

Приведенная таблица свидетельствует о более высокой иммуногенности штамма №1, который впоследствии паспортизирован, депонирован, лиофилизирован и заложен на хранение. Штамму присвоен номер КМИЭВ-В120. Данный штамм обладает следующими характеристиками. Патогенен для животных. При внутрибрюшинном введении вызывает гибель белых мышей массой 14-16 грамм. В мазках, приготовленных из бульонных и агаровых культур, окрашенных по Граму, имеет вид грамтрицательных бактерий (коккобактерий). На МПБ, бульоне Хоттингера в первый день выращивания дает легкое равномерное помутнение среды, на 2-4 день на дне пробирки образует осадок, поднимающийся при встряхивании пробирки в виде косички с просветлением бульона. На МПА и агаре Хоттингера образует мелкие прозрачные круглые с ровными краями колонии слизистой консистенции диаметром 1,0-1,5 мм. На угольно-казеиновом агаре - круглые серо-белые с ровными краями колонии слизистой консистенции диаметром 0,5-2,0 мм. В биохимическом отношении к сахарам и многоатомным спиртам инертен. В качестве источника питания место сахаров использует цитраты, тиогликоляты, ацетаты, нуждается для роста в глутамине, никотиновой кислоте и дрожжевом экстракте. Реакция на индол и сероводород - отрицательная. МПЖ не разжигает. Уреазаопозитивен. Имеет в своем составе К- и О-антигены. Гемолитические свойства выражены слабо (на кровяном агаре дает непрозрачный α -гемолиз при pH 6,2-6,8). Чувствителен к флумизолу, мономицину, гентамицину, левомицетину, канамицину, тетрациклину.

В дальнейшей работе был проведен генетический анализ изучаемого штамма микроорганизмов (в сравнении со штаммами коллекции АТСС (американская коллекция типовых культур), в отношении наличия или отсутствия генов, кодирующих факторы вирулентности. При постановке ПЦР с праймерами rRNA1 (f/r) и 16S rRNA2 (f/r), было установлено, что все исследуемые штаммы формируют в электрофорезном геле светящуюся полосу, соответственно имеют специфический ген, кодирующий 16S субъединицу РНК. У штамма *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ В-120 обнаружено отсутствие гена (*BvgR*), отвечающего за функцию рецессии (снижения активности белков вирулентности), в то время у всех штаммов, полученных из коллекции АТСС, было выявлено наличие вышеуказанного гена. Помимо этого у отобранного нами штамма был обнаружен нитевидный гемагглютинин *FhaB*, который является основным фактором вирулентности *Bordetella* spp., а также основным компонентом бактериальных бесклеточных вакцин.

Заключение. 1. При исследовании патологического материала было выделено два штамма *Bordetella bronchiseptica*, идентифицированных на биохимическом анализаторе бактерий Vitek 2, в стриповых системах Lachema. 2. Выделенные штаммы являются патогенными для белых мышей. LD₅₀ штаммов составляет от 10^{-4,0} до 10^{-4,5}. 3. Для конструирования вакцины был отобран штамм зарегистрированный как *Bordetella bronchiseptica* («КМИЭВ-В120»), иммунизация им защищает лабораторных животных от гибели в 100% случаев после контрольного заражения, у которого установлено отсутствие оперона рецессии *BvgR*, что является подтверждением пригодности данного штамма к производству биологических препаратов.

Литература. 1. Ашмарин, И.П. *Статистические методы в микробиологических исследованиях* / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев // М.: Медгиз, 1962. - 125 с. 2. Медведев, А.П. *Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток* / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. - Витебск: ВГАВМ, 2010.-200с. 3. Пейсак, З. *Болезни свиней* / Зигмунт Пейсак; пер. с польского Д.В. Потапчука. - Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. - 424с. 4. *Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии*. Сост. А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская. - Минск: Белтаможсервис, 2008. - 824с. 5. Mattoo S, Foreman-Wykert AK, Cotter PA, Miller JF (2001). "Mechanisms of *Bordetella pathogenesis*". *Front Biosci* 6: E168-86. doi:10.2741/Mattoo. PMID 11689354.

Статья передана в печать 03.06.2014 г.

УДК 619:616.476-097.3:615.371:636.5

ВЛИЯНИЕ «МИТОФЕНА» НА МАКРОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОРГАНОВ ИММУНИТЕТА ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

*Кадхум Ф.С., *Громов И.Н., *Масейкова Я.С., **Святковский А.В., **Слободянюк А.А.,
**Святковский А.А.

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

** ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства
Россельхозакадемии», г. Ломоносов

В статье рассматривается влияние антиоксидантного препарата «Митофена» на макроморфометрические показатели органов иммунитета цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни (ИББ). Установлено, что иммунизация птиц против ИББ совместно с «Митофеном» и без него вызывает увеличение абсолютной массы тимуса и фабрициевой бурсы, что указывает на активизацию лимфопролиферативных процессов. В то же время введение вакцины совместно с «Митофеном» приводит к достоверному увеличению абсолютной массы и индекса селезенки, по сравнению с использованием вакцины без иммуностимулятора.

The influence of antioxidant mytophen on the macromorphometrical parameters of chickens, vaccinated against infectious bursal disease have been observed. In proved that immunization of birds against IBD together with mytophen and without him causes increase in absolute weight of thymus and bursa of Fabricius, that specifies activation lymphoproliferative processes. At the same time vaccine introduction together with the

mytophen leads to authentic increase in absolute weight and a spleen index, in comparison with vaccine use without antioxidant.

Ключевые слова: антиоксидант, иммунная система, тимус, bursa Фабрициуса, селезенка, цыпльята, вакцинация, инфекционная бурсальная болезнь.

Keywords: antioxidant, thymus, bursa of Fabricius, spleen, immune system, chicken, vaccination, infectious bursal disease.

Введение. О применении антиоксидантов для стимуляции иммунной системы птиц сообщают многие ученые [4, 5]. Витамину А (ретинолу) и его провитамину β-каротину отводится существенная роль в становлении реакции иммунитета у птиц и млекопитающих. На основании результатов многих исследований сделан вывод о необходимости витамина А и β-каротина для нормального функционирования органов иммунной системы – прежде всего тимуса и селезенки. Ретинол повышает уровень антител в сыворотке крови, стимулирует активность естественных киллерных клеток (больших зернистых лимфоцитов) и влияет на пролиферацию Т-хелперов. Он способен ингибировать иммуносупрессивный эффект гидрокортизона. По сравнению с витамином А роль β-каротина в организме остается менее изученной. Однако установлено, что витамин А и β-каротин обеспечивают защитное влияние против ряда инфекционных болезней, изменяют многие реакции иммунной системы организма [10, 11]. К.Д. Плещитий [6] предполагает, что в основе усиления иммунных реакций организма лежит способность витамина А каким-то образом снимать с иммунной системы толерантность к антигенам. Среди других фактов иммуностимулирующего действия витамина А В.Н. Суколинский [9] отмечает возрастание функциональной активности лизосомального аппарата печени и избирательной активности отдельных лизосомных гидролаз в селезенке и прежде всего кислой эндопептидазы.

Витамин Е (токоферол) повышает устойчивость организма к инфекционным болезням [12]. При этом активизируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет, а в крови увеличивается количество Т- и В-лимфоцитов за счет стимуляции митотической активности их бластных форм, возрастают количество антителообразующих плазмочитов и титр антител, особенно IgG, стимулируется активность Т-хелперов, естественных киллерных клеток и фагоцитоз.

Аскорбиновая кислота уменьшает лимфоцитотоксический эффект, ассоциированный с глюкокортикоидами, и служит иммунологическим промотором в тканях от воздействия стероидов. Установлена протективная роль аскорбиновой кислоты в предотвращении токсикоза птиц, вызванного скармливанием смеси аминифеназона и нитрата натрия. В процессе биосинтеза в мембранах клеток усиливается перекисное окисление липидов. Защитную функцию при этом выполняет антиоксидантная система, состоящая из селеносодержащих ферментов (каталаза, глутатионпероксидаза) и инактиваторов неферментной природы (витамины Е, А и С). Д.Н. Лазарева и Е.К. Алехин [4] сообщают о синергизме неферментных антиоксидантов - витаминов А и Е. Антиоксидантными свойствами обладают также серосодержащие соединения: метионин и натрия тиосульфат [1, 2].

Большинство антиоксидантных препаратов не оказывают прямого и отдаленного значимого отрицательного влияния на организм птицы. Более того известно, что их применение способствует увеличению прироста живой массы цыплят. Кроме того, антиоксидантные препараты обладают адаптационным, а также косвенным противоинфекционным действием. Поэтому исследования по изучению возможности увеличения прироста живой массы, улучшения адаптации птицы с повышением сохранности поголовья, а также создания более напряженного и продолжительного поствакцинального иммунитета имеют важное научно-практическое значение.

В ГНУ ВНИВИП изучается влияние на организм птиц нового антиоксидантного препарата – «Митофена». Он относится к синтетическим производным полифенолов и является структурным (химическим) аналогом коэнзима Q₁₀ – естественного метаболита клеток организма животных и птиц. «Митофен» обладает витаминоподобным действием, проявляет антигипоксическую, антиоксидантную, антистрессовую активность за счёт уменьшения воздействия свободнорадикального окисления клеточных структур живого организма. Под воздействием «Митофена» повышается коэффициент аэробного (митохондриального) окисления клеток, что способствует возрастанию усвоения энергии и/или более экономичного её расходования организмом. Ввиду его весьма низкой токсичности и широкого спектра действия он может оказаться весьма перспективным для использования в народном хозяйстве и, в частности, в птицеводстве [7, 8]. Вместе с тем, влияние «Митофена» на процессы иммуногенеза у птиц остаются неизученными.

Целью наших исследований явилось изучение влияния антиоксидантного препарата «Митофена» на гематологические и иммунологические показатели цыплят, иммунизированных против инфекционной бурсальной болезни (ИББ).

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работы была выполнена в условиях клиники кафедры эпизоотологии, а также кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ. Исследования были проведены на 72 цыплятах, разделенных на 3 группы, по 24 птицы в каждой. Цыплят 1-ой группы иммунизировали против инфекционной бурсальной болезни на фоне применения «Митофена». Данный препарат применяли цыплятам в период с 8 по 42 день жизни. «Митофен» вводили ежедневно, перорально, с водой в дозе 50 мг/кг живой массы. В 15 и 22-дневном возрасте цыплят данной группы иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из шт. «Винтерфильд 2512» (производство ОАО «Покровский завод биопрепаратов», РФ). Вакцину применяли согласно Инструкции по ее применению, перорально, 2-кратно. Цыплят 2-ой группы также в 15 и 22-дневном возрасте иммунизировали вакциной согласно Инструкции по ее применению, без применения антиоксиданта.

Перед проведением вакцинации всю птицу 1 и 2 групп выдерживали без дачи питья и корма в течение 6 часов. Поение и кормление птицы возобновляли через 2 часа после иммунизации. Перед

применением вакцины растворяли в водопроводной воде и выпаивали цыплятам с таким расчетом, чтобы на одну птицу приходилась одна доза вакцины. Интактная птица 3-й группы служила контролем.

На 7-й день после первой, 7-й и 14-й дни после второй вакцинации по 4-5 птиц из каждой группы убивали. Во все сроки исследований проводили контрольное взвешивание подопытной птицы, определяли линейные размеры, абсолютную массу и индекс тимуса, бursy Фабрициуса и селезенки [1, 2, 3]. Взвешивание органов проводили на электронных весах "Scout Pro SPU 202" фирмы "Ohaus Corporation" (США). Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. Результаты наших исследований показали, что на 7-й день после первой вакцинации абсолютная масса тимуса у птиц 2-ой и 3-й групп составляла соответственно $1,22 \pm 0,22$ г и $1,00 \pm 0,20$ г, а у цыплят 1-й группы, получавшего митофен – $2,16 \pm 0,32$ г ($P < 0,05$). Сходные изменения отмечены нами при изучении индекса тимуса (рисунок 1). Так, у птиц 2-ой и 3-й групп данный показатель составил соответственно $1,73 \pm 0,33$ и $2,11 \pm 0,33$, а у цыплят 3-й группы – $3,34 \pm 0,52$ ($P < 0,05$). Кроме того, линейные размеры долек тимуса у птиц 1-ой группы достоверно возрастали по сравнению с контролем в 1,4-1,6 раза (рисунок 3). Абсолютная масса и индекс фабрициевой бursy у вакцинированных птиц 1-ой группы составили соответственно $1,65 \pm 0,16$ г и $2,57 \pm 0,38$ (рисунок 2), а у цыплят 2-ой группы – $1,08 \pm 0,15$ г и $1,54 \pm 0,26$ (в контроле – $0,97 \pm 0,29$ г и $2,04 \pm 0,53$; $P < 0,05$). Аналогичная закономерность была выявлена нами при изучении линейных размеров данного органа (рисунок 4). Абсолютная масса тимуса у иммунизированных цыплят 1-ой и 2-ой групп находилась на уровне $0,69 \pm 0,05$ г, $0,98 \pm 0,17$ г, а индекс $1,05 \pm 0,04$ – $1,40 \pm 0,27$. У интактных птиц 3-й группы данные показатели составили соответственно $0,35 \pm 0,05$ г и $0,74 \pm 0,17$ ($P < 0,05$). Иммунизация цыплят совместно с «Митофеном» и без него способствовала также достоверному увеличению линейных размеров селезенки по сравнению с контролем.

На 7-ой день после 2-ой иммунизации у птиц 1 и 3 групп абсолютная масса, индекс и линейные размеры тимуса различались недостоверно. Абсолютная масса и индекс тимуса у вакцинированных цыплят 2-ой группы составили соответственно $2,20 \pm 0,19$ г и $3,40 \pm 0,23$, а у интактных птиц 3-й группы – $1,78 \pm 0,41$ г и $2,16 \pm 0,53$ ($P < 0,05$). Сходные изменения отмечены нами при изучении линейных размеров долек тимуса цыплят 1-ой, 2-ой и 3-й групп. Абсолютная масса бursy Фабрициуса у цыплят 1 и 2 групп составляла соответственно $0,84 \pm 0,07$ г и $0,53 \pm 0,02$ г (против $0,68 \pm 0,10$ г в контрольной группе; $P > 0,05$). Линейные размеры фабрициевой бursy у подопытных и интактных птиц изменялись недостоверно. Абсолютная масса и индекс селезенки у цыплят 1 группы составляли соответственно $1,06 \pm 0,17$ г и $1,46 \pm 0,28$, а у птиц 2 группы – $1,68 \pm 0,42$ г и $2,57 \pm 0,58$ (в контроле – $0,88 \pm 0,10$ г и $1,07 \pm 0,12$; $P > 0,05$).

На 14-й день после 2-ой иммунизации абсолютная масса тимуса у подопытных цыплят 1-ой и 2-ой групп составляла соответственно $2,12 \pm 0,35$ г и $1,73 \pm 0,38$ г, а у интактных птиц 3-й группы – $1,22 \pm 0,22$ г ($P < 0,05$). Сходные изменения отмечены нами при изучении индекса и линейных размеров данного органа. Органометрические показатели фабрициевой бursy у вакцинированных и интактных цыплят в этот срок исследований изменялись недостоверно. Абсолютная масса и индекс селезенки у подопытных птиц 1-ой группы составили соответственно $1,26 \pm 0,18$ г и $1,24 \pm 0,17$, а у цыплят 2-ой группы – $1,09 \pm 0,04$ г и $1,24 \pm 0,12$ (в контроле – $1,18 \pm 0,29$ г и $1,47 \pm 0,23$; $P > 0,05$). Аналогичная закономерность была выявлена нами при изучении линейных размеров данного органа.

Заключение. При иммунизации цыплят сухой живой вирус-вакциной против ИББ из штамма «Винтерфильд 2512» в органах иммунной системы птиц развиваются структурные изменения, свидетельствующие о формировании иммунитета против данной болезни. При этом колебания органомерических показателей выявляются в течение длительного промежутка времени, что связано, по-видимому, с длительной циркуляцией вакцинного штамма вируса в организме птиц. При иммунизации цыплят на фоне применения антиоксидантного препарата «Митофена» в тимусе и фабрициевой бурсе развиваются более выраженные морфологические изменения, по сравнению с применением одной вакцины.

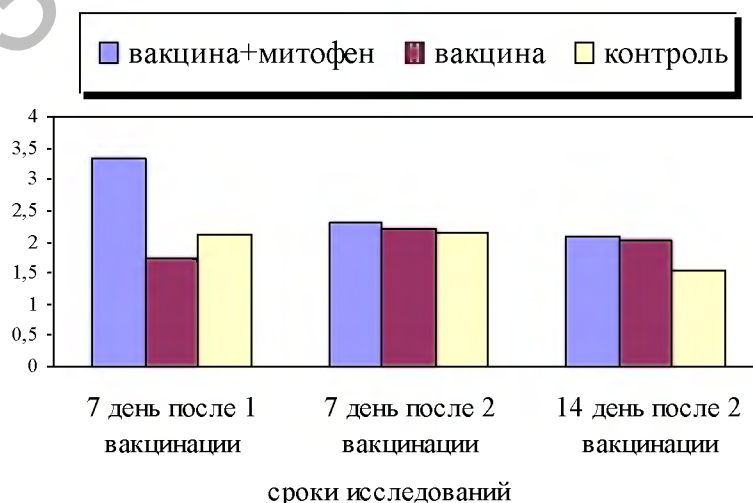


Рисунок 1 – Влияние «Митофена» на показатели индекса тимуса цыплят, иммунизированных против ИББ

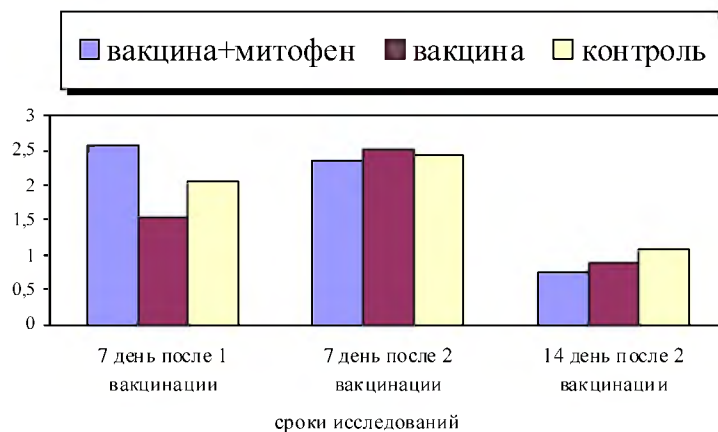


Рисунок 2 – Влияние «Митофена» на показатели индекса фабрициевой бурсы цыплят, иммунизированных против ИББ



Рисунок 3 - Макрофото. Увеличение линейных размеров тимуса у цыпленка 1 группы (слева) по сравнению с контролем (справа) на 7 день после 1-ой вакцинации против ИББ

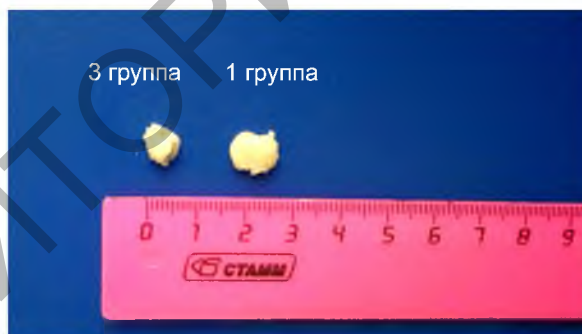


Рисунок 4 - Макрофото. Увеличение линейных размеров фабрициевой бурсы у цыпленка 1 группы (справа) по сравнению с контролем (слева) на 7 день после 1-ой вакцинации против ИББ

Литература. 1. Бирман, Б.Я. Иммунодефицит у птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2001. – 140 с. 2. Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2004. – 92 с. 3. Диагностика и патоморфологические изменения в крови и органах иммунной системы птиц при инфекционной анемии : рекомендации / И.Н. Громов [и др.] // Витебск : Копицентр-АС-принт, 2013. – 58 с. 4. Дранник, Г.Н. Иммунотропные препараты / Г.Н. Дранник, Ю.А. Гриневич, Г.М. Дизик. – Киев : Здоровье, 1994. – 288 с. 5. Лазарева, Д.Н. Стимуляторы иммунитета / Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин. – М. : Медицина, 1985. – 256 с. 6. Плещитий, К.Д. Витамин А и его синтетические производные как стимуляторы противоопухолевого иммунитета / К.Д. Плещитий // Вопросы онкологии. – 1988. – Т. 34., №11. – С. 1283-1290. 7. Изучение острой токсичности антиоксидантов митофена и мексидола / А.В. Святковский [и др.] // Ветеринарная Практика, 2011, №1(52). – С. 48-49. 8. Святковский, А.В. Влияние митофена на здоровье и продуктивность птицы / А.В. Святковский // Модернизация АПК – механизмы взаимодействия государства, бизнеса и науки : матер. междунар. агропром. Конгресса. – СПб.: Ленэкспо, 2011. – С. 18. 9. Суколинский, В.Н. Перспективы применения антиоксидантов в комбинированном лечении злокачественных опухолей / В.Н. Суколинский // Вопросы онкологии. – 1990. – Т.36, № 2. – С. 138-144. 10. Утешев, Д.Б. Перспективы применения β-каротина как иммуностропного препарата / Д.Б. Утешев, А.В. Сергеев, Б.С. Утешев // Иммунология. – 1998. – №. 4. – С. 17-19. 11. Chew, V.P. Vitamin A and β-carotene on host defense / V.P. Chew // J. Dairy Sc., 1987. – Vol. 70, №12. – P. 2732-2743. 12. Panda, S.K. Effect of vitaminum E–selenium combination on chickens infected with infectious bursal disease virus / S.K. Panda, A.T. Rao // Vet. Rec. – 1994. – Vol. 134, №10. – P. 242-243.

Статья передана в печать 05.05.2014 г.