

Понаськов М.А., магистр ветеринарных наук, ассистент

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

## ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКЦИНЫ «БОЛЬШЕВАК»

### Резюме

В статье представлены материалы влияния поливалентной инактивированной культуральной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота «БольшеВак» на иммуноморфогенез кроликов. Установлено, что двукратная иммунизация с интервалом 21 день позволяет более активно выработать клеточный и гуморальный иммунитет у иммунизированных животных.

**Ключевые слова:** вакцина, вирусные пневмоэнтериты, иммуноморфогенез, кролики, морфологические исследования.

### Summary

The article presents the materials of the effect of polyvalent inactivated culture vaccine against infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial, rotavirus and coronavirus infection of cattle "BolsheVak" on immunomorphogenesis in rabbits. It was found that double immunization with an interval of 21 days allows for more active development of cellular and humoral immunity in immunized animals.

**Keywords:** vaccine, viral pneumoenteritis, immunomorphogenesis, rabbits, morphological studies.

Поступила в редакцию 18.10.2022 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достижения ветеринарной науки и практики, вирусные пневмоэнтериты телят по-прежнему являются одной из самых распространенных и экономически затратных проблем современного животноводства во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь [3, 11, 13].

Особенно восприимчивы к данной патологии телята неонатального периода. В связи с незрелостью механизмов иммунной защиты и неспецифической резистентности организма вирусные пневмоэнтериты в этот период вызывают тяжелые формы течения болезни, зачастую с летальным исходом [4, 5].

Согласно литературным данным и результатам собственных исследований, основными возбудителями вирусных желудочно-кишечных и респираторных болезней телят являются вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи крупного рогатого скота, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекций. Данные возбудители вызывают заболевания, которые на крупных молоч-

ных комплексах и фермах протекают в виде ассоциативных инфекций, поражая до 80 % телят и вызывая смертность до 50 % [3, 5, 12].

В промышленном животноводстве для специфической профилактики вирусных респираторно-кишечных болезней телят используются отечественные и зарубежные инактивированные и живые ассоциированные вакцины. Однако их иммуногенность, стоимость и влияние на развитие иммунитета не всегда приносят положительный результат.

В рамках импортозамещения сотрудниками УО ВГАВМ и ОАО «БелВит-унифарм» была разработана поливалентная инактивированная культуральная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» [2].

**Целью** исследований являлось изучение влияния поливалентной инактивированной культуральной вакцины «БольшеВак» на иммуноморфогенез у кроликов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения влияния исследуемой вакцины на иммуноморфогенез по принципу условных аналогов было сформировано 3 группы кроликов по 5 голов в каждой. Кроликов 1-й группы иммунизировали исследуемой вакциной однократно внутримышечно во внутреннюю сторону бедра в дозе 2,5 см<sup>3</sup>, кроликов 2-й группы – двукратно с интервалом 21 сутки. Кроликам контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида. Эвтаназию и гистологическое исследование срезов внутренних органов от кроликов всех групп проводили на 10-е, 20-е и 30-е сутки исследования. Убой животных осуществляли согласно требованиям, изложенным в Европейской конвенции по защите домашних животных, а также в методических указаниях по гуманной эвтаназии домашних животных [7, 8, 9, 10].

Исследования проводились в прозектории и лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ. После эвтаназии кроликов трупы вскрывали по методике Г.В. Шора с последующим отбором материала для проведения гистологического исследования. Материалом для морфологических исследований служили кусочки лимфоузлов, селезенки, тимуса, ткань с места введения вакцины. Материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Все этапы приготовления гистологических препаратов проводили согласно общепринятым методикам [7]. Для обзорного изучения гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Гистологическое исследование проводили с использованием светового микро-

скопа «Olympus BX51», подключенного к портативному компьютеру с соответствующей программой для проведения морфологического анализа тканей [1, 6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клиническое состояние подопытных животных в течение всего периода исследований было удовлетворительным. Отклонений основных физиологических функций не наблюдалось.

При гистологическом исследовании *мышечной ткани* с места введения биопрепарата у кроликов 1-й и 2-й групп на 10-е сутки опыта мы наблюдали исчезновение продольной и поперечной исчерченности мышечных волокон, незначительный серозный отек межмышечной ткани, пролиферацию в данную область лимфоцитов и макрофагов (рисунки 1, 2).

У животных 1-й и 2-й групп к концу опыта (30-е сутки) в месте введения препарата отмечались застаревшие участки кровоизлияний, пролифераты из лимфоцитов, макрофагов, фибробластов и формирование коллагеновых волокон. Данные изменения указывают на восстановление ткани, при этом мышечные волокна местами были атрофированы.

У интактных животных мышечные волокна однородные в виде длинных тяжей. Саркоплазма оксифильная, пучки миофибрилл гомогенные, неразличимые. Ядра тонкие, вытянутые, едва различимые. Мышечные волокна плотно прилегают друг к другу, между ними наблюдаются тонкие капилляры. Пучки волокон окружены прослойками перимизия.

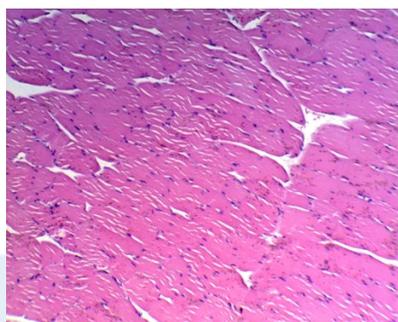


Рисунок 1. – Микрофото. Мышечная ткань у кролика контрольной группы. Гематоксилин-эозин. Ув. x20

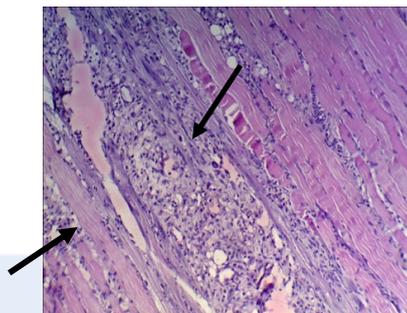
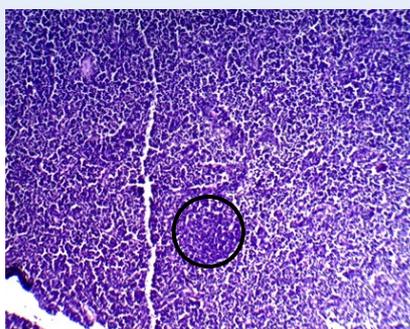


Рисунок 2. – Микрофото. Ткань с места введения вакцины у кролика 2-й группы на 10-е сутки опыта. Стрелками указан лимфоидно-макрофагальный пролиферат. Гематоксилин-эозин. Ув. x20

Регионарные месту введения вакцины лимфатические узлы у кроликов 1-й и 2-й групп после иммунизации вакциной «БольшеВак» макроскопически находились в состоянии серозно-гиперпластического воспаления: узлы увеличены в объеме, упругой консистенции, на разрезе паренхима светло-розового цвета, сочная и выбухла из-под капсулы. Сосуды органа кровенаполнены, ткани пропитаны серозной жидкостью.

При гистологическом исследовании регионарных месту введения вакцины лимфатических узлов у кроликов 1-й группы на 10-е сутки опыта отмечалось резкое увеличение размеров лимфоидных узелков со слабо выраженным светлым центром. В лимфоузлах кроликов 1-й группы в более поздние сроки наблюдения (20–30-е сутки)



**Рисунок 3. – Микрофото. Лимфоузел кролика контрольной группы. Единичный лимфоидный узелок. Гематоксилин-эозин. Ув. х40**

Макроскопически тимус у кроликов всех групп был не увеличен в размере, форма не изменена, консистенция упругая, цвет серо-коричневый, рисунок сохранен.

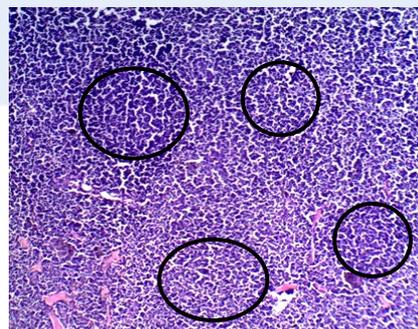
При гистологическом исследовании тимуса кроликов 1-й группы на 10-й день после вакцинации мы наблюдали по сравнению с интактными животными расширение и разрежение коркового вещества долек, нечеткую границу между корковым и мозговым веществом, тимоциты располагались равномерно и плотно. На 20–30-е сутки опыта отмечалось формирование отдельных лимфоидных узелков, а также множественных мелких тимических телец, расположенных преимущественно в мозговом веществе органа.

При гистологическом исследовании тимуса кроликов 2-й группы, на 10-е сутки после ревакцинации отмечалось резкое

после иммунизации отмечались сходные, но менее выраженные морфологические изменения.

В гистологических срезах лимфоузлов кроликов, иммунизированных вакциной «БольшеВак», на 10-й день после ревакцинации выявлялось увеличение количества лимфоидных узелков с массивным светлым центром, по сравнению с животными контрольной группы, и их гиперплазия. Между узелками в паренхиме органа отмечалось незначительное скопление эритроцитов.

К 20–30-м суткам опыта в той же группе животных отмечалось увеличение количества вторичных лимфоидных узелков с хорошо выраженными реактивными центрами.



**Рисунок 4. – Микрофото. Лимфоузел кролика 2-й группы. 20-е сутки опыта. Формирование множественных узелков. Гематоксилин-эозин. Ув. х40**

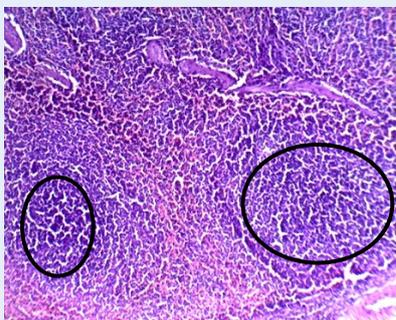
расширение коркового вещества, нечеткая граница между корковым и мозговым веществом, формирование отдельных узелков, а в мозговом веществе выявлялось множество телец Гассалья разных размеров слоистой структуры. Кровеносные сосуды коркового вещества умеренно наполнены кровью, их окружают малые, средние и единичные большие лимфоциты.

Селезенка у кроликов опытных групп была незначительно увеличена, края закруглены, упругой консистенции, красного цвета, рисунок сглажен, соскоб пульпы незначительный.

При гистологическом исследовании селезенки кроликов 1-й группы на 10-е сутки эксперимента наблюдали единичные, но довольно крупные лимфоидные узелки, многие из которых были с реактивными центрами. Среднее число лимфоидных

узелков в селезенке составляло 2–4. В последующие периоды исследований наблюдалась слабо выраженная гиперплазия узелков.

В гистосрезах селезенки подопытных животных 2-й группы на 10-й день после ревакцинации наблюдалось увеличение количества лимфоидных узелков, как



**Рисунок 5. – Микрофото. Селезенка кролика 1-й группы на 10-е сутки опыта. Увеличение площади лимфоидных узелков. Гематоксилин-эозин. Ув. х40**

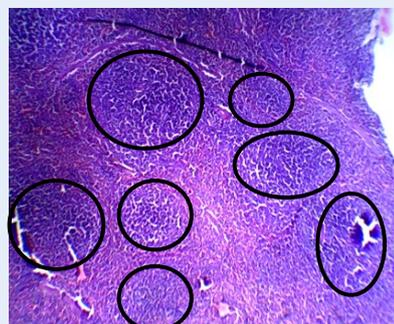
В миокарде наблюдалась зернистая дистрофия. Мышца сердца набухшая, дряблая, цвет серый, напоминает ошпаренное кипятком мясо, рисунок волокнистого строения сглажен. Гистологически отмечалась потеря поперечной исчерченности с пикнозом в отдельных ядрах. Межуточная ткань отекая, сосуды расширены, заполнены эритроцитами.

*Печень* макроскопически была увеличена в размере, неизменной формы, края слегка закруглены, темно-красного цвета, мягкой консистенции, рисунок дольчатого строения на разрезе сглажен.

Гистологически гепатоциты имели выраженный полиморфизм, были набухшие, разных размеров. Цитоплазма клеток мутная, содержала выраженную белковую зернистость, ядра были различной величины. Центральные печеночные вены и прилежащие к ним синусоидные капилляры были расширены и заполнены эритроцитами.

*Почки* были незначительно увеличены в объеме, форма не изменена, светлорыжевого цвета, упругой консистенции, граница между корковым и мозговым веществом слегка сглажена. При морфологическом исследовании в цитоплазме эпителиальных клеток извитых канальцев почек

первичных, так и вторичных, по сравнению с контрольными животными. На 20-й день после ревакцинации многие лимфоидные узелки были гиперплазированы, их реактивные центры были расширены. В поле зрения микроскопа на 10-й день опыта визуализировалось 4–6, а на 20–30-й день – до 11 лимфоидных узелков.



**Рисунок 6. – Микрофото. Селезенка кролика 2-й группы на 10-е сутки опыта. Увеличение количества лимфоидных узелков. Гематоксилин-эозин. Ув. х40**

выявлялась зернистая дистрофия: цитоплазма эпителия содержала многочисленные гранулы розового цвета.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что представленная поливалентная инактивированная культуральная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» проявляет выраженное иммуногенное действие. В результате применения вакцины «БольшеВак» в лимфатических узлах и селезенке отмечаются процессы, характеризующиеся увеличением количества и размеров лимфоидных узелков. В тимусе происходит расширение коркового вещества и образование отдельных лимфоидных узелков, формирование тимических телец. В мышечной ткани на месте введения биопрепарата формируется клеточная реакция, состоящая из лимфоцитов и макрофагов. При этом наиболее выраженные иммуноморфологические изменения в органах и тканях выявлялись у кроликов, иммунизированных двукратно с интервалом 21 день.

Таким образом, результаты морфологического исследования позволяют сде-

лать вывод о том, что применение поливалентной инактивированной культуральной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» двукратно с интерва-

лом 21 день оказывает стимулирующее влияние на иммунную систему и приводит к существенной иммунологической перестройке организма и созданию напряженного иммунитета у вакцинированных животных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Александровская, О. В. Цитология, гистология и эмбриология / О. В. Александровская, Т. Н. Радостина, Н. А. Козлов. – М. : Агропромиздат, 1987. – 447 с.
2. Красочко, П. А. Подбор инактивированных и адъювантов при конструировании поливалентной вакцины против вирусных пневмоэнтеритов телят / П. А. Красочко, М. А. Понаськов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»: науч.-практ. журнал. – Витебск, 2022. – Т. 58, вып. 1. – С. 21–26.
3. Ламан, А. М. Иммунологическая активность трехвалентной инактивированной вакцины против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота / А. М. Ламан // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2018. – № 2. – С. 53–57.
4. Лукьянова, И. А. Клинико-патоморфологические особенности течения вирусно-бактериальных респираторно-кишечных инфекций у телят / И. А. Лукьянова, Т. В. Ермакова, В. И. Плешакова // Вестник АГАУ. – 2012. – № 4. – С. 49–51.
5. Малашко, В. В. Иммуноморфогенез у животных после иммунизации трехвалентной инактивированной вакциной против вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции крупного рогатого скота / В. В. Малашко, П. А. Красочко, А. М. Ламан // Экология и животный мир. – 2009. – № 1. – С. 79–91.
6. Микроскопическая техника : руководство для врачей и лаборантов / Д. С. Саркисов [и др.]. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
7. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.
8. Патологическая анатомия и дифференциальная диагностика болезней телят и поросят, протекающих с диарейным синдромом : учеб.-метод. пособие / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2021. – 55 с.
9. Патологическая анатомия и дифференциальная диагностика инфекционных и инвазионных болезней телят и поросят, протекающих с респираторным синдромом : учеб.-метод. пособие / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 39 с.
10. Полоз, А. И. Методические указания по гуманной эвтаназии животных / А. И. Полоз, А. Ю. Финогенов. – Минск : РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышесетского», 2008. – 45 с.
11. Понаськов, М. А. Динамика биохимических показателей крови сухостойных коров, иммунизированных вакциной против вирусных пневмоэнтеритов «БольшеВак» / М. А. Понаськов, П. А. Красочко, И. А. Белко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы нац. научн.-практ. конф., посвящ. памяти д-ра биол. наук, проф. Е. П. Ващекина, Брянск, 25 янв. 2022 г. / Брянский ГАУ. – Брянск, 2022. – Ч. 1. – С. 151–155.
12. Понаськов, М. А. Влияние вакцины против вирусных пневмоэнтеритов «БольшеВак» на обмен веществ у коров / М. А. Понаськов // Вестник аграрной науки. – 2022. – № 1 (94). – С. 175–181.
13. Понаськов, М. А. Динамика показателей иммунного ответа у коров, иммунизированных вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов / М. А. Понаськов, П. А. Красочко // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение: сборник науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – Брянск : Брянский ГАУ. – 2022. – С. 120–125.