

На правах рукописи

Дьячковский Леонтий Тихонович

**ЭПИЗООТОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ,
ПРИВИТЫХ ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫМИ ВАКЦИНАМИ**

16.00.03 - Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Якутск - 2004

Работа выполнена на кафедре патологической анатомии и хирургии Омского аграрного университета, в лаборатории по изучению бруцеллёза и туберкулёза животных ГНУ Якутский НИИ сельского хозяйства и в оленеводческих хозяйствах Крайнего Севера Республики Саха (Якутия).

Научный руководитель - Доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник, Слепцов Евгений Семенович.

Научный консультант - доктор ветеринарных наук, профессор Мельник Николай Георгиевич.

Официальные оппоненты:

Доктор ветеринарных наук, профессор, Сердцев Геннадий Павлович;

Кандидат ветеринарных наук, доцент Замьянов Игорь Дашиевич

Ведущее учреждение - Московская государственная академия ветеринарной медицины и прикладной биотехнологии им К.И.Скрябина (г.Москва).

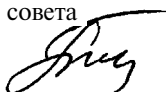
Защита диссертации состоится в 14⁰⁰ часов 28 октября 2004 года на заседании диссертационного совета К 220. 071.01 при Якутской государственной сельскохозяйственной академии (ЯГСХА) по адресу: 677007, г.Якутск-7, ул.Красильникова, 5

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Якутской государственной сельскохозяйственной академии

Автореферат разослан 27 сентября 2004 года

Учёный секретарь диссертационного совета

кандидат ветеринарных наук, доцент



В.Ф.Бутковский

2005-4
14995

879721

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы. Бруцеллез сельскохозяйственных животных является одной из основных проблем ветеринарной науки и практики, актуальность которой определяется, прежде всего, опасностью для здоровья человека, а также широкой распространенностью этого заболевания.

По данным Комитета экспертов по бруцеллезу ФАО/ВОЗ (6-й доклад, 1986) инфекция регистрируется среди крупного рогатого скота, овец и коз в 155 странах мира.

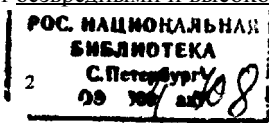
Бруцеллез северных оленей на Крайнем Севере Российской Федерации также имеет широкое распространение и является значительным сдерживающим фактором дальнейшего развития оленеводства и продолжает оказывать серьезную социальную опасность.

Многолетняя борьба с бруцеллезом северных оленей путем проведения общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий оказалась недостаточно эффективной.

Это связано и с наличием природных очагов бруцеллеза диких северных оленей.

Многими исследователями Якутии, Таймыра, Ямала и Магаданской области (В.А.Забродин, 1956, 1959, 1983; М.И.Рудаков, 1956; И.М.Голосов, 1956, 1963; А.Ф.Пинигин с соав., 1960; Н.Н.Давыдов, 1961, 1963, 1967; А.В.Лысков, 1976,1981; Р.Б.Вашкевич, 1969, 1989; R.Dieterich, 1987; Р.М.Искахов, 1988; К.А.Лайшев, 1990, 1998; Н.Т. Кобяков 1995; А.А.Хоч, 1996; Е.С.Слепцов 1999; Васильева А.А. 2000 и др.) было проведено изучение распространенности, способов диагностики, средств и методов специфической профилактики бруцеллеза северных оленей.

Наибольший практический интерес вызвали живые агглютиногенные вакцины. Опыт применения в оленеводстве вакцин из штаммов Br.abortus 19 и 82 показал, что эти вакцины являются безвредными и высокоиммуногенными.



По ряду известных причин (повышенная реактогенность, длительная персистенция антител в крови, трудоемкая технология и др.) их использование до настоящего времени не вышло из рамок производственных испытаний в масштабах отдельных стад и хозяйств. Вместе с тем, эти вакцины создают предпосылки к оздоровлению неблагополучных стад в течение 4-5 лет.

Исходя из современных требований, предъявляемых к средствам специфической профилактики, остается необходимость поиска новых, более совершенных противобруцеллезных вакцин.

Особое значение представляет изучение морфологических изменений в органах и тканях северных оленей, привитых живыми и химическими противобруцеллезными вакцинами.

Этим обусловлена необходимость проведения исследований, направленных на разработку новых и совершенствование существующих средств и методов специфической профилактики бруцеллеза животных, оптимизация использования этих методов и средств в системе мер борьбы с вышеуказанной болезнью.

1.2. Цель работы: Изучить сравнительную характеристику патоморфологии бруцеллеза северных оленей при иммунизации вакцинами из штамма Br.abortus 19,82 и химической вакциной НАК-1.

Оптимизировать систему мер борьбы с бруцеллезом северных оленей применительно к горно-таежной зоне Якутии.

При этом были поставлены следующие задачи:

- изучить морфологические изменения в организме северных оленей после введения различных доз химической противобруцеллезной вакцины;
- дать сравнительную характеристику патоморфологии бруцеллеза северных оленей при вакцинальном процессе и спонтанном течении инфекции;
- изучить особенности эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей в горно-таежной зоне Якутии;
- испытать и апробировать различные схемы применения вакцин из штаммов Br.abortus 19 и 82;

- определить морфологические изменения, развивающиеся в органах и тканях северных оленей, в сравнении с отмечаемыми у других видов сельскохозяйственных животных, как при естественном бруцеллёзе, так и при экспериментальном заражении их высоковирулентными и вакцинными штаммами бруцелл разных видов и, в особенности, бруцелл выделенных от северных оленей.

1.3 Научная новизна. Впервые изучена в динамике патоморфологическая реакция организма северных оленей при введении разных доз химической противобруцеллезной вакцины НАК-1. С помощью морфологического метода исследований дана оценка реакции организма северных оленей, привитых живыми вакцинами и при спонтанном течении бруцеллезной инфекции.

Выявлены особенности эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей в горно-таежной зоне Якутии. Изучена в сравнительном аспекте противоэпизоотическая эффективность вакцин из штаммов Br.abortus 19 и 82.

1.4 Практическая ценность. В диссертации представлены материалы по сравнительной патоморфологии бруцеллеза северных оленей. Подтверждено, что определяющим фактором развития воспалительных процессов в организме животных является вид и доза бруцелл.

Проведенные исследования позволяют выявить критерии специфичности изменений при диагностике бруцеллеза северных оленей. Данные морфогенеза инфекционного и вакцинального процессов у оленей позволяют определить критерий оценки новых противобруцеллезных препаратов.

Разработаны и утверждены ученым советом ЯГСХА «Методические указания по патологической анатомии бруцеллеза северных оленей в Якутии». Протокол № 4 от 15 марта 2003

1.5 Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты сравнительного изучения патоморфологии бруцеллеза северных оленей при вакцинальном процессе и спонтанном течении этой инфекции;
- особенности эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей в горно-таежной зоне Якутии;
- сравнительное испытание различных схем применения вакцин из штаммов Vg.abortus 19 и 82;

1.6. Апробация работы:

Основные материалы диссертационной работы представлены и обсуждены на:

- ежегодных отчетах ученого совета института ветеринарной медицины ОмГАУ (1997-2001 .);научно-практической конференции молодых ученых института ветеринарной медицины ОмГАУ (Омск, 2000.) научно-практической конференции ЯГСХА (Якутск, 2001.); научно-практической конференции по проблемам зооантропонозных болезней (6-7 июля Покров, Владимирской области 2002.); координационном совещании в ВНИИБТЖ (г. Омск, 2003 г.);

1.7 Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликованы 2 статьи и 1 методическое указание, для специалистов, работающих в оленеводческих хозяйствах, а также для студентов ветеринарных вузов.

1.8 Объем и структура диссертации. Список литературы включает 166 источников из них 56 ин. авторов состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, и приложения.

Диссертация изложена на 96 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 12 рисунками и 6 таблицами.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследований

Работа выполнялась в период с 1998 по 2003 гг. на кафедре патологической анатомии Института ветеринарной медицины ОмГАУ, в лаборатории бруцеллеза и туберкулеза животных Якутского НИИ сельского хозяйства, в АО «Куликово» Омской области, а также в оленеводческих хозяйствах Крайнего Севера Якутии.

Ретроспективную оценку эпизоотической ситуации по бруцеллезу оленей, а также изучение эффективности выполняемых противобруцеллезных мероприятий проводили на основании анализа эпизоотологических данных за период с 1984 по 2003 гг.

Источниками информации по основным показателям эпизоотического процесса (динамика неблагополучных пунктов, заболеваемость, иммунизация вакцинами из штамма Vg.abortus 19 и 82) служили данные Департамента ветеринарии МСХ Республики Саха (Якутия). Дополнительными источниками служили методы, способы, схемы иммунизации, структура неблагополучных очагов, количество абортос, результаты бактериологического исследования и др. Анализировались первичные документы ветеринарного учета и отчетности, собственные материалы эпизоотологического обследования оленеводческих хозяйств районов.

В опыте, проведенном в неблагополучном по бруцеллезу ГУЛ "Себян-Кель" Кобяйского улуса, была изучена в динамике патоморфологическая реакция организма северных оленей на введение разных доз химической вакцины НАК-1, при этом использовали 20 северных оленей. Животных распределили на 3 группы по 5 животных в каждой и иммунизировали вышеуказанной вакциной по схеме, представленной в таблице 1.

• ;

Схема опыта по изучению патоморфологической реакции организма северных оленей на введение химической вакцины НАК-1

№№ п/п	Животные по группам	Иммунизи- ровано	Вакцина	Способ введения	Доза в мг.
1.	1-я	5	НАК-1	подкожно	2,0
2.	2-я	5	НАК-1	подкожно	1,0
3.	3-я	5	НАК-1	подкожно	0,5
4.	Контроль-не привитые олени	5		не вводили	

Убой экспериментальных животных было проведено через 30 дней после опыта.

Для гистологического исследования у животных отделяли кусочки из различных участков печени, почек, селезенки, легких, матки.

Патологический материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, а также частично в 96° спирте, в спирт-формалине, жидкости Карнуа. Срезы готовили толщиной 5-6 микрон из кусочков различных органов, залитых в парафин, и окрашивали их гематоксилин-эозином, а в необходимых случаях — по Ван-Гизону.

Для выявления ДНК и РНК в лимфатических узлах и селезенке животных, привитых вакциной из штамма Vg.abortus 82, а также химической вакциной, применяли реакцию Фельгена-Розенбека и по Браше. Метод М.Г.Шубича использовали для выявления глюкозаминогликанов.

С целью изучения патоморфологических изменений организма крупного рогатого скота на введение вакцины из штамма Vg.abortus 82 и НАК-1 в АО "Куликово" Омской области был проведен опыт на 15 телочках в возрасте 7-8 месяцев аналогичного возраста (таблица 2).

Морфометрические исследования проводились с помощью окулярмикрометра МОВ-1.

**Схема опыта по изучению патоморфологической реакции
организма крупного рогатого скота на введение
химической вакцины НАК-1 и Br.abortus 82**

№№ п/п	Животные Группы животных	Количество животных гол.	Возраст, месяц	Способ введения	Доза
1.	1-я группа	3	7-8	подкожно	2,0 мг
2.	2-я группа	3	7-8	подкожно	1 млрд.м.к.
3.	3-я группа	3	7-8	подкожно	10 млрд.м.к.
4.	4-я группа	3	7-8	подкожно	ПАК-1.2 мг.
5.	5-я группа - контрольная	3	7-8	не вводили	-

Гуморальный иммунный ответ организма животных изучали в динамике через 15, 30, 60, 90 и 150 дней после введения вакцины путем определения специфических антител в роз-бенгал пробе (РБП), реакции агглютинации (РА) и реакции связывания комплемента (РСК). Данные реакции ставили по общепринятой методике и использовали единый бруцеллезный антиген.

Полученный цифровой материал был обобщен и представлен в таблицах. Достоверность средних показателей варьирующих признаков определяли по критерию Стьюдента. Статистическую обработку проводили по методике Ю.К.Баюна (1989) с применением микрокалькулятора МК-61.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.3.Эпизоотология бруцеллеза северных оленей в Якутии

В Якутии бруцеллез северных оленей впервые был установлен в 1955 году в Оймяконском районе. В последующие годы он получил значительное распространение, что в условиях рынка является серьезным препятствием на пути повышения уровня экономического развития многих неблагополучных по бруцеллезу оленеводческих хозяйств.

Сведения об эпизоотической ситуации по бруцеллезу северных оленей в республике за последние 20 лет (1984-2003 гг.) приведены в таблице 3.

Таблица 3

Эпизоотическое состояние республики
по бруцеллезу северных оленей (за 20 лет)

№№ п/п	Годы	Общее поголовье (в тыс.гол.)	Из них исследовано (в тыс.гол.)	% охвата исследова ниями	Реагировало положитель но	Процент поражен ности	Количество неблагопол учных пунктов
1	1984	319,3	94,4	30,8	2251	2,49	19
2	1985	329,0	111,4	33,6	1660	1,54	19
3	1986	319,2	64,9	31,9	2060	3,26	19
4	1987	329,1	106,5	40,1	2576	2,60	19
5	1988	335,1	131,1	39,1	1383	1,05	19
6	1989	332,1	124,7	39,1	3693	2,89	19
7	1990	328,4	121,0	37,8	3162	2,57	19
8	1991	315,2	113,7	35,8	821	0,72	19
9	1992	319,4	118,9	35,9	988	0,65	19
10	1993	308,9	98,1	35,4	584	0,69	19
11	1994	291,2	92,6	25,2	206	0,28	18
12	1995	287,1	60,5	21,0	405	0,67	18
13	1996	204,3	63,6	22,2	301	0,73	18
14	1997	198,2	61,9	29,0	256	0,65	20
15	1998	190,1	57,7	25,3	389	0,63	20
16	1999	178,9	49,1	27,5	441	0,89	21
17	2000	160,0	40,0	25,0	567	1,41	21
18	2001	157,7	35,0	22,0	204	1,32	20
19	2002	159,6	30,0	21,0	350	1,19	19
20	2003	147,4	32,0	23,0	300	2,08	21

Данные таблицы показывают, что ежегодно исследованиям на бруцеллез подвергается в среднем около одной трети поголовья оленей, содержащегося в

хозяйствах. В то же время, приведенные показатели не отражают истинного эпизоотического состояния хозяйств республики по этой болезни.

На начало 2003 года в Республике Саха (Якутия) было зарегистрировано 21 неблагополучных пунктов, с охватом 87 оленеводческих стад.

По ним можно заключить, что количество неблагополучных пунктов, несмотря на проведение ряда профилактических и оздоровительных мероприятий, не сокращается, а увеличивается.

Наибольшее распространение бруцеллез северных оленей получил в хозяйствах Усть-Янского, Кобяйского, Оленекского, Эвено-Бытантайского, Булунского, Момского и Нижнеколымского улусов республики.

Наши исследования свидетельствуют, что эпизоотическая ситуация по территориально-климатическим зонам республики является неравномерной. Наиболее высокие случаи нарастания экстенсивных показателей бруцеллеза северных оленей наблюдалась в тундровой зоне до 1992 года. Это объясняется тем, что инфекция получила наибольшее распространение в тех районах, на территории которых пролегают миграционные пути диких северных оленей Яно-Индигирской, Лено-Оленёкской и Сундрунской популяций.

В лесо-тундровой и горно-таежной зонах наблюдается устойчивое равновесие экстенсивных показателей по этой инфекции.

За последние 13 лет (1988-2000 гг.) в таежной зоне не выявлено ни одного случая положительно реагирующих животных на бруцеллез. Вместе с тем, снизилось общее поголовье домашних северных оленей, которое охвачено плановыми серологическими исследованиями.

Несмотря на большую работу, проводимую ветеринарной службой республики и научными подразделениями эпизоотическая обстановка по бруцеллезу северных оленей остается крайне сложной.

В горно-таежной зоне республики расположены хозяйства 6 оленеводческих улусов, из которых 3 (Верхоянский, Момский и Кобяйский) неблагополучны по бруцеллезу северных оленей. В Томпонском районе вот уже 3 года не было выявлено положительно реагирующих животных.

Эти районы граничат друг с другом и находятся в сходных природно-климатических условиях. Оленеводство здесь развивается по традиционной для зоны организационно-хозяйственной схеме, что оказывает определенное влияние на формирование и развитие эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей.

Подобная зависимость прослеживается и в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах тундровой зоны. Поэтому изучение и установление состояния этих зон по бруцеллезу имеет принципиальное значение при разработке мероприятий по борьбе с этой инфекцией.

В настоящее время эпизоотическое состояние их по бруцеллезу во многом остается неясным. Нами в течение нескольких лет проводилось эпизоотологическое обследование неблагополучных по бруцеллезу стад оленей, в наиболее характерном для горно-таежной зоны, Кобяйском районе.

Результаты проведенной работы могут быть полезными при разработке мер борьбы с бруцеллезом в других неблагополучных пунктах. С этой целью были собраны и проанализированы статистические материалы за несколько предыдущих лет. Проведены клинические и серологические обследования 13 неблагополучных по бруцеллезу стад оленей с поголовьем 11 тысяч животных разного пола и возраста.

Проведенными наблюдениями и исследованиями было установлено, что напряженность эпизоотической ситуации в неблагополучных по бруцеллезу стадах оленей поддерживается главным образом за счет пополнения маточного поголовья молодыми важенками, которые являются толерантными к бруцеллезу, быков-производителей, а также нахождением в стадах больных бруцеллезом животных-источников возбудителя.

Кроме этого, для хозяйств горно-таежной зоны являются характерными ограниченные возможности смены маршрутов выпасов оленей, перегонов к местам летнего и зимнего содержания и использования стационарных коралей. В этих условиях нарушение ветеринарно-санитарных правил, предусмотренные

ветеринарным законодательством, создает благоприятные предпосылки для интенсивного распространения бруцеллеза в стадах оленей.

Другим немаловажным фактором распространения бруцеллеза является бесконтрольный обмен быками-производителями и транспортными оленями внутри хозяйства или за его пределами, когда животных завозят или перегоняют из районов, неблагополучных по бруцеллезу.

Таким образом, собранные материалы, а также проведенные наблюдения и исследования неблагополучных стад оленей Кобяйского района показывают, что бруцеллез северных оленей в них протекает в хронической форме с периодическими обострениями, сопровождающимися клиническими признаками болезни.

Вместе с тем, были выявлены основные звенья эпизоотической цепи бруцеллеза северных оленей и их роль в формировании и развитии эпизоотического процесса в условиях Кобяйского улуса.

Разработанные на основе полученных данных меры борьбы и профилактики бруцеллеза северных оленей позволили снизить в улусе заболеваемость с 10,1 в 1998 году до 0,06% в 2001 году.

На основе наших рекомендаций было подвергнуто убою взрослое поголовье стад №4 и №6.

Сходность природно-климатических условий, в которых расположены хозяйства горно-таежной зоны, и практикуемая в них схема разведения, технология содержания и кормления северных оленей, позволяет использовать результаты проведенных нами исследований для разработки мер борьбы с бруцеллезом в других неблагополучных хозяйствах зоны.

2.4. Морфологические изменения в органах и тканях экспериментально-вакцинированных животных шт.82 и химической вакциной НАК-1

В первой группе находились по 3 животных, которые были привиты вакциной Вг.abortus шт.82 в дозе 1 млн. микробных клеток, при морфологическом исследовании у крупного рогатого скота почки без видимых изменений, капсулы снимаются легко в разрезе почки без видимых изменений,

мозговые и корковые слои хорошо различаются. При гистологическом исследовании, в этом органе имеются кровоизлияния, скопление лимфоидных клеток между прямыми и извитыми канальцами, почечные канальцы неодинакового размера. При проведении морфометрии почечного тельца составляла среднем $1661 \pm 0,1$ мкм, объем ядра $967 \pm 0,1$ мкм.

При макроскопическом исследовании легкие без видимых изменений, в разрезе отмечались местами кровоизлияния, при гистологическом исследовании стенки альвеолы утончены, отмечалось альвеолярная эмфизема, вокруг бронхов скопление лимфоидных клеток, вокруг бронхов разрастание соединительных тканей, при морфометрическом исследовании площадь альвеол в среднем $6110 \pm 78,9$ мкм.

Матка - морфологически без видимых изменений, при гистологическом исследовании маточные железы в состоянии покоя, эпителий однорядный цилиндрический, в некоторых железах просветы заполнены маточным секретом, слизистая оболочка в состоянии диэструма, кровеносные сосуды толстостенные, просветы сужены, запустевшие, отмечалось разрастание соединительной ткани. При морфометрическом исследовании средний объем маточной железы матки в среднем составляет $1665 \pm 25,13$ мкм.

В легких отмечалось альвеолярная эмфизема, скопление лимфоидных клеток, альвелярные стенки местами утолщены, кровоизлияние вокруг бронхов и между альвеолами, видна застойная гиперемия в стенках альвеол, разрастание соединительной ткани. В морфометрическом исследовании объем альвеол составляет $882 \pm 16,5$.

Вторую группу животных крупного рогатого скота прививали вакциной *Bg.abortus* шт.82 в дозе 1 миллиард микробных клеток, т.е. 1/100 дозы для крупного рогатого скота.

Почки при морфологическом исследовании без видимых изменений, капсула легко снимается. При разрезе граница коркового и мозгового слоев хорошо различаются. При гистологическом исследовании просвет тельца наполнен жидкостью, видны кровоизлияния в прямых канальцах, отмечается некробиоз с характерными лизисом, ядра в состоянии лизосома, между канальцами отмечается скопление лимфоидных клеток, зернистая дистрофия извитых канальцев. При морфометрическом исследовании объем ядра 694 ± 50 мкм, площадь тельца $830 \pm 64,4$ мкм.

При осмотре матки, макроскопически без видимых изменений, при гистологическом исследовании в тканях матки нашли кровоизлияния, скопление в сосудах лимфоцитов и фиброидных клеток. При морфометрическом исследовании объем железы матки $4362 \pm 52,60$ мкм.

Легкие, без видимых изменений, отмечается альвеолярная эмфизема, вокруг бронхов очаговое скопление лимфоидных клеток и слизистое содержимое в альвеолах, в стенках альвеол видно разрастание соединительной ткани. При морфометрическом исследовании площадь альвеол составляет $1124 \pm 11,24$ мкм.

Третью группу крупного рогатого скота прививали вакциной *Bg.abortus* шт.82 в дозе 10 миллиардов микробных клеток.

Матка при морфологическом исследовании без видимых изменений, отмечено разрастание соединительной ткани, скопление лимфоидных и эпителиальных клеток, кровоизлияния между желез, в мышечных тканях, вокруг сосудов и желез разрастания соединительной ткани. При морфометрическом исследовании объём желез матки был равен $5258 \pm 43,65$.

В легких, отмечалось альвеолярная эмфизема, местами стенки альвеол утолщены, в просвете альвеол видно экссудативное содержимое, в бронхах и местами в альвеолах имелись лимфоидные клетки, сосуды наполнены, было

видно разрастание соединительной ткани в стенках альвеол вокруг сосудов и бронхов. При морфометрическом исследовании в легких объем альвеол $115 \pm 6,94$.

Почки - макроскопически без видимых изменений, при гистологическом исследовании скопление лимфоидных клеток в прямых и извитых канальцев, некроз извитых канальцев. При морфометрическом исследовании объем ядра $50 \pm 6,94$, площадь клубочков составлял $1762 \pm 17,9$.

В четвертой группе животных крупного рогатого скота, привитых вакциной НАК-1 в дозе 1,2 мг. матка - макроскопически без изменений. При гистологическом исследовании было видно кровоизлияние между железами и разрастание соединительной ткани, скопление лимфоидных клеток • вокруг желез, сосуды переполнены кровью, между ними встречается лимфоидные фибробласты, разрастание соединительной ткани между железами и вокруг сосудов. При морфометрическом исследовании в матке объем желез матки $536 \pm 4,43$.

Легкое макроскопически без видимых изменений, при гистологическом исследовании вокруг бронхов скопление лимфоидных клеток и стенках альвеол, разрастание соединительной ткани, альвеолярная эмфизема. При морфометрическом исследовании объем альвеол $612 \pm 11,3$. Почки при гистологическом исследовании макроскопически без видимых изменений.

Пятая контрольная группа, составляли невакцинированные животные.

В почках при макрометрическом исследовании никаких изменений не обнаружено, при разрезе видна корковая и мозговая граница, капсула снимается легко. В гистологическом исследовании просветы канальцев больше клубочка, капсула облегает между просветов канальцев содержимое, скопление лимфоидных клеток около клубочков. При морфометрическом исследовании объем клубочка $644 \pm 4,2$, объем ядер $509 \pm 1,2$.

Легкие при макроскопическом исследовании никаких изменений не обнаружено, однако наблюдалось скопление лимфоидных клеток около бронхов. При морфометрическом исследовании площадь альвеол $688 \pm 1,15$.

В матке, никаких изменений не обнаружено. При гистологическом исследовании, отмечалось разрастание соединительной ткани в эндометрии и внутреннем слое миометрии вокруг сосудов, эндометрии сосуды сужены, маточные железы в состоянии диэструма. При морфометрическом исследовании объём маточной железы составил $437 \pm 5,1$.

В 1-й группе пяти голов, оленей привитых химической вакциной НАК-1 в дозе 2,0 мл подкожно, почки - у бура в возрасте 2 лет №2707 установлена атрофия левой почки, правая в норме, у остальных оленей без видимых изменений, капсулы почки снимаются легко. При гистологическом исследовании обнаружена зернистая дистрофия прямых извитых канальцев, в просвете почечного тельца экссудативное содержимое, в некоторых из них между клубочком и капсулой нет просвета, отмечаются кровоизлияния между извитыми и прямыми канальцами и скоплением лимфоидных клеток. При морфометрическом исследовании почки тельца она составляла $706 \pm 6,2$.

Печень - при осмотре без видимых изменений, при гистологическом исследовании отмечается скривление печеночных балок, сосуды переполнены кровью, видно скопление лимфоидных клеток, жировая дистрофия, разрастания эпителиоидных клеток, кровоизлияния в дольках печени, неровное расположение печеночных балок, при морфометрическом исследовании размер печени в среднем $272 \pm 1,59$.

В селезенке отмечалось большое количество лимфоидных клеток, сосуды полнокровны, наблюдается жировая дистрофия, разрастание соединительной ткани. При морфометрическом исследовании фолликул селезенки в среднем составляет $1878 \pm 31,27$ мкм.

Во 11-й группе оленей, вакцинированных химической вакциной НАК-1 в дозе 1,0 мл. подкожным методом. В почке, при макроскопическом исследовании, никаких изменений не обнаружено. При гистологическом

исследовании в пространстве между клубочком и оболочкой есть содержимое извитых канальцев, жировая дистрофия, некроз прямых и извитых канальцев. При морфометрическом исследовании - площадь клубочков $709 \pm 6,22$, объем ядра $165 \pm 1,86$.

В печени при макроскопическом исследовании, изменений нет; при гистологическом исследовании печеночные балки неравномерно расположены, центральные вены наполнены эритроцитами, отмечается зернистая дистрофия, видны кровоизлияния в дольках печени. При морфометрическом исследовании площадь дольки $152 \pm 3,12$.

Легкое - при макроскопическом исследовании без видимых изменений. При гистологическом исследовании альвеолярное эмфизема, местами уплотнение стенок альвеол, сосуды наполнены кровью. При морфометрическом исследовании объем альвеол $888 \pm 1,65$.

Селезенка у большинства оленей плотной консистенции, светло-красного цвета, при макроскопическом исследовании изменений нет, на разрезе нередко видны единичные или множественные узелки серо-белого цвета, при гистологическом исследовании обнаружены скопления лимфоидных клеток, дистрофия, кровоизлияние, местами некротизированные участки, разрастание соединительной ткани, образующей капсулу. При морфометрическом исследовании площадь фолликул 189 ± 315 .

В III группе оленей, вакцинированных штаммом химической вакциной НАК-1 в дозе 0,5 мг, легкие при вскрытии без особых изменений. При гистологическом исследовании местами наблюдалось утолщение альвеолярных стенок за счет скопления лимфоидных и гистиоцитарных клеток, разрастание соединительной ткани вокруг бронхов и сосудов, альвеолярная эмфизема. При морфометрическом исследовании площадь альвеол $163 \pm 2,70$.

Печень, в макроскопическом исследовании без изменений, темно-вишневого цвета. При гистологическом исследовании в центральной вене и междольковой артерии наполнены кровью, вокруг сосудов разрастание соединительной ткани и междольковые соединительной ткани. Клетки печени

были в состоянии дистрофии. При морфометрическом исследовании площадь дольки $272 \pm 3,04$.

Почки макроскопически без изменений, капсула снимается легко, при разрезе видна граница коркового и мозгового слоев.

При гистологическом исследовании почек разрастание соединительной ткани вокруг оболочки тельца, между прямыми и извитыми канальцами, между клубочком и оболочкой эксудативное содержимое, некоторые клубочки не имеют просвета, уплотнены, присутствует жировая дистрофия.

При морфометрическом исследовании почки, площадь клубочка $343 \pm 2,07$, объём ядра $243 \pm 1,53$.

Селезенка, в макроскопическом исследовании без изменений, темно-вишневого цвета, при разрезе сухая с наличием нередко единичных узелков серо-белого цвета.

При гистологическом исследовании, разрастание соединительной ткани, образующий капсулу, местами скопления лимфоидных клеток красном пульпе. В некоторых фолликулах в центре разрежение клеток.

IV группа оленей контрольная, невакцинированная. При вскрытии внутренние органы без изменений.

Легкие при осмотре без особых изменений. При гистологическом исследовании изменения оленей, вакцинированных химической вакциной НАК-1, были сходны. Местами наблюдалось утолщение альвеолярных стенок за счет скопления лимфоидных клеток, а также наличие нейтрофильных лейкоцитов. Вокруг сосудов разрастание соединительной ткани, у некоторых оленей наблюдалось эксудативные воспаления, альвеолы были наполнены эксудатом.

При морфометрическом исследовании площадь альвеол составляла $767 \pm 1,23$.

Печень при вскрытии без особых изменений, при разрезе края сходятся. При гистологическом исследовании, дольки, печеночные балки и центральная вена видны, в междольковой ткани и вокруг артерии разрастания соединительной ткани.

При морфометрическом исследовании площадь дольки составляла $265 \pm 3,12$, объем ядра составляет $745 \pm 1,42$ мкм.

Почка при макроскопическом исследовании без изменений, капсула снимается легко, при разрезе видна граница коркового и мозгового слоя.

При гистологическом исследовании скопление лимфоидных клеток в извитых канальцах, у некоторых оленей контрольной группы почечные тельца плотнее нет просвета, кровеносные сосуды в норме. При морфометрическом исследовании площадь тельца составляла $366 \pm 2,41$.

Селезенка при вскрытии без изменений, в макроскопическом исследовании консистенция плотная, цвет светло-красный, края заостренные. При гистологическом исследовании в красной пульпе местами скопления лимфоидных клеток, фолликулы хорошо видны, трабекулы, кровеносные сосуды в норме.

При морфометрическом исследовании площадь фолликулы составляет $365 \pm 2,41$.

3.ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Общеизвестно, что у животных иммунизированных живыми вакцинами в короткие сроки развивается благоприятно протекающий доброкачественный генерализованный процесс без резких дегенеративных изменений в органах и тканях, и поэтому после завершения процесса, патологические изменения не регистрируются.

Генерализованный процесс сопровождается выраженным заселением вакцинного штамма и явлениями гиперплазии ретикуло-эндотелиальных элементов и соответствует нестерильной фазе иммунитета. Угасание процесса соответствует стерильной фазе иммунитета и характеризуется стерилизацией организма от бруцелл и переходом нестерильного иммунитета в стерильный.

В этом заключается принципиальное отличие вакцинного процесса от инфекционного, который характеризуется долговременностью и злокачественностью.

Как показали патоморфологические исследования у животных развиваются доброкачественные изменения в органах и тканях в виде умеренно-выраженной пролиферации клеток ретикулоэндотелия, образуются множественные гранулемы.

При этом, происходит увеличение числа плазматических клеток в мягкотных тязжах и синусах, с наличием в последних, гигантских клеток типа Пирогова-Лангганса.

Одновременно наблюдается увеличение содержания цитоплазматической РНК в клетках.

Эти процессы постепенно затухают и к 5-6 месяцам после иммунизации приходят в норму.

У северных оленей, иммунизированных вакциной из штамма 19 дозой 400 млрд. микробных клеток, эти изменения носили более глубокий и интенсивный характер (А.В.Лысков, 1982).

Результаты наших исследований подтвердили положение о том, что эта вакцина не является совершенным средством профилактики и потому необходимы усилия для поиска и конструирования более иммуногенных вакцин.

Таким образом, проблема специфической профилактики бруцеллеза северных оленей, несмотря на имеющийся значительный научный материал, до настоящего времени остается практически нерешенной.

Уровень ее разработки не позволяет формировать эффективный комплекс противобруцеллезных мероприятий, пригодный для широкого практического применения.

Это, в большей степени, связано с тем, что подавляющее большинство НИР не выходило за рамки эксперимента и не сопровождалось широкой апробацией полученных результатов.

Без высокоэффективных средств иммунопрофилактики и четкой схемы их использования, успешная борьба с бруцеллезом северных оленей невозможна.

Учитывая изложенное выше, нами была проведена работа по испытанию на северных оленях новых средств и методов иммунизации, в частности химической вакцины НАК-1.

При этом были изучены морфологические изменения в организме северных оленей после введения различных доз химической противобруцеллезной вакцины, а также дана сравнительная характеристика патоморфологии бруцеллеза северных оленей при вакцинальном процессе.

Данная вакцина была привита в трех дозах 2,0; 1,0 и 0,5 мл. Четвертую группу составляли контрольные животные.

В группах было по 5 животных, всего 20 голов. В результате изучения патоморфологической реакции организма северных оленей на введение химической вакцины НАК-1 в дозах 2,0; 1,0 и 0,5 мг. было установлено, что при макроскопическом исследовании в почках, печени и легких не было отмечено, кроме дозы 2,0 мг.

В этой группе у одного бура в возрасте 2-х лет, инвент.№ 2707 установлена атрофия правой почки, а остальные паренхиматозные органы находились в норме.

При гистологическом исследовании почек независимо от дозы у всех привитых оленей наблюдалось разрастание соединительной ткани вокруг оболочки тельца, у оленей I группы зернистая дистрофия прямых извитых канальцев, между клубочком и оболочкой есть содержимое, некоторые клубочки не имеют просвета, уплотнены, присутствует жировая дистрофия.

В печени, при макроскопическом исследовании у всех опытных животных изменений не обнаружено; при гистологическом исследовании печеночные балки неравномерно расположены, сосуды переполнены эритроцитами, зернистая дистрофия, кровоизлияния в дольках печени.

Легкое - при макроскопическом исследовании без видимых изменений. При гистологическом исследовании местами наблюдалось утолщение альвеолярных стенок за счет скопления лимфоидных и гистиоцитарных клеток, разрастание соединительной ткани вокруг бронхов и сосудов, альвеолярная

эмфизема. При морфологическом исследовании площадь альвеол составлял ± 2703 - ± 3350 , в зависимости от дозы вводимого антигена.

Селезенка - у большинства оленей плотной консистенции, светло-красного цвета, при макроскопическом исследовании изменений нет, на разрезе нередко видны единичные трабекулы.

Таким образом, у животных иммунизированных водонерастворимой фракцией серий химически модифицированной вакцины НАК-1, в дозах 2,0; 1,0 и 0,5 мгр. развиваются доброкачественные изменения в паренхиматозных органах и тканях в виде умеренно выраженной пролиферации эндотелия кровеносных сосудов и синусов с десквамацией его в просвет синусов, повышением миотической активности светлых клеток в центрах лимфатических фолликулов, усилением макрофагальной и плазматических реакций, увеличением синтеза РНК, формированием в лимфатических узлах эпителиальных гранулем, подвергающихся инволюции в процессе иммуногенеза.

Результаты проведенных гистологических и гистохимических исследований показывают, что у северных оленей, привитых живой вакциной из штамма Br.abortus 82 и химической вакциной НАК-1, в паренхиматозных органах и лимфатических узлах развиваются морфологические изменения, характерные для иммунитета.

Степень выраженности этих доброкачественных изменений зависела от величины дозы вакцины, чем больше доза, тем интенсивнее были выражены морфологические изменения в паренхиматозных органах и лимфатических узлах. При этом, характерным является то, что все эти патоморфологические процессы протекали однотипно независимо от величины дозы вакцины.

В отличие от живых вакцин процесс иммуногенеза при прививке химической вакциной НАК не носит перехода нестерильного иммунитета в стерильный, и не наблюдается заселения вакцинного штамма, характерной для живой вакцины *Brucella abortus* 82.

Вакцина из штамма *Brucella abortus 82* является наиболее эффективным средством специфической профилактики бруцеллеза северных оленей, несмотря на ее некоторые недостатки.

С применением данной вакцины оздоровлены от бруцеллеза северных оленей поголовье оленеводческих хозяйств Жиганского, Томпонского и Булунского улусов.

Однако, следует иметь в виду, что это произошло при массовом сокращении общего числа домашних оленей в Республике Саха (Якутия).

В горно-таежной зоне Якутии наблюдается устойчивое равновесие экстенсивных показателей по бруцеллезу северных оленей.

При этом, напряженность эпизоотической ситуации в неблагополучных по бруцеллезу стадах северных оленей поддерживается главным образом, за счет пополнения маточного поголовья молодыми важеньками, а также нахождением в стадах больных быков-производителей, источников возбудителя инфекции.

В горно-таежной зоне дикие животные, в том числе и дикие северные олени в эпизоотический процесс не вовлекаются, чего нельзя сказать о тундровой и лесотундровых зонах.

Подтверждено, что телята 6-8-ми месячного возраста, как и молодняк крупного рогатого скота, проявляют повышенную устойчивость к заражению бруцеллезом, так как среди них не выделяются реагирующие или имеющие клинические признаки болезни.

При применении живых вакцин, в том числе и вакцины из штамма *Br.abotus 82* в дозе 50 млрд.м.к., эпизоотически более целесообразным является создание единого иммунного фона в целом по всему неблагополучному стаду оленей.

Только в этом случае могут быть созданы предпосылки к их оздоровлению в хозяйствах от бруцеллеза северных оленей ближайшие несколько лет.

4. ВЫВОДЫ

1. В горно-таежной зоне Якутии наблюдается устойчивое равновесие экстенсивных показателей по бруцеллезу северных оленей, дикие животные, в том числе и дикие северные олени в эпизоотический процесс не вовлекаются, чего нельзя сказать о тундровой и лесотундровых зонах

Напряженность эпизоотической ситуации в неблагополучных по бруцеллезу стадах северных оленей поддерживается главным образом, за счет пополнения маточного поголовья молодыми важенками, а также нахождением в стадах, больных бруцеллезом животных — быков-производителей, источников возбудителя инфекции.

2. Подтверждено, что телята 6-8-месячного возраста, как и молодняк крупного рогатого скота, проявляют повышенную устойчивость к заражению бруцеллезом, так как среди них не выделяются реагирующие или имеющие клинические признаки болезни.

3. Вакцина из штамма *Brucella abortus* 82 является наиболее эффективным средством специфической профилактики бруцеллеза северных оленей, несмотря на ее некоторые недостатки. С применением данной вакцины оздоровлены от бруцеллеза поголовье оленеводческих хозяйств Жиганского, Томпонского и Булунского улусов. Однако, следует иметь в виду, что это произошло при массовом сокращении общего числа домашних оленей в Республике Саха (Якутии).

4. При применении вакцины из штамма *Br. abortus* 82, эпизоотически более целесообразным является создание единого иммунного фона в целом по всему неблагополучному стаду оленей. По нашему мнению, только при этом могут быть созданы предпосылки к их оздоровлению в ближайшие несколько лет.

5. У животных иммунизированных водонерастворимой фракцией серий химически модифицированной вакцины НАК-1 в дозах 2,0; 1,0 и 0,5 мг. развиваются доброкачественные изменения в паренхиматозных органах и тканях в виде умеренно выраженной пролиферации эндотелия кровеносных

сосудов и синусов с десквамацией его в просвет синусов, повышением миотической активности светлых клеток в центрах лимфатических фолликулов, усилением макрофагальной и плазматических реакций, увеличением синтеза РНК, формированием в лимфатических узлах эпителиальных гранулем, подвергающихся инволюции в процессе иммуногенеза.

6. В отличие от живых вакцин процесс иммуногенеза, в этом случае не носит перехода нестерильного иммунитета в стерильный, и не наблюдается заселения вакцинного штамма, как случилось при введении вакцины из штамма Br.abotus 82. В то же время, доза 2,0 мг. вызывает более глубокие патоморфологические изменения в паренхиматозных органах и тканях.

7. Результаты проведенных гистологических и гистохимических исследований показывают, что у северных оленей, привитых живой вакциной из штамма Br.abortus 82 и химической вакциной НАК-1, в паренхиматозных органах и лимфатических узлах развиваются морфологические изменения, характерные для иммунитета.

Степень выраженности этих доброкачественных изменений зависела от величины дозы вакцины. Чем больше площадь среза, тем интенсивнее были выражены морфологические изменения в паренхиматозных органах и лимфатических узлах. При этом, характерным является то, что все эти иммуноморфологические процессы протекали однотипно независимо от величины дозы.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В результате проведенных научно-исследовательских работ подтверждено, что определяющим фактором развития воспалительных процессов в организме животных является вид и доза бруцелл.

Проведенные исследования позволяют выявить критерии специфичности изменений при диагностике бруцеллеза северных оленей. Данные морфогенеза инфекционного и вакцинального процессов позволяют определить критерий оценки новых противобруцеллезных препаратов.

Разработано и утверждено ученым советом ЯГСХА и Департаментом ветеринарии при МСХ Республики Саха (Якутия) методическое указание по патанатомии бруцеллеза северных оленей в Якутии.

Список опубликованных работ:

1. Патоморфологические изменения органов и тканей северных оленей привитых химической вакциной НАК-1 /Мельник Н.Г., Слепцов Е.С., Дьячковский Л.Т. Труды Международной научно-практической конференции посвященной 45-летию института, 24-26 сентября 2003 года. Часть 1. Покров - 2003 г. С.45-48.

2. Предварительные результаты изучения свойств вакцины из штамма Вг.abortus 75/79-А в организме северных оленей / Дьячковский Л.Т., Мельник Н.Г., Слепцов Е.С. Материалы международной научной конференции посвященной 175-летию аграрной науки Сибири, 24-26 июня 2003 года. Сборник научных трудов, Омск,2003 г .С 239-241.

3.Методические указания по патологической анатомии бруцеллёза северных оленей//Дьячковский Л.Т., Е.С.Слепцов. Якутск,2004.18 С.

№ 17684

РНБ Русский фонд

2005-4

14995

Подписано в печать 22.09.2004. Формат 60x 84/16.
Бумага тип. №2. Гарнитура «Таймс». Печать офсетная.
Печ. л. 1,75. Уч.-изд. л. 2,18. Тираж 100 экз. Заказ/161
Издательство ЯГУ, 677891, г. Якутск, ул. Белинского, 58.

Отпечатано в типографии издательства ЯГУ