по сравнению с предыдущим сроком исследования и превышали контрольный показатель на 20%. Размеры мозгового вещества и плотность тимоцитов на условную единицу площади оставались неизменными. Однако иммунизация птиц против ИЛТ приводила к достоверному увеличению удельного объема паренхимы в 1,3 раза по сравнению с контролем при одновременном уменьшении удельного объема стромы. Это означает, что иммунизация ремонтного молодняка кур против ИЛТ вызывает усиление пролиферативной активности Т-клеток в тимусе.

На 14-й день после вакцинации морфометрические показатели тимуса вакцинированных птиц нормализовались по сравнению с контролем.

При гистологическом исследовании бursы Фабрициуса подопытных цыплят на 3-й день после иммунизации установлено расширение корковой, и сужение мозговой зон лимфоидных узелков по сравнению с интактной птицей. Плотность расположения лимфоцитов в корковой зоне достоверно возросла по сравнению с контролем в 1,4 раза, а в мозговой – наоборот, снижалась. Это свидетельствует об усилении пролиферативных процессов в органе. Одновременно у иммунных цыплят статистически достоверно увеличивалось количество плазмобластов и проплазмочитов в 12 и 2 раза соответственно, по сравнению с интактной птицей (рис. 1, 2).

На 7-ой день после иммунизации размеры корковой и мозговой зон лимфоидных узелков подопытных птиц снижались по сравнению с контролем на 30-40%, а плотность лимфоцитов в корковой зоне - в 1,5 раза. Это свидетельствует о возможном усилении миграции В-лимфоцитов в периферические органы иммунной системы для осуществления иммунных реакций.

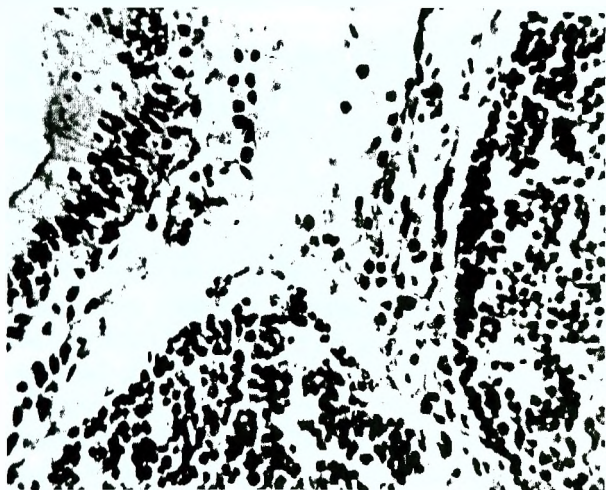


Рис. 1. Микрофото. Слизистая оболочка бурсы Фабрициуса интактного ремонтного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). В собственной пластинке содержится небольшое количество лимфоцитов, бластов и проплазмоцитов. Окраска гематоксилин-эозином $\times 480$.



Рис. 2. Микрофото. Слизистая оболочка бурсы Фабрициуса ремонтного молодняка кур 1-ой группы на 3-й день после вакцинации против ИЛЛТ. В собственном слое выражена бласт-трансформация лимфоцитов и значительное увеличение количества плазмоцитов. Окраска гематоксилин-эозином $\times 480$.

Сходные изменения в бурсе Фабрициуса у птиц, иммунизированных против ИЛЛТ, наблюдали В.Ф. Бабкин [1, 2] и Г.А. Красников [5]. Одновременно, в слизистой оболочке бурсы вакцинированного ремонтного молодняка кур статистически достоверно увеличивалось количество плазмоцитов.

На 14-й день после вакцинации морфометрические показатели бурсы Фабрициуса, а также содержание плазматических клеток у иммунных птиц нормализовались и существенно не отличались от контрольных показателей.

В селезенке цыплят опытной группы на 3-й день после вакцинации наблюдалась активизация микро- и макрофагальной реакции, возрастало количество плазматических клеток. Число лимфобластов у вакцинированных цыплят было выше в 1,7 раза, а проплазмоцитов – в 1,5 раза по сравнению с контролем (рис. 3, 4).

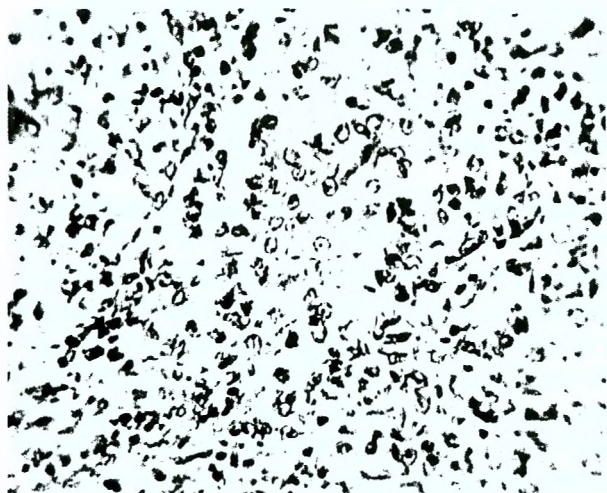


Рис. 3. Микрофото. Селезенка интактного ремонтного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). Среди клеточных элементов преобладают макрофаги, лимфоциты и проплазмоциты. Окраска гематоксилин-эозином $\times 480$.



Рис. 4. Микрофото. Селезенка ремонтного молодняка кур 1-ой группы на 3-й день после вакцинации против ИЛЛТ. Активизация плазмоцитарной реакции. Окраска гематоксилин-эозином $\times 960$.

Сходные изменения в селезенке у птиц, вакцинированных против ИЛТ, наблюдали В.Ф. Бабкин [1, 2] и Г.А. Красников [5].

Количество и размеры лимфоидных узелков в селезенке интактного и подопытного ремонтного молодняка кур были примерно одинаковыми.

На 7-ой день после иммунизации в селезенке опытных цыплят отмечалось повышение содержания плазмоцитов в 1,7 раза по сравнению с контролем и существенно не изменялось количество бластных форм лимфоцитов

К 14-му дню после вакцинации содержание всех форм плазматических клеток, а также морфометрические показатели в селезенке у иммунной птицы 1-ой группы не отличалось от их уровня в контроле.

В слепкишечных миндалинах птиц 1-ой группы на 3-й день после вакцинации отмечено увеличение размеров лимфоидных узелков на 30% по отношению к интактной птице. Кроме того, у вакцинированных цыплят отмечалось достоверное увеличение по сравнению с контролем числа лимфобластов в 1,6 раза и проплазмоцитов в 1,9 раза (рис. 5, 6).



Рис. 5. Микрофото. Слепкишечные миндалины интактного ремонтного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). В собственной пластинке слизистой оболочки слабо выражена плазмоцитарная реакция. Окраска гематоксилин-эозином $\times 480$.

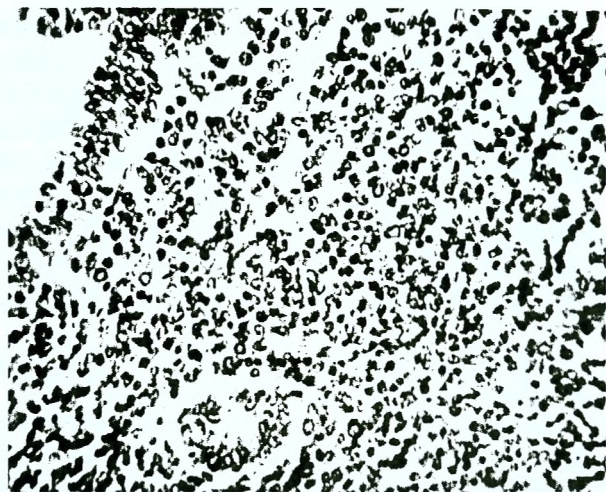


Рис. 6. Микрофото. Слепкишечные миндалины ремонтного молодняка кур 1-ой группы на 3-й день после вакцинации против ИЛТ. Активизация плазмоцитарной реакции с увеличением количества плазмобластов и проплазмоцитов. Окраска гематоксилин-эозином $\times 480$.

На 7-ой день после вакцинации размеры лимфоидных узелков, а также число бластных форм лимфоцитов в слепкишечных миндалинах подопытных птиц нормализовались по сравнению с контролем. Вместе с тем количество плазмоцитов у иммунной птицы было выше на 80%, чем у интактных цыплят.

На 14-й день после иммунизации морфометрические показатели, а также содержание всех форм плазматических клеток в цекальных миндалинах у птиц 1-ой и 2-ой групп существенно не отличались.

Обобщая результаты иммуноморфологических исследований следует отметить, что парентеральная иммунизация ремонтного молодняка кур против ИЛТ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной сопровождалась соответствующей морфологической перестройкой в центральных (тимус, бурса) и периферических (селезенка, слепкишечные миндалины) органах иммунной системы птиц, свидетельствующей о формировании иммунитета против данной болезни.

В крови вакцинированных птиц на 3-й день после иммунизации отмечалось возрастание, по сравнению с контролем, числа лейкоцитов – в 1,5 раза, эритроцитов – в 1,4 раза, при этом количество тромбоцитов существенно не изменялось. В лейкограмме иммунизированного ремонтного молодняка кур наблюдалось увеличение в 1,3 раза числа псевдоэозинофилов по сравнению с интактной птицей и существенно изменялось количество других клеток.

На 7-ой день после иммунизации содержание эритроцитов в крови птиц 1-ой группы продолжало оставаться высоким, тогда как число лейкоцитов и тромбоцитов снижалось по отношению к

контролю. Однако количество псевдоэозинофилов в лейкограмме иммунного ремонтного молодняка кур по-прежнему было в 1,6 раз выше, чем у интактных птиц.

На 14-й день после вакцинации гематологические показатели вакцинированных птиц нормализовались и существенно не отличались от контроля.

Серологическое исследование проб сыворотки крови в РНГА на 3-й день после вакцинации показало, что у птиц подопытной группы титр специфических антител был в 2,2 раза выше, чем в контроле ($P < 0,01$).

На 7-ой день после вакцинации у вакцинированных птиц 1-ой группы уровень специфических антител продолжал возрастать до $4,5 \pm 0,28 \log_2$ и был в 4,5 раза выше, чем у интактного ремонтного молодняка кур ($P < 0,01$).

На 14-й день после вакцинации у иммунных птиц 1-ой группы наблюдалось дальнейшее повышение титра специфических антител до $7,0 \pm 0,56 \log_2$ ($P < 0,001$).

ВЫВОДЫ

1. При парентеральной иммунизации ремонтного молодняка кур против ИЛТ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной (БелНИИЭВ) в органах иммунной системы птиц развиваются выраженные иммуноморфологические изменения, характеризующиеся усилением пролиферативной и миграционной способности лимфоцитов в тимусе и бурсе Фабрициуса, активизацией плазмоцитарной реакции в бурсе Фабрициуса, селезенке и слепкишичных миндалинах, лейкоцитозом, псевдоэозинофилией.

2. Парентеральная иммунизация ремонтного молодняка кур против ИЛТ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной (БелНИИЭВ) обеспечивает достоверное повышение уровня специфических противовирусных антител в 2,2 - 4,5 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует о создании достаточно напряженного поствакцинального иммунитета против ИЛТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабкин В.Ф. Эффективность аэрозольной вакцинации птицы против инфекционного ларинготрахеита // Ветеринария: Респ. межвед. темат. науч. сб. – Киев, 1990. – Вып.65. – С. 3-5.
2. Бабкин В.Ф. Инфекционный ларинготрахеит птиц (разработка инактивированных вакцин, методов диагностики и системы противоэпизоотических мероприятий) : Автореф. дис... д-ра вет. наук, Харьков. – 1996. – 30с.
3. Бирман Б.Я., Дягилев К.К., Громов И.Н. Инфекционный ларинготрахеит птиц. – Мн.: ПЧУП “Бизнесофсет”, 2002. – 72 с.
4. Вирусные болезни животных / Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В. и др. – Москва, ВНИТИБП. – 1998. - С. 672-682.
5. Гистоморфология иммунокомпетентных органов бройлеров в норме и после применения препарата БАВ-2 при иммунодефицитах и вакцинации против инфекционного ларинготрахеита / Г.А. Красников, Н.Н. Соса, Н.Г. Колоусова // Ветеринария: Респ. межвед. темат. науч. сб. – Киев, 1990. – Вып.65. – С. 12-16.
6. Кудрявцев А.А., Кудрявцева А.А. Клиническая гематология животных. – М.: Колос, 1974. – 399 с.
7. Стрельников А.П., Самуйленко А.Я., Стрельников В.А. Лимфоидная ткань – орган иммунитета // Адаптация и регуляция физиологических процессов в хозяйствах с промышленной технологией: Сб. науч. трудов./ Моск. вет. акад. – М., 1985. – С. 79-81.

УДК 619:616.98:578.822.2:615.37

**П.А. КРАСОЧКО, доктор ветеринарных наук, профессор*

**А.П. ЛЫСЕНКО, доктор ветеринарных наук, профессор*

***Е.В. ВОЛОСЯНКО, доктор ветеринарных наук*

СПОНТАННАЯ ПЕРСИСТЕНЦИЯ ГЕНОМА ИНФЕКЦИОННЫХ ВИРУСОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ, ПРИВОДЯЩАЯ К БИОСИНТЕЗУ ВИРУС СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

**РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь*

***Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины Украинской академии аграрных наук, г. Харьков, Украина*