

УДК 619:578.832.1:636.52/58:615.371

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ ПОДТИПА H5N2

Згировская А.А., Гусев А.А., Ломако Ю.В., Минчук Ю.Н.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелеского», г. Минск, Республика Беларусь

Статья посвящена разработке технологии изготовления вакцины против гриппа птиц подтипа H5N2. Определены оптимальные параметры культивирования вируса на перевиваемой культуре клеток Marc-145 в объемах, достаточных для изготовления опытного образца вакцины, и максимальным титром. Изготовленный образец вакцины обладает высокой антигенной активностью и приводит к формированию напряженного иммунитета у цыплят.

This article is devoted to the method of production of vaccine against avian influenza subtype H5N2. The optimal cultivation conditions on cell culture Marc-145 in volumes sufficient for production of vaccine test sample are defined. Produced vaccine sample possesses high antigen strength and results in generation of high-grade immunity for poult.

Введение. Высокопатогенный грипп птиц является крайне контагиозным, системным вирусным заболеванием домашней и дикой птицы с высокой смертностью (до 100%) и, в случае эпизоотии, способен причинить птицеводству республики колоссальный экономический ущерб. Так, эпизоотия кур в 2002 году в США, вызванная H7N2, привела к гибели около 5 млн. птиц и ущерб в 150 млн. долларов. Эпизоотия в Голландии в 2003 году (вирус гриппа H7N7) привела к гибели и уничтожению 30 млн. кур. Во время эпизоотии гриппа в Юго-Восточной Азии в 2004 году, вызванной вирусом H5N1, было уничтожено более 100 млн. домашних птиц.

В основу стратегии борьбы с высокопатогенным гриппом положено полное уничтожение всей птицы в очаге эпизоотии. Этот метод борьбы является эффективным, если он применяется в сочетании со строгими карантинными мероприятиями и повышенными мерами биологической безопасности. Однако такие мероприятия, требующие быстрого и гуманного уничтожения большого числа птицы, являются трудной задачей для большинства стран, которые не могут себе этого позволить по экономическим соображениям. В качестве дополнительного средства контроля над эпизоотией гриппа птиц в ряде стран, в том числе США, Мексике, Пакистане и других, используется вакцинация промышленных стад. В Республике Беларусь, в Российской Федерации одним из средств профилактики эпизоотий птичьего гриппа является ограниченная целевая вакцинация домашних птиц в частных подворьях в зонах повышенного риска для предотвращения распространения инфекции и проникновения возбудителя в промышленные предприятия. Применение такой вакцинации направлено на разрыв эпизоотической цепи в непосредственной близости от источника возбудителя инфекции, когда контакт домашних и диких птиц неизбежен.

В Республике Беларусь вакцины против птичьего гриппа не производятся, в связи с чем, учитывая возможность заноса птичьего гриппа на территорию страны, высокую стоимость импортных вакцин, разработка и внедрение отечественной вакцины против птичьего гриппа является актуальной задачей, имеющей важное научное и практическое значение.

Целью наших исследований являлась разработка технологии изготовления инактивированной вакцины против гриппа птиц подтипа H5N2.

Материалы и методы исследований. Для изготовления вакцины использовали вирус гриппа птиц подтипа H5N2 (производственный штамм «КМИЭВ-V107» с исходным титром $8,0 \text{ Ig ЭИД}_{50/\text{см}^3}$). Накопление вируса производили на 9-10-ти суточных СПФ-эмбрионах кур, полученных из оплодотворенных СПФ-яиц фирмы Lohmann Tierzucht (Германия). Для инкубации отбирали полноценные яйца, правильной формы с плотной скорлупой без трещин и дефектов. Перед закладкой в инкубатор яйца дезинфицировали парами формальдегида. Яйца инкубировали при температуре $+37,7^\circ\text{C}$ и относительной влажности 60%. Для инкубации использовали яйца не старше 8 суток. В процессе инкубации яиц осуществляли контроль за развитием зародышей.

Первый этап работы заключался в накоплении вируса подтипа H5N2 в объеме, достаточном для создания вакцины. Культивирование вируса проводили на 9-10-ти суточных эмбрионах, которых заражали в аллантаоисную полость в объеме $0,2 \text{ см}^3$. Эмбрионы инкубировали в термостате при 37°C в течение 48-72 часа. Ежедневно проводили овоскопирование. Через указанное время инкубации у эмбрионов отбирали экстраэмбриональную жидкость для определения титра вируса в полученном инфекционном материале. Титр вируса определяли следующим образом: готовили разведения вируса от 10^{-1} до 10^{-9} на стерильном физиологическом растворе (рН 7,2). Каждым разведением вируса заражали по 4 эмбриона. Титр вируса рассчитывали по методу Кербера. Нарботанный объем вируса освобождали от балластных белков низкоскоростным центрифугированием в течение 30 минут при 1000 об/мин.

Второй этап работы заключался в подборе оптимальных инактивантов. Для этого использовали формальдегид, теотропин, β -пропиолактон и аминоэтилэтиленимин в различных концентрациях. Экстраэмбриональную жидкость обрабатывали различными дозами перечисленных инактивантов в течение 24 часов при 37°C при постоянном перемешивании. По окончании инактивации аминоэтилэтиленимин нейтрализовали внесением тиосульфата натрия в суспензию антигенного материала. Полученный материал подвергали повторно очистке от балластных примесей центрифугированием в течение 30 минут при 15000-17000 об/мин.

Полноту инактивации определяли путем заражения 9-10-ти суточных эмбрионов на хорионаллантоисную оболочку полученным антигеном. Зараженные эмбрионы инкубировали в течение 96 часов. После инкубации эмбрионы охлаждали и отбирали экстраэмбриональную жидкость, которую исследовали в РГА. При отсутствии гемагглютинации проводили 2 дополнительных пассажа.

Параллельно полноту инактивации проверяли на культуре клеток почки собаки – MDCK. Заражение культуры клеток проводили по стандартной методике, рекомендованной МЭБ. Пенициллиновые флаконы с сформированным сучочным монослоем дважды отмывали средой Игла MEM без сыворотки с ТРСК-трипсином в концентрации 2 мг/мл. На сухой монослою наносили по 0,2 мл антигена вируса гриппа. Время контакта составляло 40 минут. По истечении указанного времени в пенициллиновые флаконы вносили среду Игла MEM без сыворотки. Флаконы инкубировали при 37° С в течение 96 часов, ежедневно контролируя состояние монослоя. Начиная с 48 часов после заражения, размножение вируса контролировали в реакции гемагглютинации. Для этого из каждого флакона отбирали по 50 мкл культуральной жидкости, гомологичные пробы объединяли и добавляли по 50 мкл трижды отмытых физиологическим раствором 1% эритроцитов петуха. По истечении срока инкубации культуральную жидкость из всех зараженных пенициллиновых флаконов объединяли и проводили последующие пассажи (количество пассажей – не менее 5) с регистрацией репродукции вируса по цитопатическому действию и РГА. Очищенный и авирулентный антигенный материал должен иметь гемагглютинирующую активность не менее 1:64 и pH 7,2-7,4.

Третий этап работы заключался в подборе оптимального адьюванта. В качестве адьювантов целесообразно использовать масляный адьювант на основе минерального масла Marcol-52 и эмульгаторов – неионогенных поверхностно-активных веществ (алкилмодифицированный полиоксиалкилен-силоксановый сополимер (АПС) и ланолин), адьювант Эмульсиген Д производства США и коммерческий масляный адьювант марки Montanide ISA-70 производства фирмы «Serpic» (Франция). Эмульсионную вакцину получали путем диспергирования очищенного и авирулентного антигенного материала с масляным адьювантом в различных соотношениях для различных адьювантов. Содержание антигенного материала и масляного адьюванта должно быть оптимальным для обеспечения толерантной презентации антигена в организме иммунизированной птицы.

Следующий этап работы заключался в контроле полученной вакцины на стерильность, реактогенность и безвредность для цыплят, определении иммуногенной активности.

Стерильность изготовленного образца вакцины проверяли путем посева на специальные питательные среды, используемые для культивирования того или иного вида микроорганизмов. Для определения контаминации аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами вакцину сеяли на МПБ и МПА, для определения присутствия анаэробов – на среду Китта-Тароцци, на агар Сабуро – для определения грибково-плесневого загрязнения.

Проверку вакцины на безвредность и реактогенность проводили на 20 цыплятах 8-10-дневного возраста. Для этого 10 цыплятам вводили по 0,5 см³ вакцины в среднюю треть шеи или внутримышечно в грудную или бедренную мышцу. В качестве контроля использовали 10 цыплят, которых не вакцинировали. Наблюдение за цыплятами опытной и контрольной групп вели в течение 14 суток.

О реактогенности вакцины судили по негативному воздействию препарата на организм птицы в месте введения, а о безвредности – по общему воздействию препарата на организм птицы.

Через 14 дней после введения вакцины цыплят убивали и место введения вакцины осматривали для оценки характера изменений мышечной ткани. Вакцина не должна вызывать у вакцинированных цыплят в течение 14 суток клинических признаков заболевания и видимых изменений тканей в месте введения вакцины. Допускается повышение температуры тела птицы на 1,5°С в течение первых 3-х суток после введения вакцины, а также возникновение у вакцинированной птицы в месте введения вакцины незначительного уплотнения, которое самопроизвольно рассасывается.

Цыплята контрольной группы должны оставаться здоровыми.

Изучение иммуногенной активности образца инактивированной эмульсионной вакцины против вируса гриппа птиц подтипа H5 проводили на цыплятах 8-10-ти суточного возраста. С этой целью были сформированы опытная группа цыплят и контрольная, по 20 голов в каждой. Цыплят опытной группы иммунизировали внутримышечно по 0,5 см³ в область грудной мышцы. Контролем служила группа цыплят, такого же возраста, которым вводили аналогичным способом плацебо (физиологический раствор). До иммунизации (фон), а затем после нее на 14, 21 и 28-е сутки у всех цыплят были отобраны пробы крови, сыворотку которой исследовали в РТГА. Об иммуногенности вакцины судили по нарастанию титров специфических антител в сыворотках крови кур. Для определения титров использовали набор для лабораторной диагностики гриппа птиц в РТГА.

Вакцину считали иммуногенной, если через 28 суток после вакцинации у 80% цыплят опытной группы титры антител в сыворотках крови были не ниже 4,0 log₂. При этом титры антител в сыворотках крови у цыплят контрольной группы за период опыта не должны увеличиваться.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований был изготовлен образец вакцины инактивированной эмульгированной против вируса гриппа птиц подтипа H5N2. Вакцина представляет собой биопрепарат, полученный из вирусодержащей экстраэмбриональной жидкости, отобранной от СПФ-эмбрионов. Полученная вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета типа «вода в масле».

Первый этап работы по изготовлению вакцины заключался в оптимизации параметров культивирования штамма H5N2: определение оптимальной заражающей дозы вируса, величина накопления вируса в экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) и возраст эмбрионов.

Накопление инфекционного вируса в ЭЭЖ является одним из основных показателей, характеризующих качество получаемого вирусодержащего материала. Титр инфекционной активности зависит от многих показателей и в том числе от заражающей дозы. В дальнейшем мы определяли титры инфекционной активности вирусодержащего материала, полученного после заражения разными дозами вируса H5N2. Эмбрионы заражали H5N2 в дозах от 10 до 1000 ЭИД₅₀ и инкубировали в течение 24, 48 и 72 часов. Через указанное время инкубации у эмбрионов после охлаждения производили отбор экстраэмбриональной жидкости для определения титра вируса в полученном инфекционном материале. Титр вируса вычисляли по методу Кербера в модификации А.П.Ашмарина. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние заражающей дозы вируса гриппа птиц подтипа H5N2 на инфекционную активность экстраэмбриональной жидкости

Штамм вируса	Заражающая доза, ЭИД ₅₀	Титр, lg ЭИД _{50/мл}		
		24 часа	48 часов	72 часа
H5N2	1000	7,2	7,45	7,2
	100	7,7	7,7	7,95
	10	8,2	8,45	8,45

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что вирусный материал с максимальным инфекционным титром (от 7,95 до 8,45 lg ЭИД_{50/мл}) получали при заражении куриных эмбрионов H5N2 в дозах 10 и 100 ЭИД_{50/мл} соответственно. Заражение более высокой дозой (1000 ЭИД_{50/мл}) не вело к увеличению титра инфекционной активности полученного вирусосодержащего материала.

Таким образом, было определено, что заражающая доза вируса не должна превышать 100 ЭИД_{50/мл}, так как ее увеличение не способствует накоплению в эмбрионах вируса.

В следующей серии опытов определяли количественные (средний объем) и качественные (прозрачность, вязкость, примесь белка и желтка) характеристики экстраэмбриональной жидкости, получаемой от куриных эмбрионов разного возраста через 48 часов после их заражения вирусом H5N2 в дозе 100 ЭИД₅₀.

В таблице 2 представлены результаты по количеству и качеству ЭЭЖ, получаемой от куриных эмбрионов разного срока инкубации.

Таблица 2 – Влияние возраста куриных эмбрионов (n=5), инфицированных H5N2, на количество и качество вирусосодержащей жидкости

Возраст КЭ, сутки	Штамм вируса	Средний объем ЭЭЖ от одного КЭ, мл	Средний гемагглютинирующий титр, log ₂
9	H5N2	8,2	5,7
10		10,4	6,7
11		10,6	6,8
12		9,1	6,5

Проведенный эксперимент показал, что ЭЭЖ хорошего качества (прозрачная, соломенно-желтого цвета, без примеси белка и желтка) и с высоким титром вируса можно получать культивированием H5N2 на 10 -11-ти суточных эмбрионах.

Таким образом, установлено, что оптимальными условиями культивирования штаммов вируса гриппа подтипа H5N2, позволяющими получать вирусосодержащий материал с высокой активностью, являются: заражающая доза – 10-100 ЭИД₅₀, 10-11-ти суточный возраст эмбрионов, используемых для заражения, и 48-часовой период инкубирования. Соблюдение указанных параметров позволяет получать ЭЭЖ с высоким титром инфекционной активности (8,45 lg ЭИД_{50/мл} штамма H5N2). Максимальный титр гемагглютининов в ЭЭЖ при заражении H5N2 составил 6,8 log₂.

На следующем этапе работы производили инактивацию полученного вирусосодержащего материала различными инактивантами: формалином в концентрациях от 0,01 до 0,25%, β-пропиолактоном – от 0,025 до 1%, теотропином – от 0,1 до 0,3%, аминоэтилэтиленимином – от 0,025 до 0,4%. Обработку вирусосодержащего материала инактивантами производили в течение 24 часов при +37°C при интенсивном перемешивании.

Результаты инактивации экстраэмбриональной жидкости представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3 наиболее оптимальными инактивантами являлись формалин в концентрациях 0,01-0,1%, теотропин в концентрации 0,2%, β-пропиолактон в концентрациях 0,2-1,0%, аминоэтилэтиленимин в концентрациях 0,25-0,4%. При этом сохранялась гемагглютинирующая активность при полном отсутствии остаточной инфекционности, причем при инактивации формалином и теотропином значение pH вирусосодержащей жидкости оставалось нейтральным, тогда как при обработке β-пропиолактоном наблюдалось снижение значения pH, а при использовании аминоэтилэтиленимина – увеличение. В дальнейшей работе использовали формалин в концентрации 0,1%.

Таблица 3 – Инактивация вируса гриппа птиц подтипа H5N2 различными инактивантами

Инактивант	Концентрация, %	РГА	Инфекционность H5N2
Формалин	0,01	1:256	-
	0,04	1:256	-
	0,1	1:256	-
	0,25	1:32	-
β-пропиолактон	0,025	1:128	+
	0,25	1:128	-
	0,4	1:128	-
	1,0	1:4	-
теотропин	0,1	1:128	+
	0,2	1:128	-
	0,3	1:64	-
аминоэтилэтиленимин	0,025	1:256	+
	0,1	1:128	+
	0,25	1:128	-
	0,4	1:128	-

Полноту инактивации вируса определяли на 9-10-ти суточных эмбрионах и на культуре клеток почки собаки MDCK

Установлено, что полученный антигенный материал авирулентен.

После контроля на авирулентность антиген повторно очищали от балластных примесей путем центрифугирования при 15000-17000 об/мин.

Эмульсионную вакцину получали диспергированием очищенного и авирулентного антигенного материала с масляным адъювантом на основе минерального масла Marcol-52 в соотношениях 40:60, Эмульсигеном Д – в соотношении 20:80 и адъювантом марки Montanide ISA-70 - в соотношении 30:70. Содержание антигенного материала и масляного адъюванта в данных соотношениях являлось оптимальным для обеспечения толерантной презентации антигена в организме иммунизированной птицы.

Следующий этап работы заключался в изучении соответствия полученной эмульгированной инактивированной вакцины параметрам контроля.

Контроль вакцины проводили по внешнему виду, цвету, наличию посторонних примесей, стерильности, стабильности, полноте инактивации вирусов, безвредности, реактогенности и иммуногенной активности.

Контроль внешнего вида вакцины проводили визуально. Полученная вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета типа «вода в масле». Допускается в верхней части флакона наличие слоя масляного адъюванта. Однородность содержимого флакона легко восстанавливается при интенсивном встряхивании.

Наличие посторонних примесей, дефектов флаконов определяли визуально. Наличие посторонних частиц, трещин флаконов и других дефектов укупорки не допускается.

Стерильность вакцины определяли в соответствии с ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Методы биологического контроля стерильности».

Сущность метода заключается в определении отсутствия роста бактериальной и грибковой микрофлоры в посевах из образцов вакцины на специальные питательные среды, используемые для культивирования того или иного вида микроорганизмов. Для определения контаминации аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами производили посев вакцины на МПБ и МПА, для определения присутствия анаэробов – на среду Китта-Тароцци, на агар Сабура – для определения грибково-плесневого загрязнения.

В посевах из вакцины рост бактериальной и грибковой микрофлоры отсутствовал, следовательно, опытные образцы вакцины против гриппа птиц стерильны.

Стабильность эмульсии определяли методом центрифугирования образцов вакцины. Из трех флаконов с вакциной, после интенсивного встряхивания, отбирали по 12 см³ эмульсии и переносили ее в три стеклянные центрифужные пробирки. Пробирки с эмульсией центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 мин. После чего измеряли линейкой высоту столба прозрачной фракции в верхней части пробирки. Эмульсию считали стабильной, если после центрифугирования в каждой из трех пробирок в процессе визуального контроля не было обнаружено никаких изменений содержимого, или, если высота столба прозрачной фракции, сформировавшейся в верхней части пробирки, не превышала 10 мм. Не допускается появления после центрифугирования прозрачной фракции на дне пробирки или полного расслоения эмульсии, когда препарат полностью теряет свой белый цвет, разлагаясь на составляющие компоненты: верхнюю масляную и нижнюю водную фракции с видимой границей раздела двух фаз.

Образец вакцины оказался стабильными, так как после центрифугирования не наблюдалось расслоения его на водную и масляную фракции.

Полноту инактивации вирусов в опытном образце вакцины проверяли путем заражения 9-10-ти суточных эмбрионов на хорионаллантоисную оболочку. Зараженные эмбрионы инкубировали в течение 96 часов. После инкубации эмбрионы охлаждали и производили отбор экстраэмбриональной жидкости, которую исследовали в РГА.

Установлено, что опытный образец вакцины подтипа H5N2 не агглютинировал эритроциты крови петуха. С целью подтверждения полноты инактивации вакцины провели 2 дополнительных пассажа на 9-10-ти суточных эмбрионах.

Кроме этого полноту инактивации вируса гриппа птиц проверяли на культуре клеток MDCK, заражая ее по методике, рекомендованной МЭБ. По истечении срока инкубации учитывали результаты по наличию или отсутствию цитопатического действия (ЦПД) и в РГА. При отсутствии ЦПД и гемагглютинации проводили 2 дополнительных пассажа.

Установлено, что вирус гриппа подтипа H5N2, используемый для приготовления вакцины, не оказывает цитопатического действия на культуру клеток MDCK и не вызывает агглютиницию эритроцитов, т.е. вирусные суспензии полностью инактивированы.

Определение безвредности и реактогенности полученной вакцины проводили на цыплятах 8-10-дневного возраста. Вакцину в объеме 0,5 см³ вводили цыплятам подкожно в область средней трети шеи или внутримышечно в грудную мышцу. Цыплятам контрольной группы аналогичным способом и в том же объеме вводили физиологический раствор. За птицей вели наблюдение в течение 14 суток.

Установлено, что разработанная вакцина безвредна для цыплят в возрасте 8-10 суток. Все цыплята оставались клинически здоровыми в течение всего срока наблюдения.

О реактогенности вакцины судили по негативному воздействию препарата на организм птицы в месте введения. Через 14 дней после введения вакцины цыплят убивали и место введения вакцины осматривали для оценки характера изменений мышечной ткани.

Установлено, что вакцина не реактогенна для цыплят 8-10 дневного возраста, поскольку на месте инъекции не наблюдалось отеков, покраснений, а также повышения температуры тела. При вскрытии на месте введения препарата отсутствовала воспалительная реакция.

Изучение иммуногенной активности экспериментального образца инактивированной эмульгированной вакцины против вируса гриппа птиц подтипов H5N2 проводили на цыплятах 8-10-ти суточного возраста, у

которых до иммунизации (фон), а затем после нее на 14, 21 и 28-е сутки были отобраны пробы крови. Сыворотку исследовали в РТГА согласно "Методическим указаниям по определению уровня антител к вирусу гриппа птиц в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)". Вакцину считали иммуногенной, если через 28 суток после вакцинации у 80% цыплят опытной группы титры антител в сыворотках крови были не ниже $4,0 \log_2$. При этом титры антител в сыворотках крови у цыплят контрольной группы за период опыта не должны увеличиваться.

Об антигенной активности вакцины судили по нарастанию титров специфических антител в сыворотках крови цыплят в опытной группе (РТГА).

Результаты изучения антигенной активности вакцины представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, введение вакцины цыплятам приводило к нарастанию титров антител в сыворотках крови с 2,0 до $7,0 \log_2$ для подтипа H5N2 к 28 суткам.

Таблица 4 – Антигенная активность инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа птиц подтипа H5N2 в РТГА

Подтип вируса	Титры антител, \log_2			
	фон	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
H5	0	2,0	6,0	7,0

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований

- разработан опытный образец инактивированной эмульгированной вакцины против вируса гриппа птиц подтипа H5N2

- вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета типа «вода в масле»

- изготовленный образец вакцины стерилен, безвреден

- образец вакцины обладает высокой антигенной активностью и приводит к формированию напряженного иммунитета у цыплят.

УДК619:616-091.8:615.371:636.4

ВЛИЯНИЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ НА СОДЕРЖАНИЕ РНК, АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛИКОГЕНА В ОРГАНАХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ СВИНЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И СТРЕПТОКОККОЗА

Казючиц М.В., Прудников В.С.

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

Применение совместно с вакциной СПС иммуностимуляторов натрия тиосульфата и витамина С способствует статистически достоверному повышению в периферической крови содержания РНК в лимфоцитах и гликогена в нейтрофилах, а в органах и клетках происходит более заметное распределение гликогена и аскорбиновой кислоты.

Application of sodium thiosulphate and vitamin C together with the vaccine SPS promotes statistically authentic increase in peripheral blood maintenance RNA in lymphocytes and glycogen in neutrophils, and in organs and cells there is more appreciable distribution of a glycogen and acidum ascorbolicum.

Введение. В настоящее время представление иммуноморфологического обоснования к применению вакцин, иммуностимуляторов и лекарственных веществ в ветеринарной медицине выступает не столько в форме дополнительной рекомендации, сколько в виде непреложного требования, так как оно позволяет интерпретировать морфологические изменения в иммунной системе животных на организменном, системном, органном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях.

Морфологические показатели крови расширяют представление о состоянии иммунной системы животных. Они учитывают количество микрофагов, макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, функциональную активность фагоцитов, а также активность Т- и В-лимфоцитов по содержанию в их цитоплазме РНК [6, с. 100; 7, р. 2408].

Изменение содержания РНК в органах иммунной системы вакцинированных животных свидетельствует об усилении или угнетении их белоксинтезирующей (в том числе антителосинтезирующей) функции и объективно отражает состояние гуморального звена иммунного ответа. Поэтому определение уровня нуклеиновых кислот в органах иммуногенеза дает объективную оценку иммунного статуса млекопитающих и птиц, изменяющегося при использовании живых и инактивированных вакцин [2, с. 24].

Количественное определение и качественное выявление ферментов в органах и тканях (кислой и щелочной фосфатаз и др.) также характеризует функциональную активность клеток иммунной и других систем.

С помощью гистохимических и иммуногистохимических методов исследования выявляют в органах иммунной и неиммунных систем химические вещества (аскорбиновую кислоту, гликоген и др.), характеризующие тот обмен веществ, метаболитами которого они являются. Гликоген является одним из источников энергии. Обеспечивает фагоцитоз микро- и макрофагами. Витамин С оказывает благоприятное влияние на общую реактивность организма, укрепляет неспецифические механизмы защиты, а также активирует антителогенез [6, с. 101].

Материал и методы. Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории кафедры патанатомии и гистологии, а также в СГЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области. Был изучен иммуноморфогенез у поросят при вакцинации их ассоциированной поливалентной вакциной против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза без и совместно с иммуностимуляторами натрия тиосульфатом и аскорбиновой кислотой.