

ИММУНОГЕНЕЗ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ И СЕЛЕЗЕНКЕ У КРОЛИКОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ НА ФОНЕ СУБКЛИНИЧЕСКОГО ЭЙМЕРИОЗА

Якименко В.П.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК, некротический гепатит, геморрагическая пневмония кроликов) – остропротекающая, высококонтагиозная болезнь, характеризующаяся явлениями геморрагического диатеза во всех органах, в особенности в легких и печени.

Возбудителем ВГБК является РНК-содержащий вирус из семейства Caliciviridae. К данному вирусу чувствительны только кролики, независимо от породы и пола. Наиболее восприимчивы взрослые особи массой 3,5 кг. Болезнь характеризуется высокой летальностью, которая в начале эпизоотии достигает практически 100%, в дальнейшем она снижается и составляет 75-80%. [1]

В настоящее время вирусная геморрагическая болезнь кроликов регистрируется во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь, нанося кролиководческим хозяйствам большой экономический ущерб, состоящий из затрат на лечение, ветеринарно-санитарные мероприятия и осуществление ограничительных мероприятий.

Основным способом профилактики этой болезни является проведение специфической вакцинации.

С целью иммунизации кроликов против ВГБК в кролиководческих хозяйствах Республики Беларусь применяют вакцины, изготовленные, в основном, в Российской Федерации.

Но, несмотря на высокую иммуногенность применяемых биопрепаратов, нередко случаи вспышек ВГБК среди вакцинированных животных (так называемые прорывы иммунитета). Это можно объяснить наличием ряда факторов, снижающих иммунный ответ на введение вакцины. К таким факторам относятся и протозойные заболевания, в частности, эймериоз.

Эймериоз кроликов встречается во всех странах мира. В хозяйствах РБ выявлено 8 видов эймерий, паразитирующих у кроликов. При этом инвазированность животных составляет 70-100%. [3] Вследствие того, что эймериоз у кроликов часто протекает субклинически, т.е. без выраженных клинических признаков, инвазированность животных остается невыявленной и, следовательно, не учитывается при проведении вакцинации.

Учитывая вышесказанное, нам представляется актуальным изучить иммуноморфогенез у кроликов, вакцинированных против ВГБК на фоне субклинического течения эймериоза.

Всего в экспериментальной части работы было использовано 48 кроликов 1-месячного возраста.

Все животные, участвующие в опыте, подбирались по принципу аналогов и перед началом работы были неиммунны к ВГБК, о чем свидетельствует отсутствие титра специфических антител в РЗГА.

Условия содержания и кормления подопытных кроликов соответствовали установленным зоотехническим и санитарным требованиям и не отличались для всех подопытных групп животных.

В экспериментальной части работы были изучены иммуно- и иммуноморфогенез, показатели неспецифической резистентности и морфологические изменения в крови кроликов, иммунизированных против ВГБК, и влияние на указанные показатели субклинического течения эймериоза и противозеймерной терапии.

Для этого 48 кроликов 1-месячного возраста, подобранных по принципу аналогов, разделили на 4 опытных группы по 12 животных.

Животные 1-й группы за 14 дней до вакцинации против ВГБК были заражены смесью спорулированных ооцист эймерий (*E. perforans*, *E. irrisidua*, *E. intestinalis*).

Кролики 2-й группы были свободны от эймерий и вакцинированы.

Животным 3-й группы, спонтанно инвазированным эймериями, за 10 дней до вакцинации была проведена противозеймерная терапия.

Кролики 4-й группы являлись интактными, т.е. свободными от эймерий и не вакцинированными.

Для вакцинации животных использовали вакцину против ВГБК тканевую инактивированную, которую применяли согласно Наставления однократно, внутримышечно, с внутренней стороны бедра. Перед применением вакцину растворяли стерильным физиологическим раствором хлорида натрия. Кроликам 4-й группы вместо вакцины ввели стерильный изотонический раствор натрия хлорида в объеме равном объему вакцины, введенной животным других групп.

Заражение животных спорулированными ооцистами эймерий проводили перорально с использованием зонда. Доза заражения - 20 000±200 ооцист на голову в течение дня, за три приема. [3]

Противозеймерная терапия включала в себя обработку животных трихополом (метронидазолом) в дозе 20 мг/кг 2 раза в день в течение 5 дней.

На 7-й, 14-й и 21-й дни после вакцинации 4 кролика из каждой группы подвергались убою с целью оценки морфологических изменений и отбора кусочков органов и тканей для дальнейшего иммуноморфологического исследования.

Одновременно у этих животных проводили отбор проб крови для дальнейших гемато- и серологических исследований, а также для изучения факторов неспецифической защиты.

Анализ полученных результатов.

На 7-й день после вакцинации титр антител у животных 1-й группы был ниже аналогичного показателя у кроликов 2-й группы в 3,7 раза, на 14-й

день – в 2,5 раза и на 21-й день – в 2,2 раза, и находился на уровне $1,50 \pm 0,29 \log_2$ на 7-й день после иммунизации, $3,25 \pm 0,75 \log_2$ на 14-й и $3,75 \pm 0,63 \log_2$ на 21-й дни.

В то же время исследуемый показатель у животных 2-й и 3-й групп достоверно не отличался друг от друга на протяжении всех сроков исследо-

ваний и находился на уровне $5,50-5,75 \log_2$ на 7-й, $8,00 \log_2$ на 14-й и $8,25-8,50 \log_2$ на 21-й дни после введения вакцины (таб. 1.).

По данным ряда авторов, гарантией устойчивости кроликов к заражению вирулентным вирусом ГБК является наличие ВНА в титре не менее 1: 32 (т.е. $\log_2 5$) [1].

Таблица 1 – Титр антител у кроликов, вакцинированных против ВГБ

Группы	Титры антител (\log_2)		
	7 день	14 день	21 день
1 группа	$1,50 \pm 0,29$	$3,25 \pm 0,75$	$3,75 \pm 0,63$
2 группа	$5,50 \pm 0,25$	$8,00 \pm 0,41$	$8,25 \pm 0,29$
3 группа	$5,75 \pm 0,48$	$8,00 \pm 0,41$	$8,50 \pm 0,29$
4 группа	-	-	-

Показатели, характеризующие состояние неспецифической защиты организма, у кроликов 1-й опытной группы во все сроки исследований находились на достоверно более низком уровне, чем у здоровых вакцинированных животных и у кроликов, иммунизированных после проведения противозимериозной

терапии. В то же время достоверных отличий в основных показателях у кроликов 2-й и 3-й опытных групп отмечено не было, однако эти показатели были достоверно выше, чем у не иммунных животных 4-й группы и кроликов, вакцинированных на фоне субклинического зимериоза (таб. 2.).

Таблица 2 – Факторы неспецифической защиты у кроликов, вакцинированных против ВГБ

Дни после вакцинации	БАСК	ЛАСК	К-во лейкоцитов ($\times 10^9 / л$)	Процент фагоцитоза (%)
Группа № 1				
7	$41,48 \pm 0,44$	$6,00 \pm 0,19$	$9,50 \pm 0,27$	$36,75 \pm 4,05$
14	$41,65 \pm 0,65$	$5,70 \pm 0,21$	$9,10 \pm 0,24$	$28,75 \pm 2,29$
21	$41,80 \pm 0,87$	$5,28 \pm 0,29$	$9,05 \pm 0,31$	$28,25 \pm 1,55$
Группа № 2				
7	$53,50 \pm 0,28$	$8,50 \pm 0,18$	$10,60 \pm 0,58$	$67,25 \pm 2,25$
14	$55,55 \pm 1,25$	$8,73 \pm 0,22$	$9,73 \pm 0,25$	$71,00 \pm 3,72$
21	$55,30 \pm 0,79$	$8,43 \pm 0,13$	$9,15 \pm 0,36$	$70,75 \pm 1,03$
Группа № 3				
7	$52,43 \pm 0,58$	$8,35 \pm 0,15$	$11,30 \pm 0,23$	$68,25 \pm 1,93$
14	$52,75 \pm 0,66$	$8,58 \pm 0,20$	$11,05 \pm 0,28$	$73,5 \pm 1,85$
21	$54,23 \pm 0,11$	$8,80 \pm 0,16$	$10,05 \pm 0,40$	$67,5 \pm 1,44$
Группа № 4				
7	$48,75 \pm 0,14$	$7,73 \pm 0,13$	$8,55 \pm 0,17$	$65,00 \pm 1,47$
14	$49,16 \pm 0,87$	$7,55 \pm 0,22$	$8,28 \pm 0,40$	$64,00 \pm 1,47$
21	$49,35 \pm 0,782$	$7,43 \pm 0,33$	$8,00 \pm 0,09$	$67,75 \pm 0,85$

Тимус на 7-й, 14-й и 21-й дни после проведения иммунизации у кроликов всех опытных групп макроскопически представлял собой образование размером в среднем $2,5 \times 1,5$ см, мягкой консистенции, бело-розового цвета, с умеренно выраженным рисунком дольчатого строения на разрезе.

При гистологическом исследовании на 7-й день после проведения иммунизации, в тканях тимуса здоровых вакцинированных кроликов и животных, иммунизированных после проведения противозимериозной терапии, по сравнению с невакцинированными кроликами 4-й опытной группы, отмечалось расширение корковой зоны, состоящей из незрелых форм клеток с ярко прокрашенными ядрами и хорошо различимыми цитоплазматическими ободками.

В тимусе кроликов, вакцинированных на фоне

субклинического зимериоза, гистологические изменения были схожи с аналогичными у животных 2-й и 3-й опытных групп, однако менее ярко выражены.

На 14-й день после вакцинации в тимусе кроликов 2-й и 3-й опытных групп также, по сравнению с неиммунизированными животными 4-й группы, отмечалось расширение коркового вещества, однако плотность тимоцитов была заметно ниже.

Аналогичные изменения отмечались и в ткани тимуса кроликов, иммунизированных на фоне субклинического зимериоза (1-я опытная группа).

На 21-й день после проведения иммунизации, гистологических изменений в тканях тимуса кроликов всех опытных групп отличий отмечено не было.

При гистологическом исследовании на 7-й день после проведения иммунизации, в белой пульпе селезенки кроликов 2-й и 3-й опытных групп отме-

чалось значительное увеличение количества вторичных фолликулов с хорошо выраженными реактивными центрами. Соотношение первичных и вторичных фолликулов в ткани селезенки этих животных составляло в среднем 1:5. Увеличение количества вторичных фолликулов отмечалось и в селезенке кроликов, вакцинированных против ВГБК на фоне субклинического течения эймериоза, однако соотношение первичных и вторичных узелков составляло в среднем 2:5. В белой пульпе селезенки невакцинированных животных (т.е. 4-й группы) вышеуказанное соотношение составляло 3:2.

Также в селезенке кроликов 2-й и 3-й опытных групп по сравнению с невакцинированными животными 4-й группы отмечалось расширение периаортальных зон лимфоидных узелков, состоящих из малых лимфоцитов с повышенной активностью кислой фосфотазы.

При анализе плазмоцитарной реакции в селезенке на 7-й день после проведения вакцинации у кроликов 1-й группы отмечалось увеличение плазмобластов на 11%, проплазмобластов на 28%, проплазмочитов на 33%, плазмочитов на 13% по сравнению с животными 4-й группы, однако все эти показатели были ниже соответствующих у кроликов 2-й группы в 2,1 раза, на 71%, 91% и 87% соответственно.

Достоверных отличий в показателях, характеризующих плазмоцитарную реакцию в селезенке у кроликов 2-й группы, и у животных, вакцинированных против ВГБК после проведения противозимериозной терапии, отмечено не было.

В то же время бластные формы клеток в селезенке здоровых вакцинированных кроликов превышали аналогичный показатель у интактных животных 4-й группы в 2,1 раза, количество проплазмочитов было больше в 2,6 раза, а зрелых плазматических клеток – в 2,1 раза.

На 14-й день после проведения иммунизации при гистологическом исследовании в белой пульпе селезенки животных 1-й, 2-й и 3-й опытных групп, так же, как и на 7-й день после проведения вакцинации, отмечалось увеличение количества вторичных лимфоидных узелков, соотношение первичных и вторичных фолликулов – 1:3 (2-я и 3-я группы); 1:2 (1-я группа) и 3:1 у интактных кроликов 4-й группы.

В то же время, как и на 7-й день после вакцинации, в селезенке кроликов 2-й и 3-й опытных групп отмечалось расширение периаортальных зон лимфоидных фолликул и усиление активности кислой фосфотазы в клетках, скопившихся в этих зонах.

При анализе гистологической картины, характеризующей плазмоцитарную реакцию в селезенке кроликов, вакцинированных против ВГБК на фоне субклинического эймериоза, по сравнению с интактными животными 4-й группы, отмечалось достоверное увеличение количества бластных форм клеток (лимфобласты и проплазмобласты) на 15%, проплазмочитов – на 24% и зрелых плазмочитов – на 7%. При сравнении показателей плазмоцитарной реакции в селезенке кроликов 1-й группы со здоровыми животными, вакцинированными против ВГБК,

отмечалось достоверное снижение количества бластных форм клеток, проплазмочитов и зрелых плазматических клеток в среднем в 2 раза.

Достоверных отличий в показателях, характеризующих плазмоцитарную реакцию в селезенке у кроликов 2-й группы и у животных, вакцинированных против ВГБК после проведения противозимериозной терапии, отмечено не было.

При сравнении количества клеток плазматического ряда в селезенке здоровых вакцинированных кроликов и интактных животных 4-й группы было отмечено достоверное увеличение количества бластных форм клеток в 2,3 раза, проплазмочитов в 2,6 раза и зрелых плазматических клеток в 2,2 раза.

На 21-й день гистологические изменения в селезенке опытных животных напоминали аналогичные на предыдущих сроках исследований, однако различия были менее ярко выражены и не всегда достоверны.

Расчет экономической эффективности проводили по «Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», утвержденной Главным управлением ветеринарии с государственной ветеринарной инспекцией МСХ и П РБ 10. 05. 2000 г., в ценах на 1 января 2005 года. Расчет проводился на 100 условных голов [2].

При анализе экономических показателей можно отметить, что экономический эффект при вакцинации кроликов против ВГБК после проведения противозимериозной терапии был на 285000 руб. выше, чем при иммунизации животных на фоне субклинического эймериоза.

Экономическая эффективность вакцинации на рубль затрат составила 3,09 руб. при иммунизации кроликов против ВГБК на фоне субклинического эймериоза, а при вакцинации после проведения противозимериозной терапии – 3,8 руб.

Анализируя вышесказанное, можно сделать вывод, что у кроликов, вакцинированных против ВГБК на фоне субклинического течения эймериоза, иммунная система находится на уровне, не достаточном для формирования напряженного иммунитета.

Применение противозимериозной терапии за 10 дней до иммунизации приводит к тому, что степень выраженности иммуноморфологических реакций в иммунокомпетентных органах этих животных достоверно не отличается от аналогичных у здоровых вакцинированных животных и находится на уровне, достаточном для формирования напряженного иммунитета.

Экономическая эффективность вакцинации на рубль затрат при иммунизации кроликов против ВГБК на фоне субклинического эймериоза на 0,71 руб. ниже, чем при вакцинации после проведения противозимериозной терапии.

Литература: 1. Вирусные болезни животных. / Сюрин В.Н. [и др.] – Москва. - ВНИТИБП. - 1998. - 928 с. 2. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий. / Н.С. Безбородкин [и др.] – Витебск, 2000. – 15 с. 3. Ятусевич, А.И. Эймериоз кроликов / А.И. Ятусевич, Т.В. Медведская // Монография. – Витебск, 2001. – 67 с.