

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ ЦЫПЛЯТ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА СПРЕЙ МЕТОДОМ

Головко В.А., д.в.н., проф., академик НААН Украины  
Василенко Е.В., аспирантка

*Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков*

**Аннотация.** Представлены данные о эффективности иммунизации цыплят против болезни Ньюкасла спрей методом вакциной из штамма VN (аналогичный штамму Ла-Сота) согласно наставления с последующим определением титра антигемагглютинации в РЗГА и проведением цитологических исследований мазков-отпечатков с гардиевой железы, селезенки и костного мозга и подсчетом количества клеток плазмоцитарного ряда в динамике иммуногенеза.

Установлено, что наиболее выраженная плазматическая реакция в указанных органах цыплят была выражена на пятый день после первичной и особенно после повторной иммунизации спрей методом и предшествовала накоплению антигемагглютининов в сыворотке крови, что подтверждает иммунологическую перестройку организма и формирование иммунитета у 78-86 % цыплят 30-45-ти дневного возраста.

**Ключевые слова:** болезнь Ньюкасла, цыплята, вакцина, иммунизация, спрей-метод, гардиевая железа, селезенка, костный мозг, плазматические клетки, антигемагглютинины.

**Актуальность проблемы.** Болезнь Ньюкасла относится к особо опасным инфекционным заболеваниям, которая причиняет большой экономический ущерб. Заболеваемость и летальность достигают до 100 %. Заражение птицы вирусом болезни Ньюкасла (ВБН) происходит аэрозольным и пероральным путями. Возбудитель в первую очередь поражает органы дыхания, пищеварения и нервную систему [8].

В настоящее время для иммунизации птицы применяется большое количество высокоэффективных живых вакцин аэрозольным или пероральным методами и убитых масляно-адьювантных вакцин, которые применяются только инъекционным способом, что значительно повышает стоимость иммунизированной птицы [8]. Рекомендуются комбинировать живые и инактивированные вакцины, что обеспечивают у птицы более надежный иммунитет.

Оценка напряженности иммунитета у цыплят различных возрастных групп и кур при применении различных вакцин, методов и схем иммунизации в том числе и комбинированных оценивается по степени накопления антигемагглютининов в сыворотке крови без учета цитоморфологических изменений в органах (гардиева железа, тимус, селезенка, фабрициева сумка, костный мозг) иммунизированной птицы с подсчетом количества плазматических клеток в динамике развития иммуногенеза. Эти вопросы изучены недостаточно с учетом применяемых вакцин и методов иммунизации, особенно при одновременной иммунизации против нескольких заболеваний (двухвалентные, трехвалентные, четырехвалентные вакцины). В настоящее время на Украине для иммунизации птицы против болезни Ньюкасла широко применяется вакцина «Ла-Сота» и аналогична вакцина из штамма VN, которые являются слабо реактогенными и высокоиммуногенными для цыплят различных возрастных групп (особенно вакцина из штамма VN) и кур. Согласно наставления и с учетом эпизоотического состояния вакцина из штамма VN применяется первый раз для иммунизации однодневных цыплят спрей методом, а повторно в 16-17 дневном возрасте.

На птицефабриках различного направления, в том числе в ОХ «Борки» Змиевского р-на Харьковской обл. разработаны свои схемы иммунизации с применением одно, двух, трех или четырех валентных вакцин.

Вопросы клеточного иммунитета при различных схемах иммунизации птицы с применением одновалентных и многовалентных вакцин изучены недостаточно.

В литературе имеются отдельные сообщения [2, 3], что по степени выраженности плазматической реакции в органах цыплят и кур, особенно в гардиевой железе, можно судить о степени напряженности иммунитета. Плазматические клетки играют важную роль в синтезе антител [4, 5, 6, 7]. Плазматическую клетку сравнивают с одноклеточной железой [1].

Исследованиями [8] установлено, что живые вакцины из штаммов В, и Ulster 2 С хорошо размножаются в гардиевой железе бройлеров (при комбинировании живых и инактивированных вакцин) и индуцируют рост титра антител в слезном секрете. Цитоморфологических исследований эти авторы не проводили.

Учитывая вышеизложенное мы решили провести на первом этапе комбинированные исследования: цитологические исследования гардиевой железы, селезенки и костного мозга через различные сроки после первичной и повторной иммунизации суточных цыплят вакциной из штамма VН против болезни Ньюкасла спрей-методом с учетом степени выраженности плазмочеточной реакции в указанных органах и серологические исследования с учетом степени накопления антигемагглютининов в сыворотке крови и установить взаимосвязь между плазмочеточной реакцией в органах иммунизированных цыплят и накоплением антигемагглютининов в сыворотке крови.

**Материал и методы исследования.** Опыты были проведены на кафедре эпизоотологии и ветеринарного менеджмента, а также в опытном хозяйстве «Борки» на цыплятах суточного возраста иммунизированных живой вирус вакциной против болезни Ньюкасла прямо в инкубатории спрей-методом (рис.1) согласно наставления из штамма VН (аналогичный штамму «Ла-Сота») с биологической активностью не ниже  $10^{-6}$  ELD<sub>50</sub> (доза, которая является слабо реактогенным как штамм В<sub>1</sub>).



Рис 1. Вакцинация цыплят спрей-методом в инкубатории против болезни Ньюкасла.

На 16-17 день после первичной иммунизации в условиях кафедры приводили повторную иммунизацию цыплят спрей-методом (крупнокапельный аэрозоль) вакциной из штамма VН.

Ставилась цель изучить эффективность двукратной иммунизации цыплят против болезни Ньюкасла спрей-методом одной живой вирус вакциной из штамма VН.

В условиях опытного хозяйства «Борки» повторную вакцинацию цыплят в условиях птичника проводили двухвалентной вакциной спрей-методом или аэрозольно (аэрозольный метод рекомендуется применять только для повторной вакцинации цыплят с 14-ти дневного возраста) на 31 день жизни против болезни Ньюкасла (штамм VН) и инфекционного бронхита (штамм Н-120) (штаммы VН + Н – 120 – живые вакцины).

В трехмесячном возрасте перед началом яйценоскости птицу иммунизировали третий раз трехвалентной вакциной (против болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости (для промышленного стада), а если стадо идет на воспроизводство

необходимо применять четырехвалентную вакцину (против болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита синдрома снижения яйценоскости и болезни Гамбора). Результаты цитоморфологических и серологических исследований при применении двух, трех и четырех валентных вакцин будут опубликованы после обработки полученных результатов.

На 3, 5, 10, 15 день после первичной и на 3, 5, 10, 20, 30 день после повторной иммунизации вакциной из штамма VN спрей-методом проводили убой по три головы цыплят, отбирали кровь и органы (гардиеву железу, селезенку, тимус, фабрицеву сумку, костный мозг) для проведения серологических, цитологических и гистологических исследований в динамике иммуногенеза.

Для проведения цитологических исследований и подсчета клеток плазмочитарного ряда в 50-полях зрения микроскопа (плазмобласты, молодые и зрелые плазматические клетки) мазки отпечатки из гардиевой железы, селезенки и костного мозга окрашивали по Романовскому-Гимза и Паппейгейму. Отдельные мазки отпечатки окрашивали чисто химическим методом (метод Браше) с применением красителя метилзеленый пиронипн.

Для проведения гистологических исследований гардиеву железу, селезенку, тимус, фабрицеву сумку помещали в 10 % нейтральный формалин. При проведении серологических исследований определяли в РЗГА (реакция задержки гемагглютинации. Титры гемагглютининов определяли в Харьковской региональной государственной лаборатории ветеринарной медицины на кафедре эпизоотологии и ветеринарного менеджмента ХГЗВА.

В пробах сыворотки крови в динамике иммуногенеза определяли титры гемагглютининов и сравнивали их со степенью выраженности плазмочитарной реакции в исследуемых органах. Аналогичные исследования проведены с контрольными (не вакцинированными) цыплятами. В данной статье представлены результаты цитологических и серологических исследований после первичной и повторной иммунизации цыплят вакциной из штамма VN спрей методом.

**Результаты исследований.** При проведении цитологических исследований мазков отпечатков из органов цыплят (гардиева железа, селезенка, костный мозг) иммунизированных против болезни Ньюкасла спрей методом уже на третий день после первичной вакцинации устанавливали увеличение количества крупных клеток плазмочитарного ряда типа бластов (рис. 1<sup>а</sup>, рис. 2<sup>а</sup>), которые имели нежную структуру ядра.

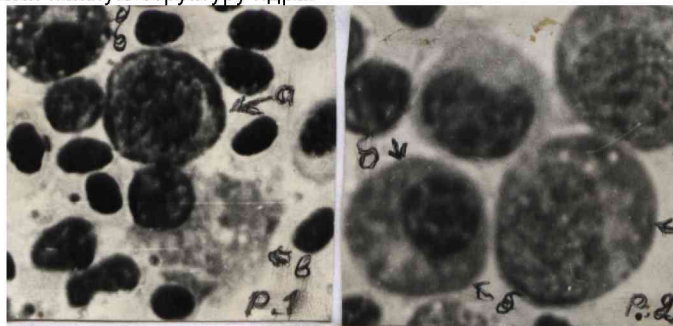
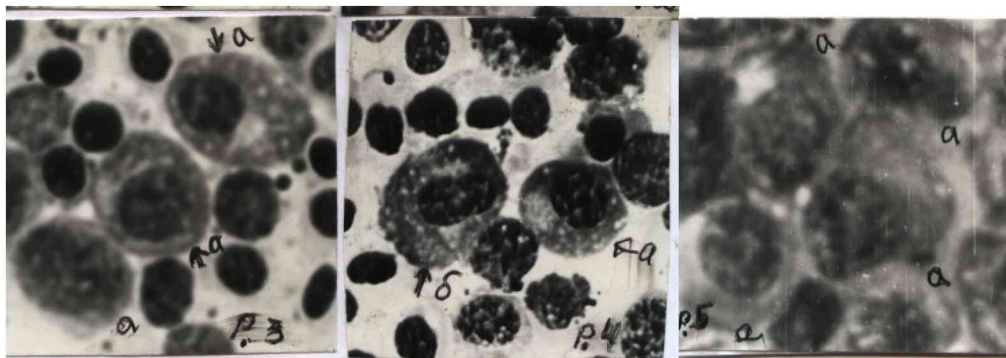


Рисунок 1а Костный мозг цыпленка на 3-ий день после первичной вакцинации спрей методом. 1. Плазмобласт. 2. Молодые плазматические клетки. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 700. об. 100, ок 7.

Рисунок 2а Костный мозг цыпленка на 3-ий день после повторной вакцинации спрей-методом. 1.Плазмобласты. 2.Молодая плазматическая клетка. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 1500 об. 100, ок 75.

Ядро занимало большую часть клетки, внутри ядра обнаруживали ядрышко. Цитоплазма окрашивалась интенсивно базофильно и располагалась вокруг ядра. Между ядром и цитоплазмой располагалась зона просветления (дана Голджи). В отдельных клетках в цитоплазме отмечали вакуолизацию.





**Рисунок 3а** Костный мозг цыпленка на 5-ый день после повторной вакцинации спрей-методом. Молодые формы плазматических клеток. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 700.

**Рисунок 4а** Костный мозг цыпленка на 5-ый день после повторной вакцинации. 1. Плазматическая клетка. 2. Двухядерная плазматическая клетка. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 700. об. 100, ок 7.

**Рисунок 5а** Селезенка цыплят на пятый день после повторной вакцинации спрей-методом. Скопление клеток плазмоцитарного ряда. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 700.

Наибольшее количество плазматических клеток на всех стадиях развития обнаруживали в органах цыплят на пятый день после первичной и особенно после повторной вакцинации. Количество плазматических клеток в исследуемых органах опытных цыплят по сравнению с контрольными (не иммунизированными) увеличивалась на пятый день после первичной вакцинации в два-три раза, а после повторной вакцинации в 4-5 раз. В поле зрения микроскопа под иммерсионной системой обнаруживали от двух до пяти клеток плазмоцитарного ряда (рис. 3<sup>а</sup>, рис. 4<sup>а</sup>, рис. 5<sup>а</sup>).

Местами обнаруживали двухядерные плазматические клетки (рис. 3<sup>б</sup>). На десятый день после первичной и особенно после повторной вакцинации в основном регистрировали зрелые плазматические клетки, которые были меньших размеров чем молодые плазматические клетки (рис. 6<sup>а</sup>, рис 7<sup>а</sup>, рис 8<sup>а</sup>). Ядро располагалось эксцентрично с хорошо выраженным хроматином, отчетливо видно околядерное просветление (зона Голджи). Цитоплазма окрашена интенсивно базофильно. На двадцатый и тридцатый день после повторной вакцинации в поле зрения микроскопа в основном обнаруживали одиночные зрелые плазматические клетки.



**Рисунок 6а** Селезенка цыплят десятый день после повторной вакцинации спрей-методом. Обнаруживают в основном зрелые плазматические клетки. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 630.

**Рисунок 7а** Гардиева железа цыплят на день после повторной вакцинации спрей-методом. Скопление плазматических клеток. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 630.

**Рисунок 8а** Гардиева железа цыпленка на десятый день после повторной вакцинации спрей-методом. Скопление местами зрелых плазматических клеток. Окраска по Романовскому Гимза. Увеличение 630.

Для подтверждения, что мы имели дело с клетками плазмоцитарного ряда отдельные мазки отпечатки из исследуемых органов окрашивали по Браше метиловым зеленым пиронином. В

плазматических клетках цитоплазма и ядрышко окрашивались в интенсивно красный цвет (рис 9<sup>а</sup>, рис. 10<sup>а</sup>), что подтверждает наличие РНК в этих клетках, которые принимают участие в синтезе антител.



Рисунок

Гардиева

на третий день

вакцинации спрей-методом. Цитоплазма и ядрышки плазматических клеток окрашены (метод Браше) метил-зеленым пирином положительно

**Рисунок 10а** Гардиева железа на пятый день после повторной вакцинации спрей-методом.

Цитоплазма и ядрышки плазматических клеток окрашены (метод Браше метил-зеленым пирином положительно. Увеличение 630.

9а

железа цыплят

после повторной

Исследованиями [2] установлено, что цитоплазма клеток плазмочитарного ряда состоит из канальцев эндоплазматической сети на внутренней стороне которых обнаружено большое количество рибосом, что подтверждает синтез антител этими клетками и окраску по Браше в интенсивно розовый цвет. Данные серологических исследований на наличие антигемагглютининов в сыворотке крови цыплят на третий, пятый день после первичной иммунизации спрей-методом путем постановки РЗГА показали отрицательные результаты. В небольших титрах (1 : 2 - 1 : 8) антигемагглютинины в сыворотке крови были обнаружены в 50 % цыплят на десятый день после первичной вакцинации, а на 15-ый день антигемагглютинины в титрах 1 : 4 - 1 : 16 обнаруживали у 60 % цыплят.

Увеличение плазматических клеток на пятый день после повторной иммунизации спрей-методом предшествовало накоплению титра антигемагглютининов в сыворотке крови до 1 : 8 - 1 : 32 в 82% цыплят на 10, 20-тый день после повторной иммунизации, что подтверждает напряженный иммунитет против болезни Ньюкасла в стаде. Клеточная реакция приходила в норму на 30-тый день после повторной вакцинации. Таким образом, комплексный метод с применением цитологических и серологических исследований позволяет более шире оценить иммунологическую перспективу организма цыплят вакцинированных против болезни Ньюкасла и дать заключение о степени напряженности иммунитета.

#### Выводы

1. Наиболее выраженная плазматическая реакция в органах цыплят была отмечена на пятый день после первичной и особенно после повторной иммунизации спрей-методом и предшествовала накоплению антигемагглютининов в сыворотке крови в титрах 1 : 8 - 1 : 16 у 78-86 % цыплят, что свидетельствует о формировании иммунитета против болезни Ньюкасла.

2. Плазматическая реакция в исследуемых органах (гардиева железа, селезенка, костный мозг) является одним из показателей иммунологической перестройки организма цыплят, иммунизированных против болезни Ньюкасла спрей-методом, а также - иммуногенных и реактогенных свойств (штамм VN аналогичный штамм «Ла-Сота»), которая оказывалась слабореактогенной и высокоиммуногенной на основании цитологических и серологических исследований.

#### Литература

1. Абрамов М.Г. Морфология клеток лимфатического роста. М.Г. Абрамов. Гематологический атлас. Москва «Мелицина». 1979 - 263 с.
2. Головкин В.А. Электронно-микроскопические и цитоморфологические исследования гардиевой железы птиц при вакцинации против ньюкаслской болезни. В.А. Головкин, И.И. Белоконов, В.К.



- Смолянинов. Збірник «Ветеринарна медицина» Актуальні проблеми молекулярної діагностики у ветеринарній медицині та біології. Харків. АР Крим. – м. Феодосія; - 2007. С. 233-300
3. Лукашов И.И. Плазмноклеточная реакция вилочковой железы и селезенки цыплят иммунизированных против болезни Ньюкасла (псевдочумы) И.И. Лукашов, М.Г. Пилипенко, В.К. Смолянинов. Доклады ВАСХНИЛ, 15, изд-во «Колос», М; 1971. – С. 23-24.
  4. Здродовський П.Д. Цитофизические механизмы иммуногенеза. П.Д. Здродовский. Журнал гигиены, эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. VI, 4. – 1962. – С. 45-49.
  5. Форштер Ф.К. К вопросу о механизме образования антител. К.Ф. Форштер. ЖМЭИ, № 11, - 1955. – С. 53-58.
  6. Фриденштейн А.Я. Актуальные вопросы иммунизации. А.Я. Фриденштейн. М; - 1064. – С. 97-99.
  7. Рапопорт Я.Л. Иммунологические основы иммуногенеза (иммуноморфология). Я.П. Рапопорт. Архив патологии. т. 19 № 2 – 1957. С. 27-32.
  8. Шансирипорнхай Н. Эффективность одновременной иммунизации бройлеров инактивированной масляно-адьювантной и живыми вакцинами из штаммов V<sub>1</sub> и Ulster 2С вируса болезни Ньюкасла Н.Шансирипарнхай, Дж. Сасиприяойон. Р.В.Ж. СХЖ. № 4 – 2007. С.41-43

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ВАКЦИНАЦІЇ КУРЧАТ ПРОТИ ХВОРОБИ НЬЮКАСЛА СПРЕЙ-МЕТОДОМ**

Головко В.А., д.в.н., проф., академік НААН України

Василенко Е.В., аспірантка

Харківська державна зооветеринарна академія

Анотація. Представлені дані про ефективність імунізації курчат проти хвороби Ньюкасла спреї-методом вакцинацією з штаму VH (аналогічний штаму Ла-сота») згідно настанови з подальшим визначенням титру антигемаглютининів в РЗГА і проведенні цитологічних досліджень мазків-відбитків з гардієвої залози, селезінки і кісткового мозку і підрахуванням кількості клітин плазмочитарного ряду в динаміці імуногенезу.

Встановлено, що найбільш виражена плазматична реакція у вказаних органах курчат була виражена на п'ятий день після первинної і особливо після повторної імунізації спреї-методом і передувала накопиченню антиген аглютининів в сироватці крові, що підтверджує імунологічну перебудову організму і формування імунітету в 78-86 % курчат 30-45-ти денного віку.

Ключові слова: хвороба Ньюкасла, курчата, вакцина, імунізація, спреї-метод, гарієва залоза, селезінка, кістковий мозок, плазматичні клітини, антигемаглютинини.

**EFEKTIVNYST' VAKTSINATSY CHICKENS AGAINST ILLNESS OF N'YUKASLA SPREY-METHODOM**

Golovko V.A., д.в.н., prof., academician NAAN Ukraine

Vasilenko E.V., graduate student

Kharkov State Zzooveterynary Academy, Kharkov

Summary. Information is presented about efficiency of immunization of chickens against illness of N'yukasla by a sprej metodom by a vaccination from the culture of VH (analogical a culture Ла-сота») in obedience to instructions with subsequent determination of title of antugemaglutininu in RZGA and leadthrough of citologschnue researches of strokes-imprints from a gardievoy gland, spleen and marrow, and counted up the amount of mews of plasmocitarnogo row in the dynamics of imunogeneza.

It is set that a plasmatuchna reaction is most expressed in the indicated organs of chickens was expressed on fifth days after primary and especially after the repeated immunization and preceded a sprej metodom an accumulation antigen of aglutuninov in the whey of blood which confirms the immunological erecting of organism forming of immunity in 78-86 % chickens 30-45-ти daily age.

Key words: illness of N'yukasla, chickens, vaccine, immunization, sprej metod, gardieva gland, spleen, marrow, a plasmatuchna mews, antugemaglutininu.