

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЭРОЗОЛЬНОЙ ВАКЦИНАЦИИ ЦЫПЛЯТ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА С УЧЁТОМ ПЛАЗМОКЛЕТОЧНОЙ РЕАКЦИИ В ГАРДЕРОВОЙ ЖЕЛЕЗЕ И НАКОПЛЕНИЯ АНТИГЕМ-АГГЛЮТИНИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Головко В.А., д.вет.н., проф., академик НААН Украины

Смолянинов В.К., к. вет. наук, доцент,

Северин Р.В., к. вет. наук, доцент,

Смолянинова И.В., врач вет. медицины

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Аннотация. Представлены данные о степени выраженности плазмноклеточной реакции в Гардеровой железе 2-3-месячных цыплят, аэрозольно вакцинированных против болезни Ньюкасла в динамике развития иммуногенеза и накопления антигемагглютининов в сыворотке крови. Если проанализировать степень развития плазмноклеточной реакции, то количество плазмобластов увеличивается на третий день после первичной и особенно после повторной аэрозольной вакцинации, а молодых плазматических клеток – на пятый день после первичной и повторной вакцинации. Пик плазмноклеточной реакции зарегистрирован в Гардеровой железе на седьмой день после первичной и особенно после повторной иммунизации (в одном поле зрения микроскопа насчитывали от 6 до 15-ти плазматических клеток. На 10-14 день после первичной и повторной аэрозольной вакцинации в поле зрения микроскопа регистрировались в основном зрелые плазматические клетки.

Установлено, что плазмноклеточная реакция предшествовала накоплению антигемагглютининов в сыворотке крови. В наивысших титрах антигемагглютинины в сыворотке крови обнаружены (1:64 – 1:256) на 14-ый день после повторной вакцинации. При гистохимическом исследовании установлено, что в плазматических клетках хорошо окрашивались метиловым зелёным пиронином цитоплазма, ядрышки и базофильные образования, которые формировались в цитоплазме, а затем отшнуровывались от цитоплазмы.

При электронно-микроскопических исследованиях клеток плазмоцитарного ряда установлено, что цитоплазма их состоит из канальцев эндоплазматической сети (эргастоплазма), на внутренней стороне которых хорошо видны тёмные точки – рибосомы, которые принимают участие в синтезе антител антителообразующими плазматическими клетками. Базофильные образования так же состояли из канальцев эндоплазматической сети.

Ключевые слова: цыплята, Гардерова железа, аэрозольная вакцинация, иммунитет, плазматические клетки, базофильные образования, вакцина, сыворотка крови, антигемагглютинины, эндоплазматическая сеть, рибосомы, цитологические, гистологические и электронно-микроскопические исследования.

Актуальность вопроса. Болезнь Ньюкасла (БН) – остро протекающее заболевание птиц, характеризующееся поражением респираторного и желудочно-кишечного трактов в сочетании с нервными расстройствами. Заболевание наносит огромный экономический ущерб вследствие массовой гибели птицы, особенно цыплят, полного прекращения яйцекладки у больной птицы, значительными затратами на проведение общих и специальных мер борьбы и профилактики.

В условиях высокой концентрации поголовья цыплят на ограниченной территории возрастает роль ветеринарных мероприятий, которые должны быть проведены своевременно и качественно и направлены на профилактику инфекционных заболеваний, особенно болезни Ньюкасла, которая относится к особо опасным высококонтагиозным инфекционным заболеваниям птицы [1].

Общие ветеринарно-санитарные мероприятия не обеспечивают полного оздоровления птицефабрик от болезни Ньюкасла. Поэтому в комплексе мероприятий по профилактике и ликвидации данной болезни главное место занимает использование живых и инактивированных вакцин. Преимущество аэрозольного метода вакцинации заключается в том, что вакцина попадает в глаз и сильно стимулирует гардерову железу и верхние дыхательные пути, что приводит к устойчивому местному иммунитету в дополнение к гуморальным антителам [7]. Аэрозольная вакцинация хорошо стимулирует так же носо-глазную лимфоидную систему, куда входит и

Гардерова железа [2]. При вакцинации цыплят в первые дни жизни аэрозольным методом пассивный иммунитет не влияет на формирование местного иммунитета [7].

Роль желез орбиты, в том числе и Гардеровой железы, недостаточно изучена с применением комплексных методов исследования (гистологического, цитологического, гистохимического, электронно-микроскопического) с параллельным проведением и серологических исследований на определение антигемагглютининов в сыворотке крови вакцинированных цыплят в динамике иммуногенеза с учетом применяемых вакцин и схем иммунизации. В литературе по этому вопросу имеются отдельные сообщения, которые на основании цитоморфологических исследований и электронно-микроскопических исследований подчеркивают значение Гардеровой железы в формировании местного иммунитета [3,4,5,6].

Материал и методы исследований. Опыты были поставлены на цыплятах двух-трёхмесячного возраста, ранее не иммунизированных против болезни Ньюкасла (БН). Для аэрозольной иммунизации применяли вакцину из штамма Ла-Сота согласно наставлению. На 3-, 5-, 7-, 10-, 14-ый день после первичной и на 3-, 5-, 7-, 10-, 14-ый день после повторной вакцинации проводили убой по три головы цыплят, отбирали кровь и Гардерову железу для проведения серологических, цитологических, гистологических, гистохимических и электронно-микроскопических исследований по общепринятым методикам.

Контрольных (не вакцинированных) цыплят исследовали такими же методами и в такие же сроки.

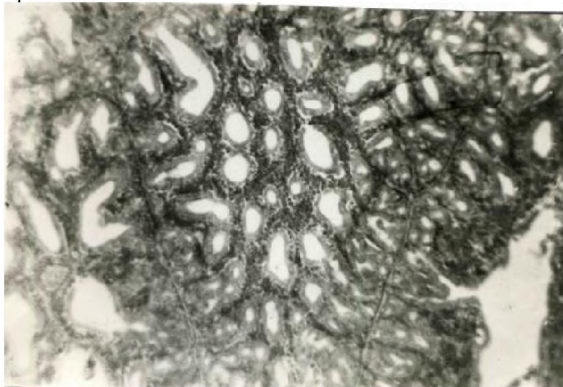


Рис. 1. Гардерова железа 3-х месячного контрольного цыпленка. Между дольками железы хорошо развита соединительная ткань с диффузно расположенными клетками лимфоидного ряда. Гистосрез. Окраска по

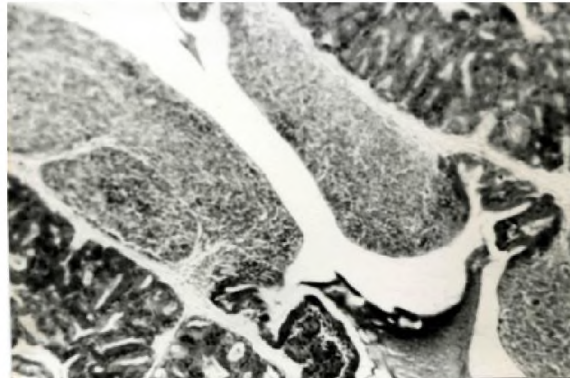


Рис. 2. Гардерова железа 3-х месячного контрольного цыпленка. По ходу выводного протока хорошо выражена лимфоидная ткань. Гистосрез. Окраска по Паппенгейму. Увел. 140. МФН-3. Об. 20, ок. 7.

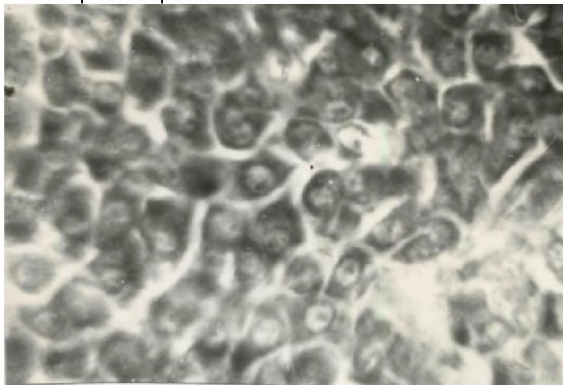


Рис. 3. Гардерова железа 3-х месячного контрольного цыпленка. Клетки соединительной и лимфоидной ткани между выводными протоками. Гистосрез. Окраска по Паппенгейму. Увел. 630. МФН-3. Об. 90, ок. 7.

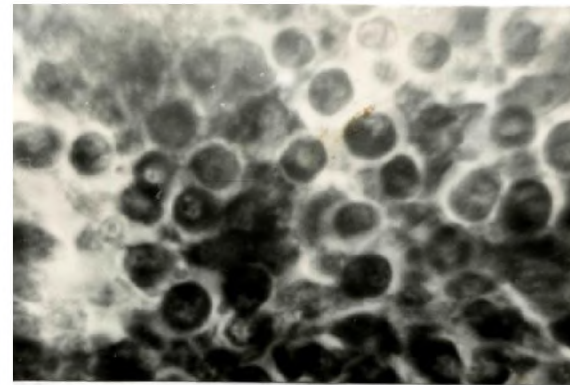


Рис. 4. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на седьмой день после повторной аэрозольной вакцинации. Скопление в основном зрелых плазматических клеток. Гистосрез. Окраска по Паппенгейму. Увеличение 630. МФН-3. Об. 90. Ок 7

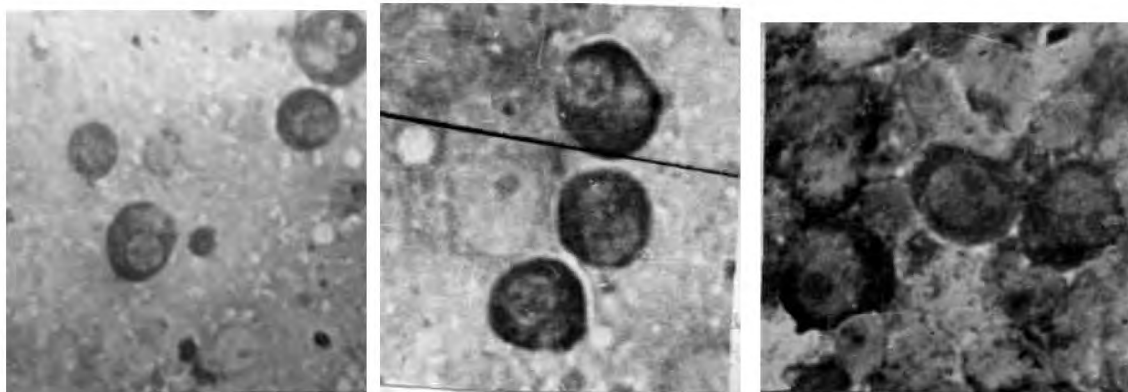


Рис. 5-а

Рис. 5-б

Рис. 5-в

Рис. 5. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на третий день после повторной аэрозольной вакцинации. Цитоплазма, ядрышки и базофильные образования окрашиваются Грамм-положительно метил-зелёным пиронином. Увеличение 630.

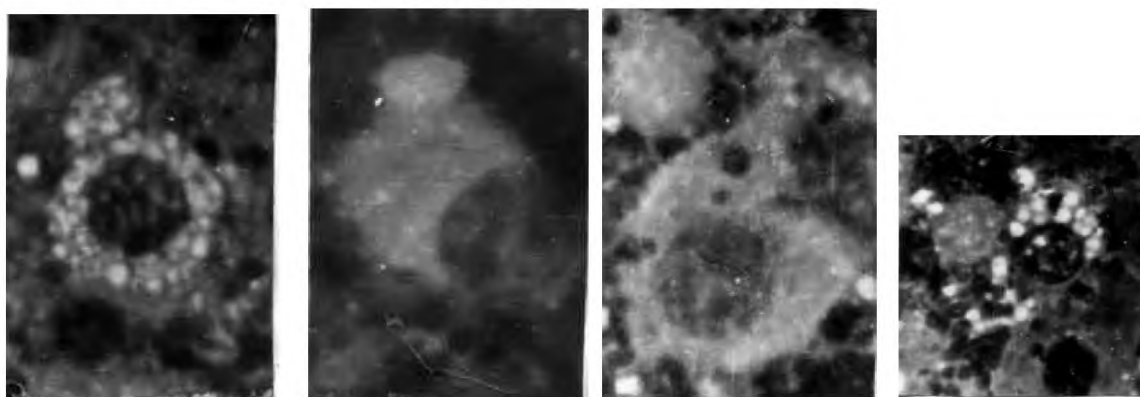


Рис. 6-а

Рис. 6-б

Рис.6-в

Рис.6-г

Рис. 6. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на третий день после повторной аэрозольной вакцинации. Видны базофильные образования, которые отшнуровались или отшнуровываются от плазматических клеток и вакуолизируются вместе с цитоплазмой плазматической клетки. Мазок-отпечаток. Окраска по Паппенгейму. Увеличение 630.

Результаты собственных исследований. В результате комплексных исследований (цитологических, гистологических, гистохимических, электронно-микроскопических и серологических) установлено, что Гардерова железа (железа третьего века) относится к железам орбиты и состоит из долек, между которыми наблюдается хорошо развитая соединительная ткань, а по ходу выводного протока – лимфоидная ткань (рис. 1,2). В междольковой соединительной ткани контрольных цыплят обнаружены ретикулярные клетки, фибробласты, гистиоциты и клетки лимфоидного ряда (рис. 3). На 7-ой день после повторной аэрозольной вакцинации в междольковой ткани и в центре выводного протока обнаруживали скопления плазматических клеток, в основном зрелые формы (рис. 4).

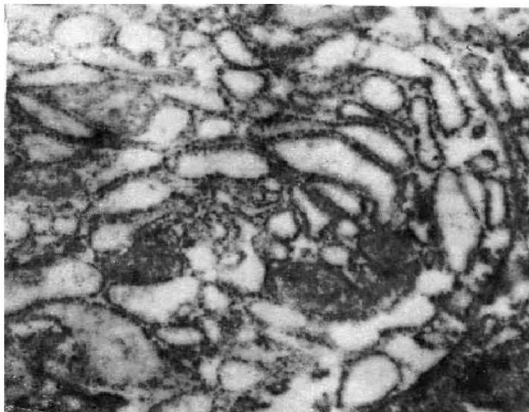


Рис. 7. Базофильное образование (отшнуровывается участок цитоплазмы плазматической клетки). Структура представлена в виде канальцев эндоплазматической сети с рибосомами на их внутренней стороне и митохондриями. Электронная микроскопия. Увеличение 32000

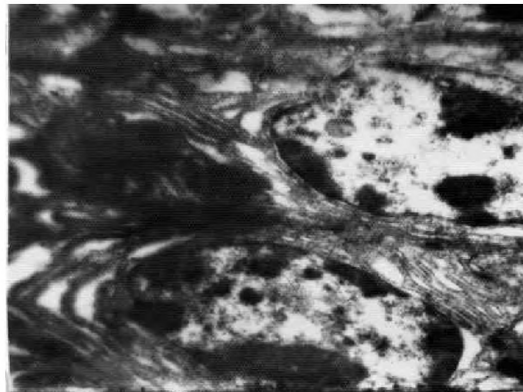


Рис. 8. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на третий день после аэрозольной вакцинации. Базофильные ретикулярные клетки ядра занимают большую часть клетки. Местами обнаруживается в цитоплазме хорошо развитая эндоплазматическая сеть. Электронная микроскопия. Увеличение 32000.

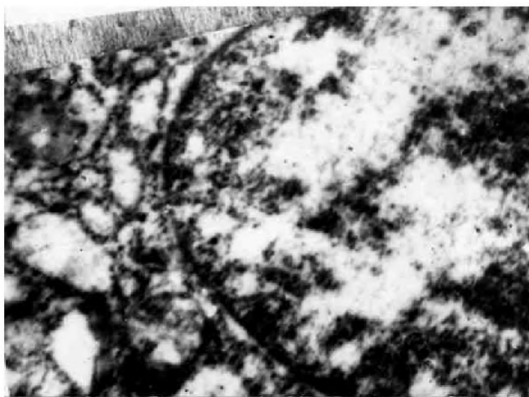


Рис. 9. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на пятый день после аэрозольной вакцинации. Плазмобласт. Ядро занимает большую часть клетки. В цитоплазме хорошо развита эндоплазматическая сеть. Электронная микроскопия. Увеличение 32000.

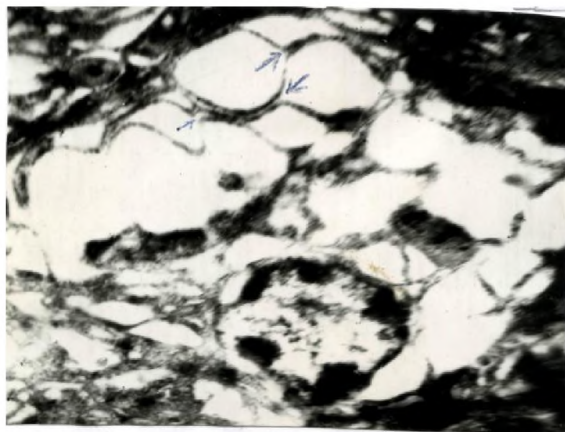


Рис. 10. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на пятый день после повторной аэрозольной вакцинации. Молодая плазматическая клетка. Ядро расположено эксцентрично, а вся цитоплазма состоит из канальцев эндоплазматической сети. Электронная микроскопия. Увеличение 22000.

При окраске метил-зелёным пиронином мазков-отпечатков с Гардеровой железы цыплят на 3-5-ый день после аэрозольной иммунизации обнаруживали клетки плазмоцитарного ряда (плазмобласты, молодые и зрелые плазматические клетки), цитоплазму и ядрышки, которые окрашивались пиронином положительно (красный цвет). Аналогично окрашивались и базофильные образования (рис. 5-а, б, в). При окраске мазков-отпечатков по Паппенгейму цитоплазма плазматических клеток и базофильные образования, которые находились возле плазматических клеток или на стадии отшнуровывания от цитоплазмы плазматических клеток, окрашивались в синий цвет. Цитоплазма и базофильные образования находились на стадии разрушения (вакуолизации) (рис. 6 -а, -б, -в, -г). При электронно-микроскопических исследованиях установлено, что базофильные образования состоят полностью из канальцев эндоплазматической сети, на внутренней стороне которых находятся рибосомы в виде тёмных точек. Местами в базофильных образованиях обнаруживали митохондрий (рис. 7).

При анализе мазков-отпечатков с Гардеровой железы аэрозольно вакцинированных цыплят на третий день после первичной и особенно после повторной вакцинации обнаруживали клетки плазмоцитарного ряда, в основном базофильные ретикулярные клетки и плазмобласты. В

а
синий



а

Рис. 11. Гардерова железа 3-х месячного цыпленка на пятый день после аэрозольной вакцинации. Молодая плазматическая клетка в период функциональной активности и разрушения. Канальцы эндоплазматической сети расширяются и превращаются в вакуоли. Ядро расположено эксцентрично. Электронная микроскопия. Увеличение 22000.

ретикулярных
бахофильных клетках ядро
занимает большую часть клетки,
цитоплазма окрашивается в
цвет.

При электронно-микроскопических исследованиях в базофильных ретикулярных клетках местами обнаруживали хорошо выраженную эндоплазматическую сеть с рибосомами (рис. 8). Плазмобласты характеризовались своими крупными размерами. Ядро занимает большую часть клетки, цитоплазма окрашивалась базофильно (синий цвет).

При электронно-микроскопических исследованиях цитоплазма плазмобластов состояла полностью из канальцев

эндоплазматической сети с рибосомами (рис. 9). На пятый день после первичной и особенно после повторной вакцинации в поле зрения микроскопа обнаруживали в основном молодые плазматические клетки, в которых цитоплазма занимала большую часть клетки, а ядра были расположены эксцентрично. Между ядром и цитоплазмой хорошо выражена зона Гольджи.

При электронно-микроскопических исследованиях цитоплазма полностью состояла из канальцев эндоплазматической сети с рибосомами на их внутренней поверхности, что подтверждает их участие в синтезе антител (рис. 10).

В период функциональной активности канальцы эндоплазматической сети расширялись и образовывали вакуоли, которые в последующем лопались и наступала гибель клетки. Ядро находилось эксцентрично, а хроматин расположен как спицы в колесе (рис. 11).

Пик плазмоклеточной реакции отмечен на седьмой день после первичной и особенно после повторной вакцинации.

В одном поле зрения микроскопа насчитывали от 9 до 15 плазматических клеток. Плазмоклеточная реакция предшествовала накоплению в сыворотке крови антигемагглютининов на 14 день после первичной и повторной аэрозольной вакцинации в титрах 1:64 – 1:256.

Таким образом, комплексными исследованиями (цитологическими, гистологическими, гистохимическими, электронно-микроскопическими, серологическими) установлено, что Гардерова железа играет важную роль в формировании иммунитета против болезни Ньюкасла.

Выводы

1. Плазмоклеточная реакция в Гардеровой железе 3-х месячных цыплят была наиболее выражена на 5-7-ой день после первичной и, особенно, после повторной аэрозольной вакцинации (в одном поле зрения микроскопа насчитывали от 6-ти до 15-ти плазматических клеток) и предшествовала накоплению антигемагглютининов в сыворотке крови в титрах 1:64 – 1:256 на 14-ый день после первичной и повторной аэрозольной вакцинации.
2. Комплексные исследования (цитологические, гистологические, гистохимические, электронно-микроскопические, серологические) в динамике иммуногенеза подтвердили роль Гардеровой железы в формировании иммунитета против болезни Ньюкасла.

Литература

1. Жданов В.М. Общая и частная вирусология. Болезнь Ньюкасла. /Жданов В.М., Гайданович И.Н./ Москва, 1982.-12. С.174-182.
2. Васильева В.И. Морфологические особенности Гардеровой железы у кур. Труды Харьковского ордена Трудового Красного Знамени сельскохозяйственного института им. В.В. Докучаева. Межвузовский сборник. X., Том 188., 1973., С. 173-178.

3. Лукашов И.И. Плазмноклеточная реакция у кур при аэрозольной вакцинации против болезни Ньюкасла. / И.И. Лукашов, В.К. Смолянинов // Материалы 1-ой Межвузовской ветеринарной вирусологической конференции 26-28 ноября 1970. С. 196-198.
4. Головки В.А. Электронно-микроскопические и цитоморфологические исследования Гардиевой железы птиц при вакцинации против ньюкаслской болезни. / В.А. Головки, И.И. Белоконов, В.К. Смолянинов. // Наукова конференція «Актуальні проблеми молекулярної діагностики у ветеринарній медицині та біології». Харків. АР Крим. М. Феодосія. – 2007. – С. 300-308.
5. Смолянінов В.К. Особливості імунологічних реакцій курчат, щеплених проти ньюкаслської хвороби / В.К. Смолянінов, І.І. Білоконов, І.В. Смолянінова // Ж. «Ветеринарна медицина України», - 2001. - №9. – С. 13-15.
6. Смолянінов В.К. Плазмноклеточная реакция в органах цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни / В.К. Смолянінов, І.В. Смолянінова // Зб. наук. праць «Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини» Ветеринарні науки. Харків. 2008. – С. 64-69.
7. Христоф Треспер. Сфокусируйте своё внимание на Гардеровой железе – ключевом органе местного иммунитета / Христоф Треспер, Марк Мангер // Сева веет. Специальное издание по птицеводству. Сева Санте анимал. г. Киев, июнь 2004. – С. 5-6.

ЕФЕКТИВНІСТЬ АЕРОЗОЛЬНОЇ ІМУНІЗАЦІЇ КУРЧАТ ПРОТИ ХВОРОБИ НЬЮКАСЛА З
УРАХУВАННЯМ ПЛАЗМОКЛІТИННОЇ РЕАКЦІЇ В ГАРДЕРОВІЙ ЗАЛОЗИ І НАКОПИЧЕННЯ
АНТИГЕМАГГЛЮТИНИНІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ

Головки В.О., д.в.н., проф., академік НААН України
Смолянінов В.К., к. вет. наук, доцент,
Северин Р.В., к. вет. наук, доцент,
Смолянінова І.В., врач вет. медицини

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Представлені дані про ступінь розвитку плазмо клітинної реакції в Гардеровій залозі (залоза третьої повіки) 3-х місячних курчат аерозольно імунованих проти хвороби Ньюкасла (Б.Н.) вакциною «Ла-сота». Відмічено збільшення кількості базофільних ретикулярних клітин і плазмобластів на третій день після первинної і, особливо, після повторної імунізації.

На п'ятий день після первинної і повторної імунізації відмічали збільшення кількості молодих плазматичних клітин. В максимальній кількості плазматичні клітини реєструвалися на 5-7-ий день після повторної аерозольної вакцинації (в одному полі зору мікроскопа нараховували від 9 до 15 клітин). При проведенні гістохімічних досліджень клітин плазмоцитарного ряду помічено, що збільшенню кількості клітин плазмоцитарного ряду передувало збільшення кількості антигемагглютининів в сироватці крові. Встановлено, що цитоплазма, ядерця і базофільні утворення фарбувалися метил-зеленим піроніном позитивно.

При вивченні ультраструктури клітин плазмоцитарного ряду відмічено формування ендоплазматичної сітки в базофільних ретикулярних клітинах, але вона була недостатньо розвинена, а в молодих і зрілих плазматичних клітинах та в базофільних утвореннях ендоплазматична сітка займала усю цитоплазму. Таким чином, комплексними дослідженнями підтверджена роль Гардерової залози у формуванні клітинного імунітету.

EFFICIENCY OF AEROGENIC TWO-MONTHS OLD CHICKENS VACCINATION AGAINST NEWCASTLE DISEASE WITH
CONSIDERING OF PLASMA CELLS REACTION IN HARDERIAN GLAND AND ANTIGEM-AGGLUTININ ACCUMULATION IN
BLOOD SERUM

Golovko V.O., academician UAAN

V.K. Smolyaninov, associate professor, R.V. Severin, associate professor, I.V. Smolyaninova, doctor of
vet. medicines

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

Summary. The paper presents the data on the degree of expression of the plasma-cell reaction in the Harderian gland of 2-3-month-old chicks aerosolized against Newcastle disease in the dynamics of development of immunogenesis and the accumulation of anti-hemagglutinins in blood serum. If the degree of development of the plasma cell reaction is analyzed, the number of plasmablasts increases on the third day after the primary and especially after repeated aerosol vaccination, and the young plasma cells - on the fifth day after the primary and repeated vaccination. The peak of the plasma cell reaction was registered in the Harderian gland on the seventh day after the primary and especially after the repeated immunization (in one field of view the microscope was counted from 6 to 15 plasma cells.) On the 10-14 day after the primary and repeated aerosol vaccination, the field of view of the microscope was recorded in Mostly mature plasma cells.

It was established that the plasma-cell reaction preceded the accumulation of anti-hemagglutinins in the blood serum. In the highest titers, anti hemagglutinins in the blood serum were found (1:64 - 1: 256) on the 14th day after the second vaccination. In histochemical studies, it was established that the cytoplasm, nucleoli and basophilic formations that were formed in the cytoplasm were well stained with methyl green pyronine in plasma cells, and then they were detached from the cytoplasm. In electron microscopic studies of cells of the plasmocyte series, it has been established that the cytoplasm consists of the tubules of the endoplasmic reticulum (ergastoplasm), on the inner side of which dark dots-ribosomes that participate in the synthesis of antibodies by antibody-forming plasma cells are clearly visible. Basophilic formations also consisted of tubules of the endoplasmic reticulum.

Key words: chickens, Harderian gland, aerosol vaccination, immunity, plasma cells, basophilic formations, vaccine, serum, anti-hemagglutinins, endoplasmic reticulum, ribosomes, spleen, bone marrow, cytological, histological and electron microscopic studies.

УДК: 636.09:619:578.824.1

МОНІТОРИНГ ПРОВЕДЕННЯ АНТИРАБІЧНИХ КАМПАНІЙ В УМОВАХ КОБЕЛЯЦЬКОГО РАЙОНУ ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Тітаренко О.В., к. вет. н., доцент, elenaviktit@gmail.com

Богословська А.І., студентка 1-го курсу магістратури факультету ветеринарної медицини
Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава

Анотація. *Викладені результати епізоотологічних моніторингових досліджень щодо проведення антирабічних кампаній в Кобеляцькому районі Полтавської області. Встановлено, що профілактика сказу в районі полягає у проведенні регулярних парентеральних щеплень свійських тварин, пероральній вакцинації диких м'ясоїдних тварин та врегулюванні чисельності лисиці червоної шляхом відстрілу. З'ясовано, що протягом 2011-2015 років проведено дев'ять антирабічних кампаній, всього було розповсюджено 181740 доз пероральної вакцини, через 15 днів після розповсюдження понад з вакцинами мінімальна кількість їх споживання склала 92,8% доз, максимальна - 99,4%.*

Ключові слова: сказ, небезпечний зооноз, епізоотологічний моніторинг, антирабічна кампанія, дикі м'ясоїдні тварини, лисиця червона, пероральна вакцина, профілактика.

Актуальність проблеми. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) сказ входить у першу п'ятірку хвороб, спільних для людини і тварин, що наносять найбільший соціально-економічний збиток. Через цю хворобу щорічно гине понад 55 тисяч людей і більше 1 млн. тварин [1].

Зооноз сказу є одним з найбільш поширених в Україні природно – осередкових захворювань ссавців, реєструється в усіх областях і природно-географічних зонах. Епізоотична ситуація щодо сказу в Україні має ряд особливостей, зокрема, це еволюція епізоотії як природно-вогнищового, так і антропоургічного (міського) типу [1].

Стратегія боротьби зі сказом в Україні базується на виконанні комплексу антирабічних ветеринарно-санітарних заходів, що направлені на профілактику та ліквідацію сказу серед основних його резервуарів, зокрема: епізоотологічного моніторингу, що здійснюється шляхом епізоотологічного обстеження, своєчасного виявлення спалахів хвороби та аналізу епізоотичної ситуації; системної парентеральної імунізації (вакцинації) - профілактичних щеплень проти сказу собак та котів, а в зонах стійкого неблагополуччя – всіх сприйнятливих тварин. Завдяки систематичному проведенню пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин у країнах Західної Європи вдалося мінімізувати випадки захворювання тварин на сказ до поодиноких спалахів. В період стрімкого зростання захворюваності на сказ в Україні в 2006 році було розпочато масштабну антирабічну пероральну вакцинацію диких м'ясоїдних тварин. Проте, починаючи з 2009 року, внаслідок недостатнього фінансування проведення її було обмежено територіально [1].

В Україні, зокрема на території Полтавської області для імунізації диких м'ясоїдних тварин використовують вакцину вітчизняного виробництва "Броварабіс – VRG" (BrovaRabies V-RG)» виробництва Укрветпромстач, м. Бровари. Одна доза вакцини містить 2 мл антигену V-RG (10⁸TCID₅₀) і поживну принаду з харчових та атрактивних речовин. Імунологічна дія даного препарату полягає в тому, що внаслідок потрапляння вакцини на поверхні слизових оболонок та