

УДК 636.5:611.4:612.071.1:615.37

Громов И.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент *
Прудников В.С., доктор ветеринарных наук, профессор *
Бирман Б.Я., доктор ветеринарных наук, профессор **

* УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", г. Витебск

** РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского", г. Минск

**ВЛИЯНИЕ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА НА ИММУНОМОРФОГЕНЕЗ У КУР,
ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ,
ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА, ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА
И НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ**

Целью работы было изучение влияния натрия тиосульфата на иммуноморфогенез у молодняка кур, привитых 4-валентной инактивированной эмульсионной вакциной против инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита, инфекционного ларинготрахеита и Ньюкаслской болезни. Установлено, что при иммунизации птиц указанной вакциной в органах иммунной системы птиц развиваются соответствующие иммуноморфологические изменения, характеризующиеся увеличением удельного объема лимфоидной ткани и расширением корковой зоны лимфоидных узелков в фабрициевой бурсе, увеличением числа лимфоидных узелков в селезенке, активизацией бласттрансформации лимфоцитов и плазмоцитарной реакции в бурсе Фабрициуса, селезенке и слепокшищечных миндалинах. При иммунизации птиц совместно с натрием тиосульфатом в органах иммунной системы птиц развиваются более выраженные морфологические изменения, по сравнению с применением одной вакцины

The influence of sodium thiosulphate on the morphology of immune system of hen youngsters parenteral immunized by liquid inactivated oil-emulsion vaccine against infectious bursal disease (IBD), infectious bronchitis (IB), infectious laryngotracheitis (ILT) and Newcastle disease (ND) have been investigated. Results of researches have shown, that at immunization of birds described increase in specific volume lymphoid tissue and expansion of cortical zone of lymphoid follicles in bursa of Fabricius, increase in number of lymphoid follicles in a spleen, activation of blast transformation of lymphocytes and plasmatisation in bursa of Fabricius, spleen and caecal tonsils. The positive influence of the 7% water solution of sodium thiosulfate on current immunomorphological responses in an organism of birds parenteral immunisation of hen youngsters against IBD, IB, ILT and ND with the liquid inactivated oil-emulsion vaccine is revealed

ВВЕДЕНИЕ

Усовершенствование специфической профилактики инфекционных заболеваний птиц путем разработки отечественных ассоциированных вакцин является приоритетным направлением научных исследований и имеет важное прикладное значение. Сотрудниками РУП "ИЭВ им. С.Н. Вышелесского" разработаны несколько вариантов моно- и поливалентных вакцин против наиболее опасных инфекционных болезней: инфекционного бронхита (ИБК), инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ), Ньюкаслской болезни (НБ) и инфекционной бурсальной болезни (ИББ). Указанные биопрепараты имеют более низкую, по сравнению с зарубежными аналогами, стоимость. Морфологические изменения в органах иммунной системы молодняка кур при использовании указанных биопрепаратов не изучены. При этом использование морфологических методов исследования позволяет оценивать не только иммуноморфологические реакции, но и иммунопатологические изменения, сопровождающие вакцинный процесс [1].

Иммуностимулирующие препараты различных групп играют важную роль в борьбе с иммунодефицитами у птиц, усиливают иммуногенность и снижают реактогенность вакцин, способствуя развитию более напряженного иммунитета [2]. Поэтому исследования по изучению возможности усиления иммунного статуса птиц путем применения иммуностимуляторов имеют важное научно-практическое значение.

Целью наших исследований явилось изучение влияния натрия тиосульфата на иммуноморфогенез у молодняка кур, привитых 4-валентной инактивированной эмульсин-вакциной против ИББ, ИБК, ИЛТ и НБ, разработанной в РНИУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелеского НАН Беларуси».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на 60 головах молодняка кур 130-158-дневного возраста, разделенных на 3 группы, по 20 птиц в каждой. Птице 1-ой группы вакцину вводили совместно с натрия тиосульфатом (7%-ный водный раствор). Предварительно 10 мл вакцины смешивали с 2,5 мл свежеприготовленного 35%-ного водного раствора натрия тиосульфата. Полученную смесь вводили однократно, внутримышечно, в дозе 0,6 мл. Птицу 2-ой группы иммунизировали жидкой инактивированной эмульсин-вакциной против ИББ, ИБК, ИЛТ и НБ согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в дозе 0,5 мл (без иммуностимулятора). Интактная птица 3-й группы служила контролем. Иммунизацию проводили в 130-дневном возрасте.

На 3-й, 7-ой, 14-й, 21-й и 28-ой дни после вакцинации по 4 птицы из каждой группы убивали. Для изучения иммуноморфологических реакций отбирали кусочки тимуса, фабрициевой бursы и селезенки.

Материал фиксировали в 10%-ном растворе формалина и жидкости Карнуа, а затем подвергали уплотнению путем заливки в парафин [3]. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Браше.

В тимусе и бурсе Фабрициуса при 50-кратном наложении морфометрической линейки определяли абсолютные размеры коркового и мозгового вещества долек тимуса и лимфоидных узелков бursы Фабрициуса (объектив х 10, окуляр х 10, бинокуляр х 1,5). Площадь элементов стромы и паренхимы в тимусе и бурсе определяли, используя методику точечного счета с наложением окулярной сетки Г. Г. Автандилова [4]. Количество лимфоцитов, приходящееся на условную единицу площади сетки Г. Г. Автандилова, подсчитывали при 50-кратном наложении ее на корковую и мозговую зону долек тимуса и лимфоидных узелков бursы Фабрициуса (объектив х 40, окуляр х 10, бинокуляр х 1,25). На гистологических срезах селезенки и слепкишечных миндалин определяли число и размеры лимфоидных узелков. Для объективной оценки характера изменений в органах иммунной системы птиц определяли содержание Т- и В-лимфоцитов, лимфо- и плазмобластов, незрелых и зрелых плазмоцитов, подсчитывали общее количество клеточных элементов (объектив х 90, окуляр х 10, бинокуляр х 1,5).

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На 3-й день после вакцинации размеры мозгового вещества долек тимуса у птиц всех групп (подопытных и контрольной) были примерно одинаковыми и находились в пределах $371,50 \pm 26,40$ – $410,00 \pm 55,34$ мкм. Размеры коркового вещества долек у молодняка кур 1-ой группы достигали $497,00 \pm 58,43$ мкм, что было соответственно в 1,2 ($P > 0,05$) и 1,9 ($P < 0,05$) раза больше, чем у птиц 2-ой и 3-й групп. При этом соотношение размеров коркового и мозгового вещества у иммунных птиц 1-ой группы возрастало до $1,28 \pm 0,05$ (против $0,70 \pm 0,09$ в контроле; $P < 0,01$). У молодняка кур 2-ой группы данный показатель изменялся недостоверно. Удельные объемы структурных элементов паренхимы в тимусе молодняка кур 1-ой и 2-ой групп составляли соответственно $91,50 \pm 1,40\%$ ($P < 0,05$) и $90,00 \pm 0,56\%$, ($P > 0,05$) а у птиц 3-й группы – $88,00 \pm 0,56\%$.

На 7-ой день после вакцинации размеры коркового вещества долек у подопытных птиц 1-ой и 2-ой групп уменьшались по сравнению с предыдущим сроком исследований, но были достоверно больше, чем в контроле. Размеры мозгового вещества долек тимуса у иммунных птиц обеих групп также уменьшались по сравнению с исходными данными. Плотность расположения лимфоцитов в мозговом веществе долек, а также соотношение элементов стромы и паренхимы в тимусе подопытных птиц находились на уровне контрольных показателей. Введение вакцины совместно с натрия тиосульфатом способствовало достоверному увеличению, по сравнению с контролем, плотности расположения тимоцитов в корковом веществе долек органа.

На 14-й день после вакцинации у вакцинированных птиц 1-ой и 2-ой групп установлено дальнейшее уменьшение размеров коркового вещества долек при одновременном снижении плотности расположения тимоцитов в нем. Соотношение размеров коркового и мозгового вещества долек, а также удельных объемов стромы и паренхимы у контрольных и подопытных птиц в эти сроки исследований были примерно одинаковыми.

На 21-й день после иммунизации у иммунных и интактных птиц установлена тенденция к уменьшению размеров коркового вещества долек при снижении удельных объемов лимфоидной ткани. Размеры же мозгового вещества долек и удельные объемы стромы наоборот, увеличивались. При этом морфометрические показатели тимуса молодняка кур 1-ой, 2-ой и 3-й групп были примерно одинаковыми. На 28-й день после вакцинации у птиц всех групп соотношение размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса продолжало уменьшаться, составляя $0,53 \pm 0,07 - 0,61 \pm 0,15$. Другие морфометрические показатели тимуса интактного и подопытного молодняка кур не имели значимых отличий по сравнению с предыдущим сроком исследований.

На 3-й день после вакцинации размеры мозговой зоны лимфоидных узелков бursы Фабрициуса у птиц всех групп были примерно одинаковыми. Размеры корковой зоны узелков у молодняка кур 1-ой и 2-ой групп были соответственно в 1,4 и 1,9 раза больше ($P < 0,05$), чем у птиц 3-й группы. При этом соотношение корковой и мозговой зон узелков у подопытных птиц изменялось недостоверно. При изучении плотности расположения лимфоцитов в лимфоидных узелках значимых различий между группами птиц не установлено. Иммунизация ремонтного молодняка кур совместно с натрия тиосульфатом (1-ая группа) способствовала достоверному увеличению удельного объема лимфоидной ткани по сравнению с контролем. Кроме того, у птиц 1-ой группы отмечалось достоверное увеличение, по сравнению с контролем, числа плазмобластов и проплазмоцитов соответственно в 3,6 и в 2,6 раза. Введение птице 2-ой группы вакцины без иммуностимулятора вызывало меньшую активизацию бластной и плазмочитарной реакций в бурсе.

На 7-й день после иммунизации размеры корковой зоны лимфоидных узелков бursы у подопытных птиц 1-ой и 2-ой групп составили соответственно $205,25 \pm 22,47$ и $180,75 \pm 17,13$ мкм (в контроле - $137,00 \pm 13,48$ мкм). Кроме того, в бурсе вакцинированных птиц, как и в предыдущие сроки исследований, отмечалось увеличение по сравнению с контролем удельного объема лимфоидной ткани при уменьшении удельного объема стромы ($P < 0,05$). Плотность расположения лимфоцитов в структурных компонентах лимфоидных узелков бursы подопытных птиц также достоверно увеличивалась по сравнению с контрольными данными. При этом наиболее выраженные изменения мы отмечали у кур 1-ой группы. Количество проплазмоцитов и плазмоцитов в бурсе Фабрициуса птиц 1-ой группы достоверно превышало контрольные значения в 2 раза, а у кур 2-ой группы – в 1,8-1,9 раза.

На 14-й день после вакцинации у птиц 1-ой и 2-ой групп размеры корковой и мозговой зон лимфоидных узелков бursы Фабрициуса были незначительно меньше, чем в кон-

троле. При этом плотность лимфоцитов в корковой и мозговой зонах лимфоидных фолликулов бурсы птиц 1-ой, 2-ой и 3-й групп была примерно одинаковой. Соотношение элементов стромы и паренхимы в бурсе интактного молодняка кур составляло $0,24 \pm 0,05$, а у подопытных птиц - $0,18 \pm 0,05$ - $0,21 \pm 0,05$ ($P > 0,05$). Изучением плазмоцитарной реакции в бурсе иммунного молодняка кур 1-ой группы установлено увеличение количества плазмоцитов в 1,6 раза по отношению к контролю ($P < 0,05$).

На 21-й и 28-ой дни после иммунизации размеры корковой и мозговой зон лимфоидных узелков в бурсе Фабрициуса интактных и подопытных птиц постепенно снижались по сравнению с исходными данными. При изучении плотности расположения лимфоцитов в структурных компонентах лимфоидных фолликулов, а также удельных объемов стромы и паренхимы в бурсе иммунного молодняка кур 1-ой и 2-ой групп выявлена тенденция к нормализации указанных показателей по сравнению с контролем. Морфологический состав иммунокомпетентных клеток в слизистой оболочке фабрициевой бурсы птиц 1-ой и 2-ой групп также не имел существенных отличий по сравнению с контрольными показателями.

При гистологическом исследовании селезенки на 3-й день после вакцинации было установлено, что у птиц 1-ой группы число лимфоидных узелков достоверно увеличивалось по сравнению с контролем в 2 раза, а у молодняка кур 2-ой группы – в 1,8 раза. При этом размеры лимфоидных узелков изменялись не достоверно. Содержание лимфобластов и плазмобластов в селезенке птиц 1-ой группы достоверно превышало контрольные показатели в 1,8-1,9 раза, а у молодняка кур 2-ой группы – в 1,5-1,7 раза.

На 7-ой день после иммунизации, как и в предыдущие сроки исследований, у иммунного молодняка кур обеих групп наблюдалось достоверное увеличение числа лимфоидных узелков по сравнению с контрольными данными. Кроме того, у птиц 1-ой группы отмечалась выраженная гиперплазия лимфоидных узелков, что выражалось в достоверном увеличении размеров последних. Количество лимфо- и плазмобластов в селезенке иммунного молодняка кур нормализовалось по сравнению с контрольными значениями, а содержание плазмоцитов наоборот, увеличивалось в 1,4-1,8 раза ($P < 0,05$).

На 14-й день после вакцинации при микроскопическом исследовании селезенки вакцинированных птиц выявлена тенденция к постепенному уменьшению числа и размеров лимфоидных узелков по сравнению с контролем. Количество зрелых плазматических клеток в селезенке птиц 1-ой группы превышало контрольные значения в 1,5 раза ($P < 0,05$). У молодняка кур 2-ой группы эти изменения были менее выражены.

При изучении микроморфометрических показателей селезенки на 21-й и 28-ой дни после вакцинации достоверных различий между группами птиц установлено не было. Морфологический состав иммунокомпетентных клеток в селезенке вакцинированных птиц обеих групп постепенно нормализовался по сравнению с контрольными показателями.

В слепкишичных миндалинах птиц всех групп на 3-й день после вакцинации обнаруживались лимфоидные узелки в количестве от $7,00 \pm 1,97$ до $8,75 \pm 1,97$ на срезе. Размеры лимфоидных фолликулов у молодняка кур всех групп варьировали от $77,55 \pm 9,55$ до $83,50 \pm 5,62$ мкм. У подопытных птиц 1-ой и 2-ой групп отмечена активизация бластной реакции.

На 7-ой день после иммунизации микроморфометрические показатели цекальных миндалин молодняка кур всех групп не имели значимых различий по сравнению с исходными данными. В диффузных скоплениях лимфоидной ткани миндалин птиц 1-ой и 2-ой групп происходило активное накопление плазматических клеток. В последующем (на 14-й, 21-й и 28-й дни после иммунизации) мы наблюдали постепенное затухание плазмоцитарной реакции. Число и размеры лимфоидных узелков у интактного и подопытного молодняка кур в эти сроки исследований изменялись не достоверно.



Рисунок 1. Микрофото. Тимус интактного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). В дольках наблюдается дифференцировка паренхимы на корковое и мозговое вещество. Окраска гематоксилин-эозином (x120).



Рисунок 2. Микрофото. Тимус птиц 1-ой группы на 3-й день после вакцинации. Расширение коркового вещества долек. Окраска гематоксилин-эозином (x120).

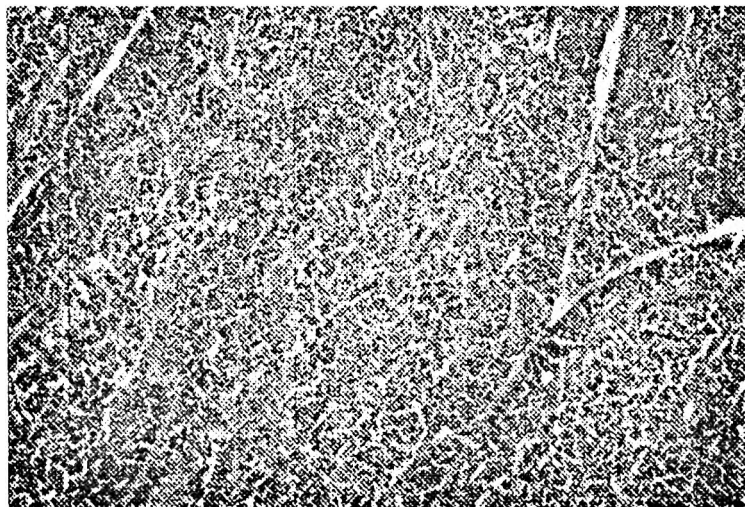


Рисунок 3. Микрофото. Бурса Фабрициуса интактного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). В складках слизистой оболочки залегают лимфоидные узелки. Окраска гематоксилин-эозином (x240).

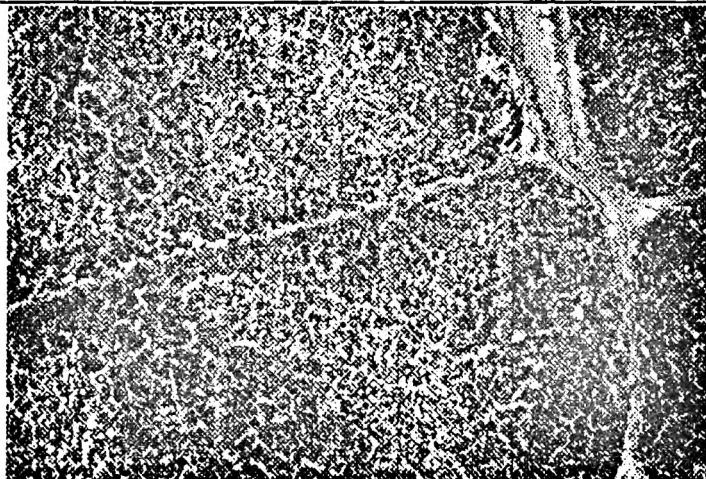


Рисунок 4. Микрофото. Фабрициева бурса птиц 1-ой группы на 3-й день после вакцинации. Расширение коркового слоя лимфоидных узелков. Окраска гематоксилин-эозином (x240).

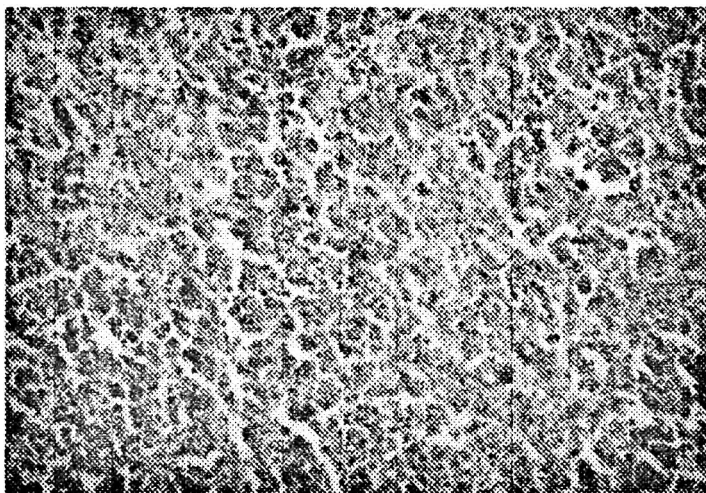


Рисунок 5. Микрофото. Селезенка интактного молодняка кур 133-дневного возраста (в сроки на 3-й день после вакцинации птиц 1-ой группы). Умеренная плазмоцитарная реакция. Окраска по Браше (x480).

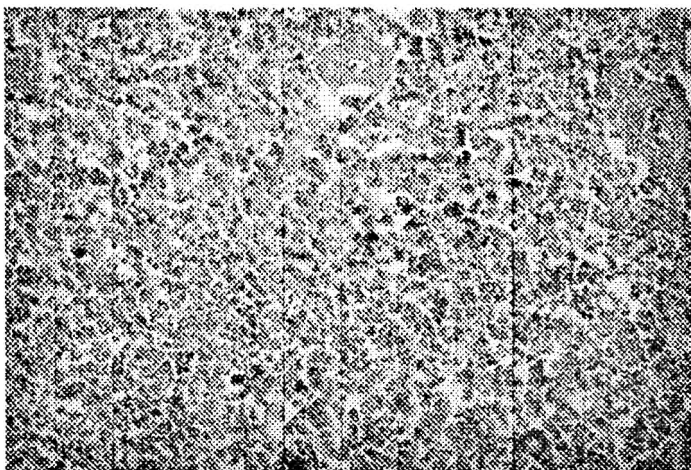


Рисунок 6. Микрофото. Селезенка птиц 1-ой группы на 3-й день после вакцинации. Активная плазмоцитарная реакция. Окраска гематоксилин-эозином (x480).

ВЫВОДЫ

1. При иммунизации молодняка кур жидкой инактивированной 4-валентной эмульсин-вакциной против ИББ, ИБК, ИЛТ и НБ в органах иммунной системы птиц развиваются выраженные иммуноморфологические изменения, характеризующиеся достоверным увеличением удельного объема лимфоидной ткани и расширением корковой зоны лимфоидных узелков в фабрициевой бурсе, увеличением числа лимфоидных узелков в селезенке, активизацией бласттрансформации лимфоцитов и плазмоцитарной реакции в бурсе Фабрициуса, селезенке и слепкишечных миндалинах.

2. Парентеральная иммунизация птиц против ИББ, ИБК, ИЛТ и НБ совместно с иммуностимулятором натрия тиосульфатом (7%-ный водный раствор) обеспечивает, по сравнению с применением одной вакцины, возрастание удельных объемов лимфоидной ткани и расширение коркового вещества долек в тимусе, увеличение размеров лимфоидных узелков в селезенке, а также более интенсивное развитие плазмоцитарной реакции в бурсе Фабрициуса и селезенке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц. / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов – Мн.: Бизнесофсет, 2004. – 102 с.
2. Лазарева, Д.Н. Стимуляторы иммунитета. / Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин – М.: Медицина, 1985. – 256 с.
3. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники. / Г.А. Меркулов – Л., 1969. – 432 с.
4. Стрельников, А.П. Лимфоидная ткань – орган иммунитета: Адаптация и регуляция физиологических процессов в хозяйствах с промышленной технологией: сб. науч. трудов / А.П. Стрельников, А.Я. Самуйленко, В.А. Стрельников – М., 1985. – С. 79-81.