

УДК 619:616.98:578.822.2:615.37

МОРФОЛОГИЯ КОСТНОГО МОЗГА И КРОВИ ПТИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА

Громов И.Н., к. вет. н., доцент
Прудников В.С., д. вет. н., профессор

E-mail: gromov_igor@list.ru

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

Аннотация. *Изучены морфологические изменения в крови и костном мозге молодняка кур при парентеральной иммунизации против инфекционного бронхита. Показано, что в костном мозге вакцинированных птиц наблюдается увеличение числа гранулоцитов, гиперплазия клеток псевдозозинофильного ряда, повышение лейкоэритробластического индекса, а в крови - лейкоцитоз, псевдозозинофилия, усиление фагоцитарной активности псевдозозинофилов.*

Ключевые слова: *молодняк кур, костный мозг, кровь, инфекционный бронхит, иммунизация, инактивированная эмульгированная вакцина*

Актуальность проблемы. В комплексе мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционного бронхита кур (ИБК) основное место уделяется проведению специфической профилактики. Для иммунизации молодняка кур против ИБК на птицефабриках Республики Беларусь используются жидкие инактивированные эмульсин-вакцины. Морфологические изменения в органах иммунной системы птиц 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.

Костный мозг является одновременно органом кроветворения и органом иммунной системы. Несмотря на территориальную разобщенность, функционально костный мозг связан в единый орган благодаря миграции клеток и регуляторным механизмам. 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 [4, 5]. Состояние красного костного мозга и крови характеризует статус иммунной системы и позволяет объективно оценить последний при заболеваниях различной этиологии, иммунизациях, иммунокоррекции, применении различных профилактических и лечебных препаратов. Изучение красного мозга и крови является необходимым компонентом комплексного изучения иммунной системы птиц [2].

Задания исследования: *изучить морфологические изменения в костном мозге и крови молодняка кур при парентеральной иммунизации против инфекционного бронхита (ИБК).*

Материал и методы исследований. Исследования проведены на 40 головах ремонтного молодняка кур 130-158-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов, и разделенных на 2 группы, по 20 птиц в каждой. Птиц 1-ой (опытной) группы в 130-дневном возрасте иммунизировали жидкой инактивированной эмульгированной вакциной против ИБК согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл. Молодняк кур 2-ой группы служил контролем.

На 3-й, 7-ой, 14-й, 21-й и 28-ой дни после проведения иммунизации от 4 птиц из каждой группы отбирали пунктат костного мозга и пробы крови для морфологического исследования.

Кровь получали из крыловой вены [3]. Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева после разведения крови в разбавителе, приготовленном на основе фосфатного буфера [2; 6]. Мазки крови птиц готовили на тонких обезжиренных предметных стеклах, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле и окрашивали по Романовскому-Гимза [3]. Лейкограмму выводили на основании подсчета 100 клеток. Фагоцитарную активность псевдоэозинофилов птиц определяли по методике А.И. Ивановой и Б.А. Чухловина [3], завершённый фагоцитоз - по О.Г. Алексеевой и А.Г. Волковой [1]. При этом выводили следующие показатели: процент фагоцитоза – процент фагоцитировавших псевдоэозинофилов из общего числа подсчитанных; фагоцитарный индекс – среднее число фагоцитированных микробов на один подсчитанный псевдоэозинофил; фагоцитарное число – среднее число фагоцитированных микробов на один активный псевдоэозинофил; процент переваривания – отношение числа убитых микробов к общему числу фагоцитированных микробов; индекс переваривания – среднее число убитых микробов на один подсчитанный псевдоэозинофил.

Пунктат красного костного мозга получали из верхней части диафиза плюсневозаплюсневой кости с латеральной её поверхности. Введение пункционной иглы в кость проводили под прямым углом. Для обеспечения достаточной аспирации красного костного мозга мы использовали пластмассовые одноразовые шприцы типа "Луер" объёмом 20 мл. При получении пунктата применялись 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 выпиливали канавку, в которую загибали свободный участок мандрена. Иглы и мандрены обязательно смачивали раствором антикоагулянта (гепарин, натрия цитрат и др.). Из полученного пунктата костного мозга в кратчайшие сроки (до 15-20 секунд) готовили мазки.

Миелограмму выводили, исходя из подсчета 1000 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза [3]. Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [4]: лейкоэритробластический индекс – соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков; костномозговой индекс созревания псевдоэозинофилов – отношение молодых клеток псевдоэозинофильной группы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым псевдоэозинофилам (палочкоядерные, сегментоядерные); костномозговой индекс созревания эозинофилов - соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток эозинофильной группы; костномозговой индекс созревания эритронобластов определяется отношением числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные нормоциты) к количеству всех клеток эритроидного ряда.

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. На 3-й день после иммунизации в мазках пунктата костного мозга птиц 1-ой группы мы отмечали достоверное увеличение в 1,2 раза общего количества клеток миелобластического ряда, по сравнению с контрольной группой. Увеличение данного показателя в группе вакцинированной птицы в сравнении с контролем происходило за счет клеток псевдоэозинофильного ряда (рисунки 1-2). Лейкоэритробластический индекс в 1-ой группе в 1,3 раза ($P < 0,05$) превышал контроль, что является показателем активной гиперплазии клеток белого ростка у иммунной птицы. Индекс созревания эозинофилов у молодняка кур 1-ой группы был равен контрольному, а индекс созревания псевдоэозинофилов - больше на 13% ($P > 0,05$) по отношению ко 2-ой группе птиц. Это свидетельствует о менее интенсивной пролиферации клеток эозинофильного ряда по сравнению с псевдоэозинофильным.

Общее количество клеток эритроидного ростка в 1-ой группе было незначительно меньше, чем в контроле. Число клеток тромбоцитарного ряда, а также моноцитов, плазмоцитов и лимфоцитов в обеих группах птицы различалось незначительно и недостоверно.

На 7-ой день после иммунизации общее количество клеток миелобластического ряда у вакцинированной птицы 1-ой группы на 17% ($P < 0,05$) превышало контрольные данные. Как и в предыдущие сроки исследований, увеличение числа клеточных элементов миелоидного ростка в группе вакцинированной птицы осуществлялся за счет клеток псевдозозинофильного ряда (рисунки 3-4). Так, общее количество клеток псевдозозинофильного ряда в 1-ой группе молодняка кур в 1,4 раза ($P < 0,05$) превышало данный показатель во 2-ой группе, преимущественно за счет зрелых псевдозозинофилов. Различия в показателях по зозинофильному и базофильному ряду клеток между 1-ой и 2-ой группами птицы были незначительными и недостоверными. Лейкоэритробластический индекс во 1-ой группе птиц был в 1,2 раза ($P > 0,05$) больше показателя во 2-ой группе. В костном мозге вакцинированных птиц отмечено также снижение костномозговых индексов созревания зозинофилов и псевдозозинофилов по сравнению с исходными данными. Вышеприведенные данные указывают на постепенное снижение активности пролиферации клеток миелоидного ростка у иммунной птицы. Общее количество клеток эритробластического ряда в этот срок оставалось наибольшим во 2-ой (контрольной) группе. При этом разница между показателями в 1-ой и 2-ой группах молодняка кур практически не изменилась. Количество тромбоцитов, моноцитов, плазмоцитов и лимфоцитов у иммунных и интактных птиц осталось неизменным по сравнению с предыдущим сроком исследования.

Через 14 дней после проведения вакцинации общее количество клеток миелобластического ряда в 1-ой группе птиц по-прежнему превышало контрольные значения ($P < 0,05$). При этом рост числа клеток в 1-ой группе в сравнении со 2-ой группой птицы был преимущественно за счет зрелых псевдозозинофилов и, в меньшей степени, за счет клеток зозинофильного ряда. Лейкоэритробластический индекс в 1-ой группе птиц в 1,2 раза ($P > 0,05$) превышал контроль. Другие парциальные формулы костномозговых клеток изменялись недостоверно. Общее количество клеток эритроцитарного и тромбоцитарного рядов у птиц 1-ой и 2-ой групп не имело существенных различий по сравнению с исходными данными. Число моноцитов, плазмоцитов и лимфоцитов у птиц 1-ой и 2-ой групп было примерно одинаковым.

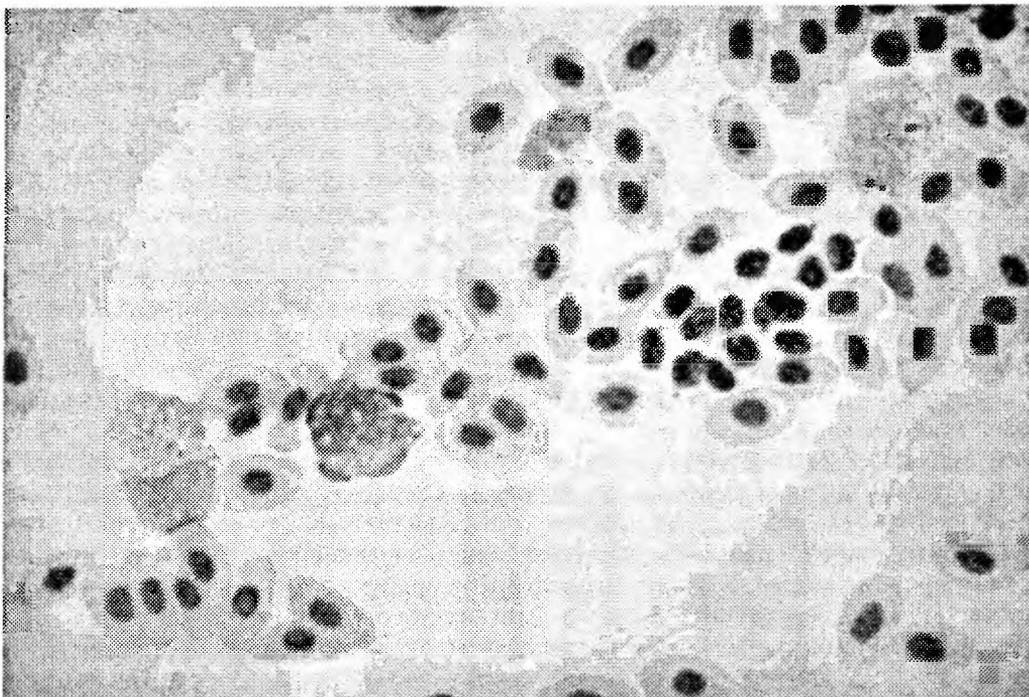


Рисунок 1. Микрофото. Мазок костного мозга 133-дневных интактных птиц 2-ой группы (в сроки на 3-й день после иммунизации птиц 1-ой группы). Гемопоэтические клетки представлены оксифильными нормоцитами, протромбоцитами, единичными лимфобластами и псевдоэозинофильными промиелоцитами. Окраска по Романовскому-Гимза (x1200).

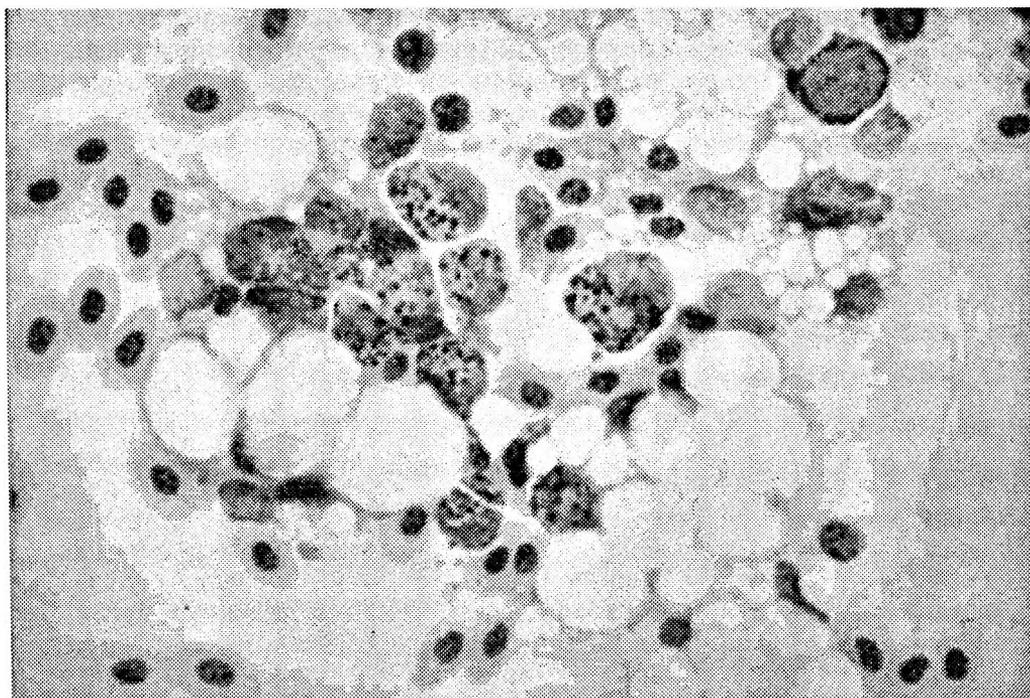


Рисунок 2. Микрофото. Мазок костного мозга птиц опытной группы на 3-й день после иммунизации против ИБК. Гиперплазия клеток псевдоэозинофильной группы. Окраска по Романовскому-Гимза (x1200).

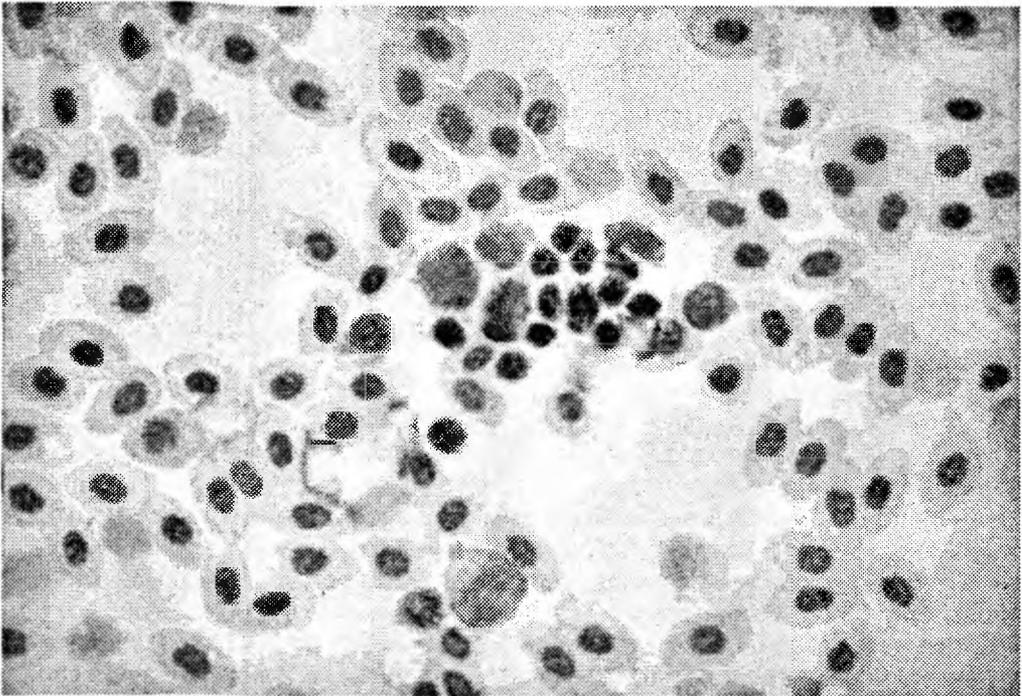


Рисунок 3. Микрофото. Мазок костного мозга молодняка кур 2-ой группы 137-дневного возраста (в сроки на 7-ой день после иммунизации птиц 1-ой группы). Среди клеточных элементов преобладают генерации эритроцитов, тромбоцитов и лимфоцитов. Окраска по Романовскому-Гимза (x1200).

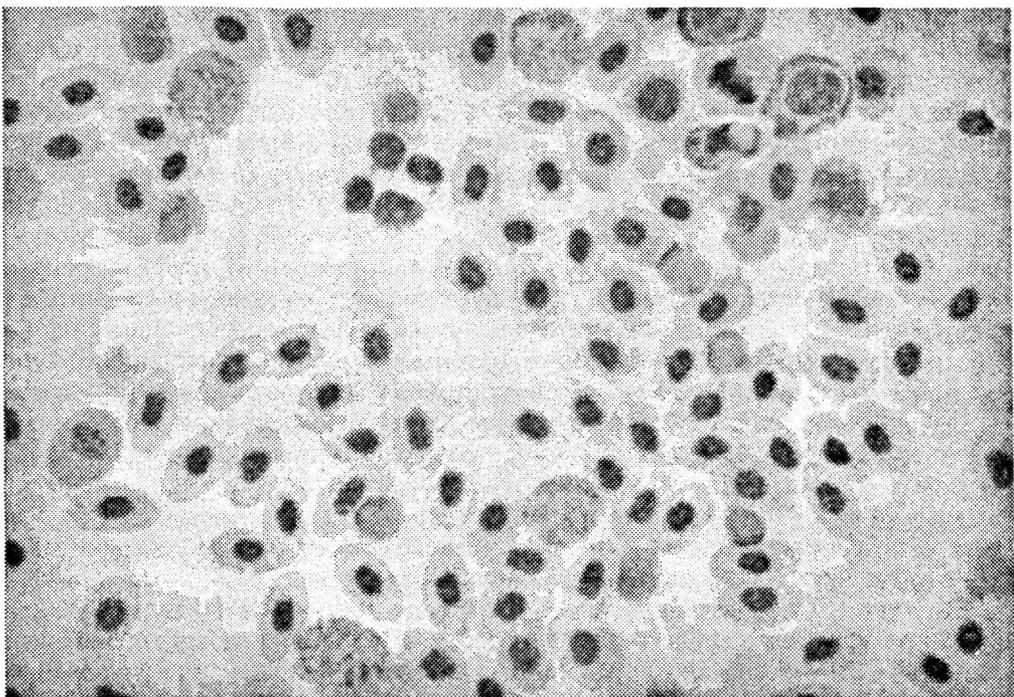


Рисунок 4. Микрофото. Мазок костного мозга молодняка кур 1-ой группы на 7-ой день после иммунизации против ИБК. Увеличение числа псевдоэозинофилов различной степени дифференцировки. Окраска по Романовскому-Гимза (x1200).

На 21-й и 28-ой дни после иммунизации в миелограмме вакцинированного молодняка кур произошло уменьшение общего количества гранулоцитов, преимущественно за счет клеток псевдоэозинофильного и эозинофильного рядов, что является свидетельством затухания микрофагальной реакции. Отмечено постепенное снижение лейкоэритробластического индекса, что можно объяснить снижением числа клеток лейкоцитарного ростка при увеличении количества клеток эритроидного ростка костного мозга. Костномозговые индексы созревания псевдоэозинофилов и эозинофилов, а также индекс созревания эритронормобластов у птиц обеих групп оставались неизменными. При изучении содержания клеток эритроцитов, тромбоцитов, моноцитов, плазмочитов и лимфоцитов значимых различий между группами птиц установлено не было.

В крови птиц опытной группы на 3-й день после вакцинации количество лейкоцитов было достоверно в 1,6 раза выше, чем в контроле. Изменение данного показателя коррелировало с активизацией миелобластического кроветворения в костном мозге. При этом число эритроцитов, тромбоцитов и гемоглобина существенно не изменялось. В лейкограмме иммунного молодняка кур количество сегментоядерных псевдоэозинофилов было 1,3 ($P>0,05$) раза больше, чем у контрольной группы. Число Т- и В- лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов, базофилов у птиц 1-ой и 2-ой групп было примерно одинаковым. При изучении фагоцитарной активности псевдоэозинофилов у подопытных птиц установлено достоверное увеличение, по сравнению с контролем, показателей процента и индекса переваривания, соответственно в 1,3 и 2,5 раза. Показатели незавершенного фагоцитоза (процент фагоцитоза, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число) изменялись недостоверно.

На 7-ой день эксперимента количество лейкоцитов в крови вакцинированных птиц возрастало по сравнению с контролем на 39%, а содержание тромбоцитов и эритроцитов наоборот, снижалось на 8-22%. При этом указанные изменения были недостоверными. В лейкограмме молодняка кур 1-ой группы происходило увеличение числа сегментоядерных псевдоэозинофилов в 1,5 раза по сравнению с контрольными данными ($P<0,05$), которое коррелировало с возрастанием общего количества псевдоэозинофилов в костном мозге. Содержание Т- и В- лимфоцитов в крови иммунных птиц незначительно снижалось, а количество базофилов, эозинофилов и моноцитов оставалось неизменным. У птиц 1-ой группы в эти сроки исследований мы наблюдали также значительное увеличение, по отношению к контролю, показателей процента фагоцитоза ($P<0,05$) и фагоцитарного индекса ($P>0,05$). Другие показатели фагоцитарной активности псевдоэозинофилов были примерно одинаковыми.

На 14-й день после вакцинации в крови птиц 1-ой группы происходило уменьшение количества лейкоцитов ($P<0,05$), а также увеличение числа эритроцитов и тромбоцитов ($P>0,05$) по сравнению с предыдущим сроком исследования. Содержание сегментоядерных псевдоэозинофилов в лейкограмме иммунного молодняка кур было по-прежнему больше ($P<0,05$), чем в контроле. При исследовании показателей неспецифической иммунной реактивности у вакцинированных птиц отмечено увеличение процента фагоцитоза ($P>0,05$) и фагоцитарного индекса ($P<0,05$) по сравнению с контрольными значениями.

На 21-й и 28-ой дни после иммунизации морфологический состав крови и показатели фагоцитарной активности псевдоэозинофилов у вакцинированного молодняка кур нормализовались по сравнению с контролем.

Выводы: 1. Инактивированная вакцина против ИБК вызывает у птиц выраженную иммуноморфологическую перестройку костного мозга, проявляющуюся увеличением количества клеток миелоидного ростка, активной гиперплазией клеток псевдоэозинофильного ряда, увеличением лейкоэритробластического индекса. Усиление пролиферации и созревания псевдоэозинофилов свидетельствует об активизации микрофагальной реакции в ответ на введение вакцины против ИБК.

2. При иммунизации молодняка кур против ИБК жидкой инактивированной эмульсин-вакциной в крови птиц развиваются лейкоцитоз, псевдоэозинофилия, усиливается фагоцитарная активность псевдоэозинофилов.

Литература

1. Алексеева, О.Г. Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови в токсикологических экспериментах / О.Г. Алексеева, А.Г. Волкова // Гигиена и санитария. – 1966. - № 8. – С. 70-75.
2. Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. – Л.: Наука, 1980. – С. 66-89.
3. Иванова, А.М. Методики определения поглотительной и переваривающей способности нейтрофилов / А.М. Иванова, Б.А. Чухловин // Лабораторное дело. – 1967. - № 10. – С. 610-614.
4. Карпуть И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. – Мн.: Ураджай, 1986. – С. 16.
5. Коленкин С.М., Михеева А.И. Основные правила исследования пунктата костного мозга // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №2. – С.41-43.
6. Медведский, В.А. Методические указания по определению форменных элементов и гемоглобина в крови с помощью инструментальных методов / В.А. Медведский [и др.]; МСХ и П РБ, ВГАВМ. – Витебск, 1996. – 14 с.

МОРФОЛОГІЯ КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА КРОВІ ПТИЦІ, ЩЕПЛЕНОЇ ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ

Громов І.М., к. вет. н, доцент, Прудніков В.С., д. вет. н, професор

E-mail: gromov_igor@list.ru

УО “Вітебська орденна “Знак Пошани” державна академія ветеринарної медицини”, м. Вітебськ

Анотація. Вивчені морфологічні зміни в крові та кістковому мозку курчат при парентеральній імунізації проти інфекційного бронхіту. Показано, що в кістковому мозку щепленої птиці спостерігається підвищення кількості гранулоцитів, гіперплазія клітин псевдоэозинофильного ряду, підвищення лейкоеритробластичного індексу, а в крові - лейкоцитоз, псевдоэозинофілія, підвищення фагоцитарної активності псевдоэозинофілів.

Ключові слова: курчата, кістковий мозок, кров, інфекційний бронхіт, імунізація, інактивована емульсин-вакцина

MORPHOLOGICAL CHANGES IN BLOOD AND OSTEOAL BRAIN OF HEN YOUNGSTERS, VACCINATED AGAINST INFECTIOUS BRONCHITIS

Gromov I.N., the candidate of veterinary sciences, the senior lecturer

Prudnikov V.S., the doctor of veterinary sciences, the professor

E-mail: gromov_igor@list.ru

The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine

Summary. Morphological changes in blood and osteal brain of hen youngsters parenteral immunized against infectious bronchitis have been investigated. It is shown, that in osteal brain vaccinated birds the augmentation of number of granulocytes, a hyperplasia of cells pseudoeosinophilic of some, rising leucoerythroblastic an index, and in a blood - a leukocytosis, a pseudo-eosinophilia, intensifying of phagocytic activity of pseudoeosinophils is observed.

Key words: hen youngsters, osteal brain, blood, infectious bronchitis, immunization, inactivated oil-emulsion vaccine