

УДК 636.5:611.4: 619:616.98:579.834.115:615.371

МОРФОЛОГИЯ КОСТНОГО МОЗГА У СВИНЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА**Никитенко И.Г.**

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

При иммунизации свиней против лептоспироза вакцинами отечественного производства, содержащими в своем составе различные адъюванты, с применением иммуностимулирующих препаратов в костном мозге наблюдается активизация миелобластического кроветворения, снижение эритропоэза, увеличение лейкоэритробластического индекса и усиление фагоцитарной активности нейтрофилов.

The immunization of pigs against leptospirosis with domestic vaccines containing various adjuvants combined with the application of immunostimulants leads in osteal brain is observed activation myeloblastic hemopoiesis, decrease erythropoiesis, augmentation of leucoerythroblastic index and intensifying of phagocytic activity of neutrophils.

Введение. Несмотря на проводимые плановые мероприятия в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь эпизоотическая ситуация по лептоспирозу свиней по-прежнему остается напряженной. Заболевание зачастую протекает бессимптомно, широко распространено лептоспирозительство, что резко снижает продуктивность животных. По эпидемиологической значимости и экономическому ущербу лептоспироз стоит наряду с такими инфекциями, как туберкулез, бруцеллез, пастереллез и др. [4]. Поэтому дальнейшее совершенствование средств специфической профилактики лептоспироза свиней с учетом этиологической структуры заболевания является актуальным в настоящее время.

Костный мозг млекопитающих является одновременно основным органом кроветворения и центральным органом иммунной системы. Он также участвует в костеобразовательных процессах, депонировании крови, обмене белков, жиров, углеводов, витаминов и минеральных веществ в организме. В зависимости от выполняемой функции различают три стадии развития костного мозга, последовательно сменяющие друг друга: остеобластический (костеобразовательный) преобладает в эмбриональный период развития, красный (кроветворный) костный мозг выполняет главную функцию образования всех клеток крови и иммунной системы, и желтый (ожиревший) костный мозг, который появляется после рождения в диафизах трубчатых костей и постепенно замещает красный. При необходимости на месте желтого костного мозга могут вновь образовываться очаги кроветворения за счет стволовых клеток, приносимых сюда кровью [6, 8].

Красный костный мозг представляет собой вещество темно-красного цвета, полужидкой консистенции. Содержится у взрослых млекопитающих в губчатой веществе костей свода черепа, ребер, грудины, в телах позвонков, эпифизах трубчатых костей. Строма его представляет собой связанную с эндостом и кровеносными сосудами ретикулярную ткань (ретикулярные клетки, ретикулярные и коллагеновые волокна). Кровеносные сосуды костного мозга составляют до 50% его массы. Паренхима костного мозга представлена миелоидной тканью, которая содержит основную популяцию стволовых кроветворных клеток, являющуюся родоначальницей всех клеток крови и лимфы.

Гемопоэтические клетки, как правило, располагаются островками, образуя скопления бластных, дифференцирующихся и зрелых форм эритроцитопоэтического, гранулоцитопоэтического и мегакариоцитарно-тромбоцитопоэтического рядов. Дифференцирующиеся лимфоциты и моноциты расположены преимущественно вблизи кровеносных сосудов в виде единичных клеток или мноморфных скоплений. Наиболее интенсивное кроветворение отмечается вблизи эндоста, где более высокая концентрация стволовых клеток. Созревающие клетки поступают в синусоидные (венозные) капилляры костного мозга, где некоторое время дозревают, а затем выносятся в общий кровоток и заселяют иммунокомпетентные органы [6, 7, 8].

Исследование костного мозга является неотъемлемой частью комплексного изучения системы иммунитета и определения иммунного статуса животных, в том числе при иммунизации и иммунокоррекции.

Целью наших исследований явилось изучение морфологических изменений в костном мозге у свиней при иммунизации их против лептоспироза вакцинами отечественного производства, содержащими в своем составе различные адъюванты, а также иммуностимуляцией раствором серноватистокислого натрия.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования были проведены на 60 свиньях в возрасте 6 месяцев, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 5 групп по 12 голов в каждой. Животных 1-й группы иммунизировали отечественной инактивированной поливалентной вакциной ВГНКИ производства УП «Витебская биофабрика» против лептоспироза свиней, в качестве адъюванта применялась гидроокись алюминия (вакцина гидроокисьалюминиевая). Свиньям 2-й группы вводили экспериментальную вакцину против лептоспироза, изготовленную по заказу в УП «Витебская биофабрика», где в качестве адъюванта использовали 30%-й раствор серноватистокислого натрия (вакцина тиосульфатная). Животных 3-й группы иммунизировали экспериментальной вакциной против лептоспироза свиней, изготовленной по заказу в УП «Витебская биофабрика», где в качестве адъюванта применяли минеральное масло Маркол 52 (вакцина эмульгированная). Свиней 4-й группы вакцинировали также экспериментальной вакциной против лептоспироза с адъювантом Маркол 52, с добавлением иммуностимулятора серноватистокислого натрия до 30%-ной концентрации в вакцину (вакцина эмульгированная совместно с серноватистокислым натрием). Интактные животные 5-й группы служили контролем.

Иммунизацию свиней 1-4 групп проводили согласно наставлению по применению гидроокисьалюминиевой вакцины внутримышечно однократно (у основания уха с правой стороны) в дозе 6 мл.

На 7-й, 14-й и 21-й дни после вакцинации производили убой 4 животных из каждой группы. Для проведения морфологических исследований костного мозга отбирали кусочки грудной кости, фиксировали в 10% растворе формалина, проводили их декальцинацию 1 н раствором уксусной кислоты. Зафиксированный материал подвергали обезвоживанию и инфильтрации парафином с помощью автомата для гистологической

обработки ткани типа «Карусель», модель STP-120 (Microm International, Германия) [3, 5]. Для изготовления парафиновых блоков использовали станцию для заливки ткани EC 350 (Microm International, Германия). Гистологические срезы готовили на ротационном микротоме HM 340E (Microm International, Германия). Депарафинирование гистосрезов проводили в автомате по окраске HMS 70 (Microm International, Германия), после чего окрашивали их по методу Паппенгейма [1].

Миелограмму выводили на основании подсчета 1000 клеток, придерживаясь унитарной теории кроветворения, предложенной И.Л. Чертковым и А.П. Воробьевым (1981), руководствуясь морфологическим описанием клеток кроветворных органов и крови по И.М. Карпутью [1].

Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [1, 2]: лейкоэритробластический индекс (соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков); костномозговой индекс созревания нейтрофилов (отношение молодых гранулоцитарных клеток (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым нейтрофилам (палочкоядерные, сегментоядерные); костномозговой индекс созревания эозинофилов (соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток эозинофильной группы) и костномозговой индекс созревания эритронормобластов (отношение числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные и оксифильные нормоциты) к количеству всех клеток эритроидного ряда).

Полученные цифровые данные обрабатывали статистически с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. Результаты наших исследований показали, что на 7-й день после вакцинации в миелограмме свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, отмечалось достоверное увеличение на 20,1 и 10,5% соответственно количества клеток миелобластического ряда по сравнению с интактными животными. Возрастание данного показателя происходило в основном за счет клеток нейтрофильной группы, преимущественно молодых форм нейтрофильных гранулоцитов (миелоцитов и метамиелоцитов). У свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной, по отношению к контрольным животным отмечалось увеличение в 2,4 раза ($P < 0,05$) содержания базофилов.

Количество лимфоцитов у вакцинированных свиней всех групп превышало таковое у интактных животных на 20,2-42,8% ($P < 0,05$). Содержание плазматических клеток у всех иммунизированных животных было достоверно выше в 3-4,6 раза, чем в контроле. У свиней, привитых эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, наблюдалось также увеличение количества моноцитов в 1,6 раза ($P < 0,05$) по сравнению с интактными животными. В то же время общее количество клеток эритробластического ряда у иммунизированных свиней всех групп было достоверно ниже в 1,3-1,8 раза, чем у контрольных животных. Среди клеток эозинофильной группы, а также мегакариоцитов у вакцинированных и контрольных свиней достоверных отличий не наблюдалось.

Лейкоэритробластический индекс у иммунизированных свиней всех групп достоверно превышал в 1,5-2,3 раза данный показатель у контрольных животных, что свидетельствует о гиперплазии клеток белого ростка. У животных, привитых эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, отмечалось достоверное увеличение в 1,4 и 1,5 раза соответственно костномозгового индекса созревания нейтрофилов по сравнению с интактными животными, что указывает на омоложение клеток белой крови.

На 14-й день после иммунизации в миелограмме вакцинированных свиней всех групп наблюдалось увеличение на 14,1-27,0% общего количества клеток миелобластического ряда по сравнению с животными контрольной группы, причем у свиней 2-й, 3-й и 4-й групп эти изменения были достоверны. Повышение данного показателя происходило преимущественно за счет увеличения содержания клеток нейтрофильной группы – их количество у иммунизированных животных было больше на 24,4-43,3% ($P < 0,05$; $P < 0,01$), чем в контроле.

У свиней, привитых эмульгированной вакциной, наблюдалось увеличение в 4 раза ($P < 0,05$) количества базофилов по сравнению с интактными животными. У свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, отмечалось достоверное уменьшение содержания клеток эозинофильной группы на 21,2% по сравнению с животными, привитыми гидроокисьалюминиевой вакциной, и на 35,2% – по отношению к животным контрольной группы.

Общее содержание клеток эритроидного ростка у вакцинированных свиней всех групп было достоверно ниже в 1,2-1,8 раза, чем у интактных животных. Количество плазматических клеток у всех иммунизированных свиней достоверно превышало в 4-5,9 раза контрольные значения. При этом наиболее высоким данный показатель был у животных, привитых эмульгированной и гидроокисьалюминиевой вакцинами. Содержание лимфоцитов и моноцитов изменялось недостоверно. Количество мегакариоцитов было выше в 1,6 раза ($P < 0,05$) у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой вакциной, по отношению к контрольным животным.

У свиней, привитых гидроокисьалюминиевой и эмульгированной вакцинами без и совместно с серноватистокислым натрием, отмечалось увеличение в 1,8-2,3 раза ($P < 0,01$) лейкоэритробластического индекса по сравнению с животными контрольной группы, что указывает на активную гиперплазию клеток белого ростка. У свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной без и совместно с серноватистокислым натрием, индекс созревания нейтрофилов был выше в 1,4 раза ($P < 0,05$), чем в контроле, что говорит об омоложении клеток нейтрофильной группы. У свиней, привитых тиосульфатной и эмульгированной совместно с серноватистокислым натрием вакцинами, в сравнении с интактными животными достоверно уменьшался в 1,5-1,7 раза индекс созревания эозинофилов, что, возможно, указывает на задержку выхода зрелых клеток эозинофильного ряда в кровь.

На 21-й день после вакцинации в миелограмме подопытных свиней достоверных отличий в миелобластическом ряду не отмечалось, что свидетельствует о затухании микрофагальной реакции. У свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной, по-прежнему наблюдалось достоверное увеличение в 2,8 раза содержания базофилов и на 23,0% – общего количества нейтрофилов по сравнению с контрольными животными.

Отмечалось выравнивание показателей эритробластического ряда между группами, только у свиней, привитых эмульгированной вакциной, данный показатель был ниже на 30,2% ($P < 0,01$) по отношению к контролю.

Достоверное увеличение количества плазматических клеток в 4,1 раза наблюдалось в группе свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной по сравнению с интактными животными. Содержание лимфоцитов, моноцитов и мегакариоцитов на данном сроке исследований достоверных отличий не имело.

У свиней, привитых эмульгированной вакциной, отмечалось увеличение в 1,5 раза ($P < 0,01$) лейкоэритробластического индекса по отношению к животным контрольной группы. Костномозговой индекс созревания нейтрофилов был достоверно выше в 1,1-1,6 раза у вакцинированных свиней всех групп по сравнению с интактными животными.

Заключение. Проведенные нами исследования показали, что при иммунизации свиней отечественными инактивированными вакцинами против лептоспироза в костном мозге наблюдается морфологическая перестройка, проявляющаяся активизацией миелобластического кроветворения, преимущественно за счет клеток нейтрофильной группы, которые обладают высокой фагоцитарной активностью; снижением эритропоза; увеличением количества плазматических клеток; а также повышением лейкоэритробластического индекса, что свидетельствует об активной гиперплазии клеток белого ростка. Наиболее выраженными данные изменения были у животных, иммунизированных эмульгированной и гидроокисью алюминия вакцинами.

Литература. 1. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 2. Коленкин, С.М. Основные правила исследования пунктата костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - № 2. – С. 41-43. 3. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – 645 с. 4. Максимович, В.В. Эпизоотическая ситуация по лептоспирозу свиней в Республике Беларусь / В.В. Максимович, С.Л. Гайсенко // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т.43, вып.2. – С. 75-78. 5. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 6. Сапин, М.Р. Иммунная система человека / М.Р. Сапин, Л.Е. Эттингер. – М. : Медицина, 1996. – 304 с. 7. Соколов, В.И. Цитология, гистология, эмбриология / В.И. Соколов, Е.И. Чумасов. – М. : «КолосС», 2004. – 351 с. 8. Хрусталева, И.В. Иммунокомпетентные структуры млекопитающих и птиц новорожденного периода / И.В. Хрусталева, Б.В. Криштофорова, В.В. Лемещенко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2007. - № 5. – С. 49-54.

УДК 619:616.98:636.52

ПОДБОР АДЪЮВАНТА ПРИ СОЗДАНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАРАГРИППА-3 КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Пташок А.Л.

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

Введение. В настоящее время в животноводческих хозяйствах республики значительное распространение получили вирусные пневмоэнтериты крупного рогатого скота, которые самостоятельно редко вызывают клинические проявления заболевания и развиваются, как правило, на фоне различных технологических нарушений и стрессовых ситуаций.

При современном промышленном ведении животноводства значительный ущерб наносят заболевания коров и телят, в этиологии которых играют возбудители вирусной природы которые наносят существенный ущерб хозяйствам. У животных из стад с высокой степенью инфицированности вирусом парагриппа-3 значительно снижается оплодотворяемость, часто отмечаются аборт на различных стадиях стельности, у телят от легких ринитов или бронхитов до тяжелой бронхопневмонии, у отелившихся коров - наблюдают эндометриты, маститы, вагиниты. Отелившиеся от таких коров телята практически все переболевают пневмоэнтеритами с высокой степенью отхода. При неблагоприятных условиях содержания заболеваемость в сравнительно короткие сроки достигает более 70 %, летальность – в среднем 2%, но может быть значительно выше при смешанных инфекциях до 20%.

Материалы и методы исследования. При разработке наиболее оптимальной схемы вакцинации животных против многих инфекционных болезней следует учитывать эпизоотологическую структуру болезни и антигенный состав используемой вакцины, уровень колострального иммунитета и иммунного статуса организма. Кратность применения препарата и другие вопросы.

Цель данных исследований – испытание вакцины против парагриппа-3, и вакцины ИРТ и парагриппа-3 с адъювантами «Эмульсиген Д» (MVP, США) и гидроксал.

Вакцина изготовлена в условиях РНИУП «Института экспериментальной ветеринарии им С. Н. Вышелесского НАН Беларуси». Вакцину вводили двукратно с интервалом 21 день в дозе 2 мл.

Объект исследования сыворотка крови, полученная от кроликов, находившихся в клинике кафедры эпизоотологии УО ВГАВМ.

Серологические исследования проводили с помощью наборов жидких цветных эритроцитарных антигенов и сывороток для диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота (ТУ ВУ 600049853.159-2010). РНГА ставилась по общепринятой методике в соответствии с наставлениями по применения наборов. Исследования проводились на базе НИИ ПВМ и Б при УО ВГАВМ.

В опыте использовали 4 группы кроликов 6-ти месячного возраста, которым вводили вакцину с различными адъювантами с интервалом 21 день, пятая группа – контрольная. Отбор крови проводили перед началом опыта, в день ревакцинации и через 14 дней после вторичного введения вакцины. Полученную сыворотку крови замораживали до серологического исследования.

Результаты исследований. Полученные результаты представлены в таблице.