

УДК 636.09:615.371:616.98:636.52/58

ГАВРАСЬЄВА Н.В., канд. вет. наук, e-mail: gari-nata@ukr.net,

КУЗЬМИЧ Г.С., e-mail: 80505752885@mail.ru,

ЮЩЕНКО А.Ю., e-mail: yshchenkoalla@ukr.net,

Державний науково-контрольний інститут біотехнології та штамів мікроорганізмів

КОСТЮК А.В., канд. вет. наук, e-mail: artemkostiuk@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України

ЗМІНИ ГІСТОМОРФОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ КЛОАКАЛЬНОЇ СУМКИ КУРЧАТ ПІСЛЯ ЩЕПЛЕННЯ ІМУНОКОМПЛЕКСНИМИ ЖИВИМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИ ХВОРОБИ ГАМБОРО

У статті наведені результати досліджень гістоморфологічної структури клоакальної сумки курчат після щеплення імунокомплексними живими вакцинами проти хвороби Гамборо. Оцінку ураження клоакальної сумки проводили згідно шкали Європейської фармакопеї. Представлені результати досліджень рекомендують гістологічний метод, як один з основних для визначення ефективності досліджуваних живих та атенуованих вакцин проти хвороби Гамборо.

Ключові слова: хвороба Гамборо, клоакальна сумка, вакцина, гістологія.

Вступ. Інфекційна бурсальна хвороба (хвороба Гамборо) – висококонтагіозна вірусна хвороба курчат, що характеризується діареєю, внутрішньом'язовими крововиливами, ураженням клоакальної сумки, травного каналу та нирок [1]. Клоакальна сумка, за сучасними даними, належить до центральних органів кровотворення та імуногенезу птахів. В ній утворюються В-лімфоцити, які мігрують до периферичних органів кровотворення (селезінка, лімфоїдна тканина асоційована із стінкою трубчастих органів, мигдалики та лімфатичні вузли), які під впливом антигенної стимуляції диференціюються в ефекторні клітини, що забезпечують гуморальний імунітет [2, 3]. Отже, ураження клоакальної сумки призводить до імуносупресії та підвищення чутливості до секундарної інфекції [4].

Хвороба Гамборо висококонтагіозна, захворюваність може сягати 100% курчат одного стада, загибель становить 40–60%. Головне джерело інфекції – заражена птиця, від якої у навколишнє середовище вірус виділяється за 24–48 год до появи клінічних ознак. Резервуарами збудника можуть бути дикі птахи. Передається вірус респіраторним або аліментарним шляхом. Важливе значення у поширенні інфекції має тривале вірусоносійство – протягом 2–3 міс [5].

Інфекційна бурсальна хвороба (ІБХ) вперше була зареєстрована у 1957 році в передмісті Гамборо (США) [6]. В межах кількох десятиліть вірус поширився на схід майже по всіх країнах з більш-менш розвиненою галуззю птахівництва; завдяки його стійкості та варіаціям, цей вірус і нині присутній майже на кожній птахофабриці по всьому світу і визнаний ключовим захворюванням, що стає перепорою у розвитку й благополуччі галузі в цілому.

На території України ІБХ була зареєстрована уперше у 1991 році в Одеській області. Інфекція супроводжувалась значною загибеллю птиці (від 30 до 80%). Упродовж року спалахи даного захворювання вже були виявлені в усіх птахогосподарствах даного регіону [7].

На сьогоднішній день збудник широко розповсюджений на всіх континентах світу, що наносить значних економічних збитків, які складаються з високої летальності, зниження маси тіла курчат та продуктивності у яєчних порід, загибелі ембріонів на ранніх стадіях розвитку, вимушеного забою [8].

Загальновідомий факт, що вакцинопрофілактика – єдине вірне та надійне рішення у боротьбі з даною інфекцією.

Мета роботи. Визначити зміни гістоморфологічної структури клоакальної сумки курчат після щеплення імунокомплексними живими вакцинами.

Матеріали та методи досліджень. Для проведення дослідження було сформовано 2 групи ВПФ курчат (вільних від специфічних патогенів) 1-добового віку. Перша група – піддослідна, яка складалась з 20 курчат, була вакцинована підшкірно у дозі 0,2 см³ одноразово. Друга група – контрольна, складалась з 10 курчат, не була щеплена. Було досліджено 3 імунокомплексні вакцини. Через 28 діб кожне курча заражали шляхом інтраокулярного введення достатньої кількості вірулентного штаму вірусу інфекційної бурсальної хвороби птиці.

За тваринами спостерігали не рідше одного разу на добу протягом 5 днів після провокації вірусом. Після контрольного зараження тварин забивали шляхом декапітації після легкого хлороформного наркозу з метою відбору клоакальної сумки для патоморфологічних досліджень. Зразки органу фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, проводили парафінову заливку. Отримані гістозрізи, товщиною 5–8 мкм фарбували гематоксиліном Караці і еозином. Дослідження отриманих гістопрепаратів проводили за допомогою світлових мікроскопів Micros MC50LED. У них вивчали зміни структурних компонентів клоакальної сумки. Ступінь лімфоїдного виснаження часточок визначали за допомогою комп'ютерної програми UDRuller v3.6.3481.

Матеріал для ілюстрацій фотографували за допомогою фотоапарата Nikon Coolpix S2600.

Розраховували рівень ураження сумки, використовуючи наступну шкалу згідно Європейської фармакопеї:

0 – відсутні патологічні зміни клоакальної сумки;

1 – лімфоїдне виснаження відмічено максимально у 25% фолікулів; приплив нейтрофілів в уражені ділянки;

2 – лімфоїдне виснаження відмічено у 26–50% фолікулів; в уражених фолікулах спостерігається некроз і може бути виявлений сильний приплив нейтрофілів;

3 – лімфоїдне виснаження відмічено у 51–75% фолікулів; в уражених фолікулах спостерігається некроз і може бути виявлений сильний приплив нейтрофілів;

4 – повне лімфоїдне виснаження, гіперплазія та кісти відмічено у 76–100% фолікулів; в уражених фолікулах спостерігається некроз і може бути виявлений сильний приплив нейтрофілів;

5 – у 100% фолікулів відмічається майже повне лімфоїдне виснаження; практично повна втрата фолікулярної структури, потовщений і складчастий епітелій, фіброз бурсальної тканини.

Вакцина вважається неефективною, якщо:

- у період спостереження після провокації менше ніж 50% контрольних курей мають характерні ознаки інфекційної бурсальної хвороби;

- в однієї або більше контрольних курей, що вижили, не виявляють ураження фабрицієвої сумки 3-го ступеня;

- у період спостереження між вакцинацією і провокацією більше 10% вакцинованих чи контрольних курей мають явні клінічні ознаки захворювання або гинуть з причин, нехарактерних для вакцин.

Вакцина вважається ефективною, якщо в період спостереження після провокації не менше ніж 90% вакцинованих курей залишаються живими, без прояву клінічних ознак хвороби, відсутнє ураження фабрицієвої сумки 3-го ступеня або вище.

Результати досліджень та їх обговорення. Мікроскопічна структура клоакальних сумок курей контрольної та піддослідної групи характеризувались вакуольною дистрофією, мікроскладчастістю та кістозом поверхневого епітелію слизової оболонки, частковим або повним виснаженням часточок (фолікулів) органа, заміщенням паренхіматозних і стромальних структур щільною волокнистою сполучною тканиною, та їх лімфоцитарною та

псевдоеозинофільною інфільтрацією, причому зміни у клоакальних сумках курей контрольної групи були більш виражені (рис. 1).

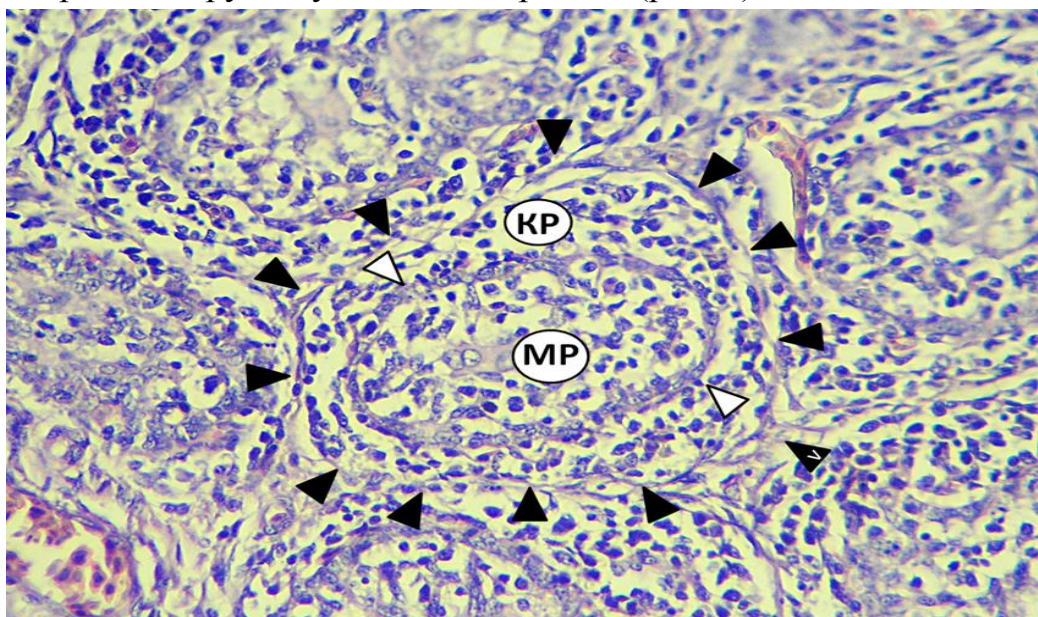


Рис. 1. Гістологічний зріз клоакальної сумки після вакцинації вакциною імунокомплексною проти хвороби Гамборо. Чорні стрілки – капсула часточки, КР – кіркова речовина; МР – мозкова речовина; білі стрілки – кортикомедулярний бар'єр. Збільшення $\times 400$.

За результатами гістологічного дослідження піддослідна група курчат демонструвала ознаки часткового (до 50%) виснаження часточок та інфільтрацію лімфоцитами ділянок остову складок (рис. 1). Ступінь ураження клоакальної сумки піддослідної групи курчат був не вище 3-го ступеня.

Гістологічне дослідження клоакальної сумки контрольної групи курчат після інфікування вірулентним вірусом виявляють виражений фіброз остову складки (рис. 2). Часточкова структура таких клоакальних сумок майже повністю втрачена. Залишки окремих часточок представлені епітеліоцитами неправильної форми та невеликого розміру (так званими «епітеліальними гніздами»), та вогнищевими скупченнями лімфоцитів що розміщені на одному з їх полюсів. В них не диференціюється кірковий і мозковий шар, а також кортикомедулярний бар'єр. 75–100% часточок демонструють повне виснаження. Присутня інфільтрація малими лімфоцитами та псевдоеозинофілами. Поверхневий епітелій має виражену мікроскладчастість. Часто в мозковій речовині реєструються великого діаметру кісти. Ступінь ураження клоакальної сумки контрольної групи тварин був вище 3-го ступеня.

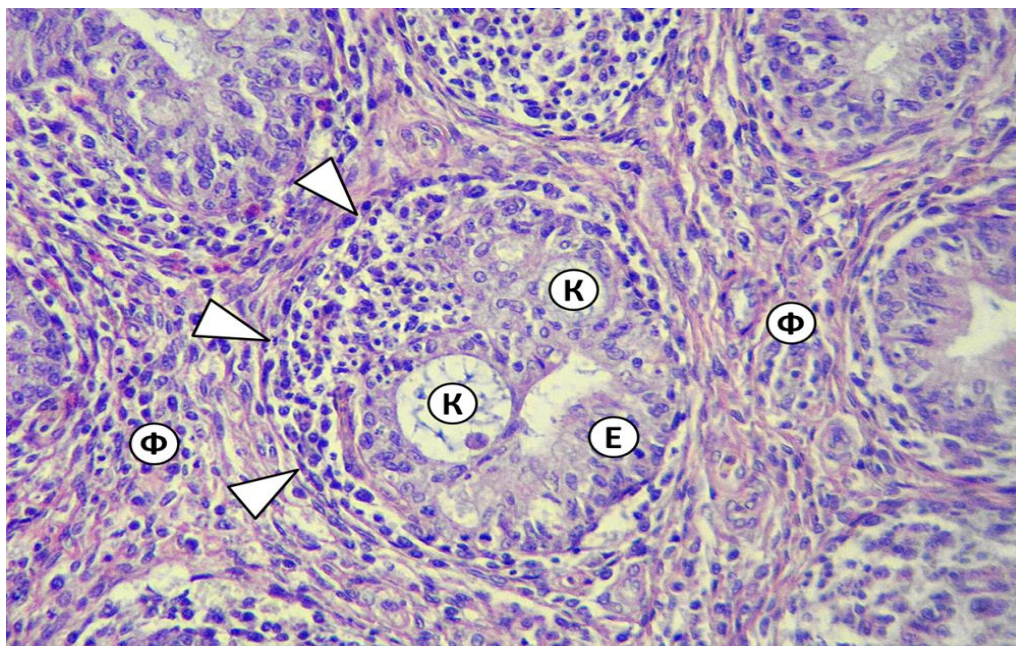


Рис. 2. Гістологічний зріз клоакальної сумки контрольної групи тварин. Приклад майже повного виснаження часочки. Епітеліальне гніздо (Е), в якому присутні кісти (К). З одного з полюсів до епітеліального гнізда примикає вогнищеве скупчення лімфоцитів у вигляді півмісяця (стрілки). Ф – фіброз, розростання сполучної тканини. Збільшення $\times 400$.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Досліджувані клоакальні сумки курей після вакцинації живими імунокомплексними вакцинами проти хвороби Гамборо мали патологічні зміни не вище 3 згідно шкали Європейської фармакопеї. У клоакальних сумках контрольної групи відмічали патологічні зміни від 4 до 5 згідно шкали Європейської фармакопеї. Отримані результати досліджень вказують на ефективність імунокомплексних вакцин проти хвороби Гамборо.

Перспективою подальших досліджень є застосування гістологічного методу для визначення ефективності досліджуваних живих та атенуйованих вакцин проти хвороби Гамборо.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Office International des Epizooties (OIE) (1999). – Infectious bursal disease (Gumboro disease). In International animal health code: mammals, birds and bees. 8th Ed. – OIE, Paris. – P. 247-248.
2. Ovoid inhibitor in the chicken bursa of Fabricius: identification, isolation and localization / Moore R.W., Hargis B.M., Porter T.E. [et al.] // Cell and Tissue Research. 2004. – № 3. – P. 317.
3. Epithelium of the Bursa of Fabricius Mucosa / Khomich V., Kalynovska I., Kolych N. [et al.] // Anatom., Histolog., Embryol. – 2005. – Vol. 34. – № 1. – P. 25–28.
4. Lasher, H.N. Infectious bursal disease / H.N. Lasher, S.M. Shane // World's Poultry Science Journal. – 1994. – No.50. – P. 133–166.

5. Van den Berg T.P. Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterisation of a highly virulent strain / Van den Berg T.P., Gonze M., Meulemans G. // Avian Pathol. – 1991. – No. 20 (1). – P. 133–143.

6. Winterfeld R.V. Avian nephrosis, nephritis and Gamboro disease / R.V. Winterfeld, S.B. Hitcher, G.S. Appleton, and A.S. Cosgrove // L and M News Views. – 1962. – No. 3. – 103 p.

7. Герман В.В. Инфекционная бурсальная болезнь в птицеводствах Украины / В.В. Герман, В.А. Бусол Л.А. и др. // Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы: Материалы междунар. науч. конф., 20–22 сент. – Х., 1995. – С. 109–113.

8. OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Режим доступу: <http://www.oie.int> Retrieved from <http://www.oie.int>.

ІЗМЕНЕННЯ ГІСТОМОРФОЛОГІЧЕСЬКОЇ СТРУКТУРИ КЛОАКАЛЬНОЇ СУМКИ ЦЫПЛЯТ ПОСЛЕ ПРИВИВКИ ІММУНОКОМПЛЕКСНИМИ ЖИВИМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИВ БОЛЕЗНІ ГАМБОРО / Гаврасьєва Н.В., Кузьмич А.С., Ющенко А.Ю., Костюк А.В.

В статті приведені результати досліджень гистоморфологічної структури клоакальної сумки цыплят после прививки іммунокомплексними живими вакцинами против болезни Гамборо. Оценку поражения клоакальной сумки проводили согласно шкали Европейської фармакопеи. Представлені результати досліджень рекомендують гистологічний метод, як один из основних для определения ефективності досліджуваних живих и аттенуированих вакцин для профілактики болезни Гамборо.

Ключевые слова: *болезнь Гамборо, клоакальная сумка, вакцина, гистология.*

CHANGES OF THE HISTOMORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE BURSA OF FABRICIUS IN CHIKEN AFTER IMMUNIZATION WITH IMMUNOCOMPLEX LIVE VACCINES AGAINST GUMBORO DISEASE / Gavrasieva N.V., Kuzmich A.S., Yushchenko A.Y., Kostiyk A.V.

Introduction. *Infectious bursal disease (Gumboro disease, IBD) is a viral infection, characterized by diarrhea, intramuscular hemorrhages, destruction of the bursa of Fabricius, digestive tract and kidneys. The disease is extremely contagious, affects young chickens up to 130-days age. In infected flocks, morbidity is high, with up to 100%. The death rate is about 40-60%. It is well-known fact that vaccination is the only correct and reliable solution in the disease control.*

The goals of the work *was to determine changes in the histomorphic structure of the bursa after vaccination with immunocomplex live vaccines.*

Materials and methods. *For the research, two groups of 1-day old SPF chickens (specific pathogen free) were formed. The first group was vaccinated subcutaneously in one 0.2 cm³ dose. The control group was not vaccinated. After 28 days, each chick was infected by intra-ocular administration of the IBD virulent strain.*

Within 5 days after a virus provocation, the animals were slaughtered by decapitation after a chloroform anesthesia for internal organs sampling for pathomorphological studies.

The organs samples were fixed in 10% neutral formalin solution, embedded in paraffin and histological preparations were made. Histological examination of each samples was conducted and calculated the level of lesion of the bursa using the scale according to the European Pharmacopoeia.

Results of research and discussion. *The microscopic structure of bursa in the control and experimental group has a vacuolar dystrophy, microplasticity and cysts of epithelium of the mucous membrane, partial or complete exhaustion of the follicles, replacement of parenchymal and stromal structures with dense fibrous connective tissue, and their infiltration with lymphocytes and pseudoeosinophiles. The changes in the bursa of the control group chickens were more pronounced.*

Conclusions and recommendations for further research. *The results of the research suggest the histological method as the main ones to determine the efficacy of the studied live and attenuated vaccines against Gamboro disease.*

Key words: *Infectious bursal disease, bursa of Fabricius, vaccine, histology.*

REFERENCES

1. Infectious bursal disease (Gumboro disease). In International animal health code: mammals, birds and bees. (1999). (8th ed.). *Office International des Epizooties (OIE)*, Paris, 247-248.
2. Moore, R.W., Hargis B.M., Porter T.E., & et. al. (2004). Ovoinhibitor in the chicken bursa of Fabricius: identification, isolation and localization. *Cell and Tissue Research*, 3, 317.
3. Khomich, V., Kalynovska, I., Kolych, N. et. al. (2005). Epithelium of the Bursa of Fabricius Mucosa. *Anatom., Histolog., Embryol*, Vol. 34, 25-28.
4. Lasher, H.N., & Shane, S.M. (1994). Infectious bursal disease. *World's Poultry Science Journal*, 50, 133-166.
5. Van den Berg, T.P., Gonze, M. & Meulemans, G. (1991). Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterisation of a highly virulent strain. *Avian Pathol*, 20 (1), 133-143.
6. Winterfeld, R.V., Hitcher, S.B., Appleton, G.S., & Cosgrove, A.S. (1962). Avian nephrosis, nephritis and Gamboro disease. *L and M News Views*, 30, 103.
7. German, V.V. (1995). Infektsionnaya bursalnaya bolezn v ptitsehozyaystvah Ukrainyi [Infectious bursal disease in poultry farm in Ukraine]. Proceedings from The General epizootology: immunological, ecological and methodological challenges: Mezhdunar. nauch. konf. (20-22 sentiabria) – International Scientific Conference. (Vol. 10, pp. 109-113). Kharkiv: IECVM [in Ukrainian].
8. OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. www.oie.int. Retrieved from <http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/>.