

ИММУНОМОРФОГЕНЕЗ У МОЛОДНЯКА КУР, ИММУНИЗИРОВАННОГО ЖИВОЙ ВЕКТОРНОЙ ВАКЦИНОЙ «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE»

В.А. ЛЕВКИНА, И.Н. ГРОМОВ

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026, e-mail: gromov_igor@list.ru*

(Поступила в редакцию 16.02.2021)

Использование живых векторных вакцин в промышленном птицеводстве является иммунологически, экологически и экономически обоснованным. При однократном применении живой векторной вакцины против нескольких болезней значительно снижаются затраты труда и потери, обусловленные стрессовым состоянием у птицы. Отсутствует перекрестное взаимодействие с материнскими антителами, так как в основе иммунного ответа к вирусу-вектору и встроенным в него протективным антигенам, ответственными за выработку иммунитета против опасных и особо опасных инфекций (ньюкаслская болезнь, ИББ, ИЭМ), лежит активизация клеточного иммунитета, формирование пула цитотоксических Т-киллеров. Использование морфологических исследований позволяет наиболее полно учесть воздействие вакцины на организм птиц. При этом для оценки структурных изменений целесообразно исследовать не отдельные показатели, а комплекс тестов, используемых в современной иммуноморфологии. В данной работе представлены результаты собственных исследований по установлению иммуноморфологических реакций у молодняка кур яичного кросса при иммунизации живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» против оспы, инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ) и инфекционного энцефаломиелимита (ИЭМ). Показано, что иммуноморфологические изменения в тканях перепонки крыла на месте инъекции данной вакцины характеризовались усилением бласттрансформации лимфоцитов и плазмочитарной реакции, активным формированием узелковой лимфоидной ткани. Иммунизация молодняка кур обуславливала также развитие выраженных иммуноморфологических изменений в органах иммунной системы. В тимусе отмечено увеличение размеров коркового вещества долек, в клоакальной сумке – расширение корковой зоны лимфоидных узелков, увеличение плотности расположения лимфоцитов в ней, а в селезенке – возрастание удельного объема белой пульпы, увеличение размеров лимфоидных узелков. Данная вакцина обладает высокой профилактической эффективностью, что подтверждалось отсутствием у цыплят гистологических изменений, специфичных для оспы, ИЛТ и ИЭМ. Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о достаточной иммуногенности и безопасности живой векторной вакцины «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE».

Ключевые слова: *живая векторная вакцина, молодняк кур, оспа птиц, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный энцефаломиелит, иммуноморфологические реакции, тимус, клоакальная сумка, селезенка.*

The use of live vector vaccines in industrial poultry farming is immunologically, environmentally and economically justified. With a single application of a live vector vaccine against

several diseases, labor costs and losses caused by stress in poultry are significantly reduced. There is no cross-interaction with maternal antibodies, since the immune response to the virus vector and its built-in protective antigens responsible for the development of immunity against dangerous and particularly dangerous infections (Newcastle disease, IBD, IEM) is based on the activation of cellular immunity, the formation of a pool of cytotoxic T-killers. The use of morphological studies makes it possible to fully take into account the impact of the vaccine on the body of birds. At the same time, to assess structural changes, it is advisable to study not individual indicators, but a set of tests used in modern immunomorphology. This paper presents the results of our own studies on the establishment of immunomorphological reactions in young chickens of egg cross during immunization with the live vector vaccine «VECTORMUN FP-LT+AE» against smallpox, infectious laryngotracheitis (ILT) and infectious encephalomyelitis (IEM). It was shown that immunomorphological changes in the wing membrane tissues at the injection site of this vaccine were characterized by increased blasttransformation of lymphocytes and plasmocytic reaction, active formation of nodular lymphoid tissue. Immunization of young chickens also caused the development of pronounced immunomorphological changes in the organs of the immune system. In the thymus, there was an increase in the size of the cortical substance of the lobules, in the cloacal sac – an expansion of the cortical zone of lymphoid nodules, an increase in the density of lymphocytes in it, and in the spleen – an increase in the specific volume of white pulp, an increase in the size of lymphoid nodules. This vaccine has a high preventive efficacy, which was confirmed by the absence of histological changes specific to smallpox, ILT and IEM in chickens. Thus, the obtained research results indicate the sufficient immunogenicity and safety of the live vector vaccine «VECTORMUN FP-LT+AE».

Key words: live vector vaccine, young chickens, avian pox, infectious laryngotracheitis, infectious encephalomyelitis, immunomorphological reactions, thymus, cloacal sac, spleen.

Введение. В связи с высокими темпами развития промышленного птицеводства актуальной задачей является защита хозяйства от заноса возбудителей инфекционных заболеваний [1, 2, 3]. Для обеспечения эпизоотического благополучия хозяйства разрабатывается комплекс лечебно-профилактических мероприятий. Существенная роль в этой проблеме принадлежит специфической профилактике, основанной на применении живых и инактивированных вакцин [4, 5, 6, 7]. При иммунизации цыплят живыми вакцинами часто возникают поствакцинальные осложнения с развитием клинических признаков, характерных для данной болезни. В настоящее время имеется некоторый опыт применения живых векторных вакцин, которые хорошо зарекомендовали себя в борьбе с наиболее опасными инфекционными заболеваниями птиц [8]. Главным их достоинством является высокая иммуногенность и отсутствие поствакцинальных осложнений.

Компанией «Ceva Sante Animale» разработана живая векторная вакцина «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE», которая предназначена для профилактики оспы, инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ) и инфекционного энцефаломиеелита птиц (ИЭМ) в племенных и товарных хозяйствах различного направления выращивания. Использование морфологических исследований позволяет наиболее полно учесть воздействие

вакцины на организм птиц. При этом для оценки структурных изменений целесообразно исследовать не отдельные показатели, а комплекс тестов, используемых в современной иммуноморфологии [6].

Цель работы – установление иммуноморфологических изменений в организме молодняка кур, иммунизированного живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» против оспы, ИЛТ и ИЭМ.

Основная часть. Для проведения исследований были сформированы 2 группы молодняка кур 42-дневного возраста кросса «Ломанн Коричневый». Молодняк кур 1-й (опытной) группы (15 голов) иммунизировали живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE». Данная вакцина изготовлена из культуры клеток фибробластов СПФ-эмбрионов кур, инфицированной рекомбинантным вирусом «FP-LT», представляющим собой вирус оспы птиц, штамм «Cutter», в ДНК которого встроен ген, кодирующий протективный эпитоп вируса ИЛТ (штаммы «632» и «NS175») и гомогената тушек СПФ-эмбрионов кур, инфицированных аттенуированным вирусом ИЭМ (штамм «Calnek»). Одна иммунизирующая доза вакцины содержит не менее $10^{2,7}$ ЦПД₅₀ рекомбинантного вируса «FP-LT» и не менее $10^{2,7}$ ЭИД₅₀ вируса ИЭМ, штамм «Calnek». Интактная птица 2-й группы (15 голов) служила контролем. Вакцину вводили с помощью специального двухигольного инъектора. Иглы инъектора погружали в раствор вакцины таким образом, чтобы заполнились оба желобка (0,01 мл). Затем прокалывали перепонку крыла, избегая касания перьев и попадания в сосуды, мышцы, кости. Иглы инъектора погружали в раствор вакцины перед каждой перфорацией перепонки крыла. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. За день до проведения вакцинации (фон), а также на 3 и 7 дни после иммунизации по 5 цыплят из опытной группы убивали для изучения морфологической эффективности вакцины [9]. Эвтаназию птицы мы осуществляли согласно требованиям, изложенным в Европейской конвенции по защите домашних животных, а также в методических указаниях по гуманной эвтаназии домашних животных [10]. Для дальнейших исследований отбирали ткани в области перепонки крыла (в месте введения вакцины), кусочки тимуса, клоакальной сумки и селезенки (для изучения иммуноморфогенеза), гортани и трахеи (для выявления структурных изменений, характерных для оспы и ИЛТ), коры полушарий большого мозга, мозжечка, продолговатого мозга, железистого желудка, печени и поджелудочной железы (для выявления специфичных для ИЭМ гистологических изменений).

Органы отмывали от крови охлажденным физиологическим раствором, а затем фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа [9, 11]. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на санном микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин–эозином и по Брассе. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70». Гистологическое исследование проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6» (Россия). Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

При гистологическом исследовании перепонки крыла цыплят до вакцинации ткани находились в состоянии морфологической нормы. Кожа была покрыта многослойным плоским эпителием с низкой степенью ороговения. В дерме кожи четко выделялись сосочковый и сетчатый слои. Степень наполнения капилляров сосочкового слоя умеренная. В сетчатом слое дермы кожи просматривались перьевые фолликулы, группы фибробластов, немногочисленные группы лимфоцитов, микро- макрофагов, единичные плазматические клетки. Подкожная жировая клетчатка была образована рыхлой соединительной тканью и группами липоцитов, имеющих перстневидную форму. Вблизи кровеносных сосудов выявлялись единичные макрофаги и лимфоциты.

При исследовании тканей в области введения вакцины у иммунизированных птиц на 3-й день после введения вакцины «ВЕКТОРМУН FP-LT+AE» регистрировались интенсивная гиперемия артериол, венул и капилляров, серозный воспалительный отек дермы кожи. В сосочковом и сетчатом слоях дермы отмечались лимфоидно-макрофагальные периваскулиты и пролифераты. Появлялись в большом количестве плазмобласты, проплазмциты и плазмциты. На 7-й день после применения живой векторной вакцины в сетчатом слое дермы на границе с подкожной жировой клетчаткой отмечено появление множества

лимфоидных узелков в состоянии гиперплазии (рис. 1). Отмечалась и активная плазмоцитарная инфильтрация тканей.

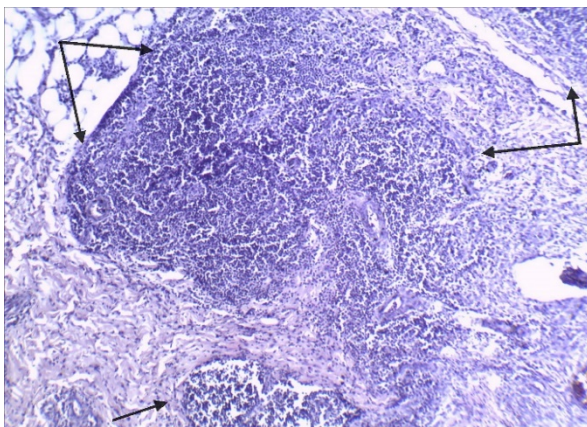


Рис. 1. Микрофото. Формирование узелковой лимфоидной ткани на месте введения вакцины цыпленка на 7-й день эксперимента. Гематоксилинэозин. Биомед-6. Ув.: x 120

Тимус молодняка кур обеих групп до применения живой векторной вакцины находился в состоянии морфологической нормы. Дольки органа были окружены капсулой из плотной неоформленной соединительной ткани. От капсулы вглубь органа проходили тонкие прослойки рыхлой соединительной ткани, содержащие сосуды и нервы. Паренхима долек была образована мозговым веществом, занимающим центральную часть дольки, и корковым веществом, расположенным на периферии. На 3-й день после иммунизации в корковом веществе долек отмечено формирование крупноочаговых пролифератов, состоящих из малодифференцированных лимфобластов (рис. 2). Граница между корковым и мозговым веществом здесь была неровной. На 7 день после применения векторной вакцины размеры коркового вещества долек тимуса птиц обеих групп уменьшались по сравнению с исходными данными, что связано, по-видимому, с возрастной инволюцией данного органа в процессе постовариального онтогенеза. При этом у цыплят опытной группы данный показатель был значительно больше, по сравнению с фоновыми показателями.

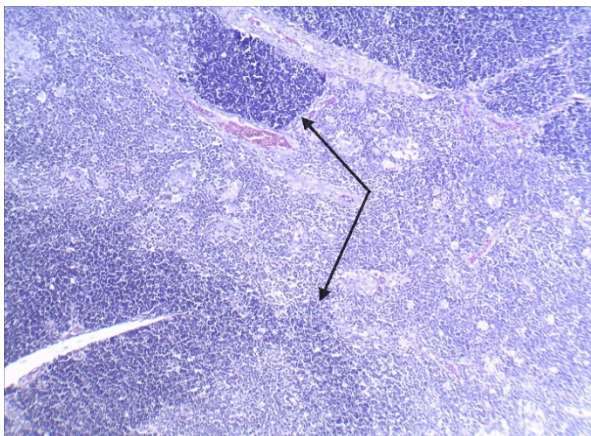


Рис 2. Микрофото. Лимфоидные пролифераты в корковом веществе долек тимуса цыпленка на 3-й день после иммунизации вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+АЕ». Гематоксилинэозин. Биомед-6. Ув.: x 120

Гистологическое исследование клоакальной сумки молодняка кур до вакцинации показало, что стенка органа состоит из слизистой, мышечной и серозной оболочек. Слизистая оболочка имела первичные и вторичные складки, покрытые многорядным призматическим эпителием. В складках слизистой оболочки визуализировались лимфоидные узелки, состоящие из корковой и мозговой зоны. Корковая зона, расположенная на периферии лимфоидного узелка, представляла собой ретикулярную ткань, заполненную малыми и средними лимфоцитами. Мозговая зона, занимающая центральную зону узелка, была образована эпителиальной тканью и содержала преимущественно средние и большие лимфоциты. Зоны узелка отделены друг от друга базальной мембраной и слоем эпителиоцитов. На 3-й и 7-й дни после применения вакцины у подопытного молодняка кур наблюдалось значительное расширение корковой зоны лимфоидных узелков. Кроме того, иммунизация птиц приводила к активной лимфотизации корковой зоны лимфоидных узелков, что подтверждалось повышением плотности расположения лимфоцитов на условную единицу площади.

Селезенка молодняка перед опытом отличалась однотипностью строения. Орган был покрыт соединительнотканной капсулой, от которой вглубь отходили трабекулы, содержащие элементы рыхлой соединительной ткани и гладкие миоциты. Паренхима селезенки была образована белой и красной пульпой. Белая пульпа была лимфоидны-

ми узелками, расположенными около артерий среднего калибра. Красная пульпа селезенки цыплят была образована пульпарными синусами и пульпарными тяжами. Пульпарные тяжи в основе содержали ретикулярную ткань. Между ретикулярными клетками находились эритроциты, микро- и макрофаги, лимфоциты, а также генерации плазматических клеток. На 3-й и 7-й дни после иммунизации в пульпарных тяжах и периартериальных муфтах селезенки птиц опытной группы отмечено увеличение количества лимфобластов, плазмобластов, проплазмоцитов и плазмоцитов. Кроме того, наблюдалось значительное увеличение числа и размеров лимфоидных узелков (рис. 3).

При гистологическом исследовании гортани и трахеи молодняка кур характерных для ИЛТ гистологических изменений (геморрагическая инфильтрация слизистой оболочки, диффузная и крупноочаговая лимфоидно-макрофагальная и плазмоклеточная инфильтрация, образование на месте эпителиального слоя слизистой оболочки синцития, формирование в синцитиальных структурах внутриядерных оксифильных телец-включений) нами не выявлено.

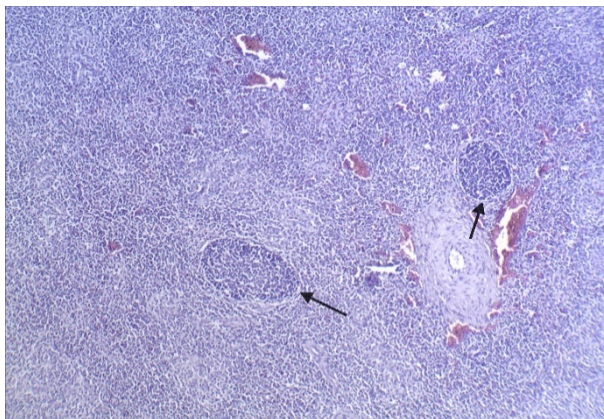


Рис. 3. Микрофото. Увеличение числа лимфоидных узелков в селезенке цыпленка на 7-й день после иммунизации вакциной «ВЕКТОРМУН FP-LT+АЕ». Гематоксилинэозин. Биомед-6. Ув.: x 120

Также отсутствовали и структурные нарушения, характерные для оспы (дифтеритический ларингит и трахеит, гиперплазия и патологическая регенерация покровного эпителия гортани с формированием синцития, наличие в синцитиальных структурах цитоплазматических телец Боллингера).

При изучении головного мозга птиц специфичные для ИЭМ гистологические изменения (хроматолиз нейроцитов коры полушарий большого мозга, белого вещества мозжечка и продолговатого мозга, клеток Пуркине серого вещества мозжечка, лимфоидно-макрофагальные эндо- и периваскулиты, лимфоцитарная и олигодендроглиальная инфильтрация серого и белого вещества отделов головного мозга) не определялись. В слизистой оболочке железистого желудка, строме печени и поджелудочной железы отсутствовали характерные для ИЭМ обширные лимфоидно-макрофагальные пролифераты («марекоподобная» реакция).

Заключение. Полученные результаты исследований показали, что иммунизация цыплят живой векторной вакциной «ВЕКТОРМУН FR-LT+AE» обуславливает развитие выраженных иммуноморфологических изменений в тканях перепонки крыла на месте ее инъекции, а также в тимусе, фабрициевой бурсе и селезенке, что свидетельствует о высокой иммуногенности данной вакцины. Ее высокая профилактическая эффективность подтверждается также отсутствием у молодняка кур гистологических изменений, специфичных для оспы, ИЛТ и ИЭМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болезни домашних, певчих и декоративных птиц / В. С. Прудников [и др.] // Минск: Техноперспектива, 2008. – С. 103–105, 139–141, 148–150.
2. Справочник по болезням птиц / В. С. Прудников [и др.] // Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – С. 74–77, 108–111, 120–123.
3. Фисинин, В. И. Мировые и российские тренды развития птицеводства / В. И. Фисинин // Животноводство России. – 2018. – № 4. – С. 2–4.
4. Бакулин, В. А. Болезни птиц / В. А. Бакулин. – СПб.: Искусство России, 2006. – С. 55–62, 94–98, 136–145.
5. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц: пер. с англ.: в 3 ч. Ч. 2 / Б. У. Кэллек [и др.]; ред.: Б. У. Кэллек [и др.], пер.: И. Григорьев [и др.]. – 10-е изд. – М.: Аквариум Принт, 2011. – С. 256–259, 341–359.
6. Громов, И. Н. Морфология иммунной системы птиц при вакцинации против вирусных болезней / И. Н. Громов. – Витебск: ВГАВМ, 2010. – С. 217–239, 261–263.
7. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц / Б. Я. Бирман [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Минск: Бизнесофсет, 2008. – 147 с.
8. Эффективность векторной и ассоциированной вакцин для специфической профилактики инфекционной бурсальной болезни / А. С. Алиев [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 3. – С. 12–16.
9. Громов, И. Н. Отбор и фиксация патологического материала для гистологической диагностики болезней птиц: рекомендации / И. Н. Громов, В. С. Прудников, Н. О. Лазовская. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 24 с.
10. Полоз, А. И. Методические указания по гуманной эвтаназии животных / А. И. Полоз, А. Ю. Финогенов; ИЭВ им. С. Н. Вышеселеского. – Минск, 2008. – 45 с.
11. Микроскопическая техника: Руководство / Д. С. Саркисов [и др.]; под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.