

extraneous agents and comparison with in vivo testing. Paul-Ehrlich-Institut, Section 4/2, Viral Vaccines I, Germany, Biologicals, 2010 May; 38(3), p. 389-392.

5. Sumi, V. et al. *Isolation and molecular characterization of infectious bronchitis virus from recent outbreaks in broiler flocks reveals emergence of novel strain in India.* Avian Disease Section, Division of Pathology, Indian Veterinary Research Institute, India, 2012 May; [Epub ahead of print].

6. Yohannes, T. et al. *Immunopathological effects of experimental T-2 mycotoxocosis in broiler chicken co-infected with infectious bronchitis virus (IBV).* Mekelle University, 2012 May; 146(3-4), p. 245-253.

7. Yamada, Y. et al. *Acquisition of cell-cell fusion activity by amino acid substitutions in spike protein determines the infectivity of a coronavirus in cultured cells.* Institute of Molecular and Cell Biology, Proteos, Singapore, PLoS One, 2009 Jul; 4(7), p. 6130, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/PubMed_RV (accesat 29.06.2010).

Data prezentării articolului – 23.11.2012

CZU:619:616.98:578.834.11:636.52/.58.053

PARAMETRII CANTITATIVI AI COMPLEXELOR IMUNE SANGVINE LA PUII VACCINAȚI CONTRA BRONȘITEI INFECȚIOASE

NATALIA OSADCI

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Abstract: The article includes the serological investigation about maternal and post vaccination values of immune complexes against bronchitis diseases virus. For vaccination were used “H-120” strains and “Ma5+Clon30” strains, administrated by spray, aerosol and with drinking water methods separate and in combination with the hidroalcoholic solution of pollen. The values of immune complexes were established in reaction of precipitation. On result was established that the chickens which was vaccinated with vaccine strain “H-120” and “Ma5+Clon 30” separately had lower values of immune complexes comparative with values of immune complexes of chicken which was vaccinated with vaccine strain “H-120” and “Ma5+Clon30” in combination with the hidroalcoholic solution of pollen.

Key words: Chickens, Infectious bronchitis virus, Precipitation reaction, Serological investigation, Vaccine strains, Values of immune complexes.

INTRODUCERE

Compartimentele majore ale sistemului imun, care participă la protecția antimicrobiană, sunt reprezentate de imunitatea mediată prin anticorpi, imunitatea mediată celular, fagocitoza și complementul. Aceste compartimente pot acționa separat sau în cooperare cu unul sau mai multe dintre celelalte (H. Chen et al., 2010; Z. Han et al., 2011).

Deficiențele care apar la nivelul compartimentelor sistemului imun pot fi congenitale, consecutive unor anomalii embrionare, datorate unor deficite biochimice și metabolice, unor boli autoimune sau dobândite consecutiv acțiunii unor factori externi nocivi (infecții virale, infecții cronice, radioterapie, iatrogene etc. (R. Mânzat, 2005; H. Geerligts et al., 2011; W. Landman et al., 2012).

În decursul ultimilor ani, s-au înregistrat progrese remarcabile în diagnosticul diferitelor tulburări imunodeficitare, existând teste pentru identificarea fiecărui efector imun. Acestea oferă posibilitatea unui diagnostic corect în 75% din cazuri, rămânând ca formele complicate de imunodeficite să fie diagnosticate printr-un studiu complex. Stabilirea precisă a diagnosticului oferă totodată posibilitatea instituirii unei conduite terapeutice adecvate. Deseori și extractele vegetale sunt utile în acest scop (S. Ghergariu et al., 2000; N. Zou, 2010).

MATERIAL ȘI METODĂ

Investigațiile au fost efectuate în scopul de a stabili eficiența unor vaccinuri și metode de administrare utilizate în profilaxia bronșitei infecțioase aviare.

Acest studiu a fost efectuat în condiții experimentale pe 8 grupe de pui rasa “Hi Land” a câte 20 de

pui în fiecare grupă. Au fost formate 7 grupe de pui experimentale și o grupă lot martor. S-au folosit vaccinurile din tulpina H-120, Ma 5 + Clon 30 și La Sota. La unele grupe vaccinul a fost administrat o singură dată la vârsta de o zi, iar la alte grupe - de 2 ori, la vârsta de o zi și 28 de zile, iar unele grupe de pui au fost vaccinate în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen în diferite doze (tab. 1).

Până la vaccinare și la vârsta puilor de 10, 20, 35, 45 și 60 de zile din fiecare grupă au fost sacrificați câte 3 pui, de la care s-au recoltat probe de ser sangvin pentru determinarea complexelor imune circulatorii (fig. 1).

Cercetările s-au efectuat la catedra Epizootologie, facultatea de Medicină Veterinară, UASM, iar probele de ser, au fost examinate la catedra Boli infecțioase, facultatea de Medicină Veterinară, USAMV din Cluj-Napoca, România.

Tabelul 1

Schema de vaccinare a puilor contra bronșitei infecțioase aviare

Nr. grupe	Tulpina vaccinată administrată	Nr. de pui	Vârsta puilor la momentul vaccinării (zile)	
			I	II
1	Lot martor	20	-	-
2	H-120	20	1	28
3	H-120	20	1	19
4	Ma5+Clon30	20	1	-
5	H-120	20	1	28
6	Ma5+Clon30 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (5 ml)	20	1	-
7	H-120 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (10 ml)	20	1	-
8	H-120 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (15 ml)	20	1	-

Soluția hidroalcoolică de polen de 20% a fost pregătită pe bază de alcool timp de 3 zile în laboratorul de Boli infecțioase, catedra Epizootologie, FMV, UASM. Pe parcursul acestui timp soluția hidroalcoolică de polen a fost păstrată în frigider (+4°C) și periodic a fost supusă procesului de agitare. Soluția hidroalcoolică de polen a fost administrată timp de 10 zile cu apa de băut la 3 grupe experimentale în diferite doze – grupa a VI- a doza de 5 ml/l, grupa a VII-a doza de 10 ml/l și grupa a VIII-a doza de 15 ml/l.

Complexele imune circulante au fost determinate cu ajutorul testului de precipitare.

Complexele imune circulante (CIC) sunt agregate de dimensiuni mari care pot fi precipitate cu diferiți compuși chimici, utilizându-se în acest scop, în mod particular, polimerii cu greutate moleculară ridicată, cum este polietilenglicolul (PEG), chiar la concentrații mici ale complexelor. Pe această însușire se bazează metoda Haskova de determinare a complexelor imune circulante din ser, lactoser sau plasmă (Ghegariu și col., 2000). Tehnica utilizată pentru cuantificarea complexelor imune circulante (CIC) a fost metoda de precipitare cu reactivul PEG 4,2%, dizolvat în tampon borat, pH = 8,4 (fig. 2).

Soluția de tampon borat a fost preparată utilizând: 6,18 g acid boric, 9,53 g tetraborat disodic și 4,38 g clorură de sodiu pentru 1000 ml apă distilată. Acest tampon are pH-ul de 8,4 și se poate păstra mai multe săptămâni la +4°C.

Ca și în cazul testului de precipitare cu reactiv Serb (sulfat de zinc), utilizat pentru determinarea concentrației globulinelor totale, în scopul dozării complexelor imune circulante s-a recurs la o micrometodă de precipitare.

Pentru aceasta, s-au pus în contact probele de lactoser, în cantitate de 6,6 μl cu câte 193,4 μl de tampon borat, respectiv soluție de polietilenglicol alternativ (ex: proba 1 + tampon, proba 1 + soluție PEG, proba 2 + tampon, proba 2 + soluție PEG etc.), direct în godeurile plăcii cu 96 godeuri cu fundul plat. După o incubare de 60 minute la temperatura laboratorului, placa s-a supus unei agitări ușoare pe agitatorul electric și apoi s-a introdus în spectrofotometru, citindu-se densitățile optice pentru fiecare variantă. Citirea s-a făcut spectrofotometric, față de soluția tampon la o lungime de undă de 450nm în placa de 96 godeuri.



Fig. 1. Efectuarea reacției de precipitare



Fig. 2. Placă de reacție pentru citirea complexelor imune

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele obținute sînt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2

Determinarea complexelor imune circulante în serul cercetat

Tulpina vaccinală	Valoarea complexelor imune circulante (zile/unități)					
	1	10	20	35	45	60
1. Lot martor	70,0 -59,0 19,0	71,0 562 462	1 74 -53	69,92 25 -80	-354 117 17	124 -14 -899
2. H-120	- - -	-64 148 277	21 27 32	-68 9 230	14 38 -91	-239 -347 7
3. H-120	- - -	-96 -344 -68	86 53 -48	34 -217 23	54 105 -41	129 -653 -6
4. Ma5+Clon30	- - -	3 18 92	48 19 57	41 -70 -29	101 -27 7	92 4 -29
5. H-120	- - -	48 86 -12	-88 -45 122	147 -9 -24	4 46 70	-14 18 237
6. Ma5+Clon30 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (5 ml)	- - -	232 -81 -315	-34 7 -14	-29 -72 31	39 33 52	206 103 55
7. H-120 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (10 ml)	- - -	112 256 -63	147 -9 -164	-15 -58 -58	-6 -58 -48	23 50 24
8. H-120 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (15 ml)	- - -	-143 -125 -107	-12 -209 293	16 -49 -83	13 25 -25	36 111 146

În grupa puilor lot martor concentrația CIC în serul sangvin pînă la vaccinare a constituit de la 1:-59 pînă la 1:70. La a 10-a zi concentrația CIC a constituit de la 1:71 pînă la 1:562, micșorîndu-se pînă la 1:74 la a 20-a zi, variind apoi între limite pozitive și negative, cu reducerea ulterioară a concentrației CIC pînă la 1:-899 la a 60-a zi de viață.

La puii din a II-a grupă, care au fost vaccinați cu tulpina „H-120”, de 2 ori, metoda de administrare – cu apa de băut, concentrația CIC a constituit de la 1:-64 pînă la 1:277 la a 10-a zi, micșorîndu-se de la 1:21 pînă la 1:32 la a 20-a zi, după care au urmat creșteri și descreșteri cu reducerea ulterioară a concentrației CIC de la 1:-347 pînă la 1:7.

La puii din a III-a grupă, care au fost vaccinați cu tulpina „H-120” (bronșita infecțioasă aviară) la vîrsta de o zi și cu tulpina La Sota (pseudopesta aviară) la vîrsta de 19 zile, metoda de administrare spray, concentrația CIC a constituit de la 1:-96 pînă la 1:-344 la a 10-a zi, de la 1:86 pînă la 1:53 la a 20-a zi, micșorîndu-se pînă la 1:23, 1:-217 la a 35-a zi și ulterior reducerea pînă la 1:-653, 1:-6 la a 60-a zi de viață.

În grupa a IV-a unde puii au fost vaccinați la vîrsta de o zi cu tulpina intermediară Ma5+Clon30 (bronșita infecțioasă + pseudopesta aviară) prin metoda spray, concentrația CIC a constituit între limitele de la 1:3 pînă la 1:92 la a 10-a zi, de la 1:19 pînă la 1:57 la a 20-a zi, de la 1:-70 pînă la 1:41 la a 35-a zi ajungînd să fie între limitele 1:-29 și 1:92 la a 60-a zi. Concentrația CIC a serului la puii din grupa respectivă cuprinde aproximativ aceleași valori, cu mici devieri spre pozitiv sau spre negativ, pe tot parcursul experienței.

În grupa a V-a unde puii au fost vaccinați cu tulpina „H-120”, de 2 ori, la vîrsta de o zi prin metoda aerosol și la vîrsta de 28 de zile prin metoda spray concentrația CIC constituia valorile între limitele 1: 48 și 1:86 la vîrsta de 10 zile și 1: -88, 1:122 la vîrsta de 20 de zile, apoi observăm o reducere a concentrației CIC spre valori negative la a 35-a zi după care o majorare cu valori pozitive între limitele 1:4 și 1:70 la a 45-a zi. Mai apoi la vîrsta de 60 de zile avem valori pozitive peste limită - 1:237 și valori negative 1:-14.

La puii din grupa a VI-a care au fost vaccinați cu tulpina „Ma5+Clon30”, la vîrsta de o zi prin metoda spray, în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20%, doza minimă 5ml/l, concentrația CIC constituia valori cu limitele 1:232 și respectiv 1:-315 la a 10-a zi. La vîrsta de 20 și 35 de zile concentrația CIC constituia valori micșorate atît pozitive, cît și negative și la vîrsta de 45 de zile se observă o creștere a concentrației CIC cu limitele de la 1:33 pînă la 1:52, majorîndu-se considerabil între limitele 1:103 și 1:206 la a 60-a zi.

La puii din grupa a VII-a care au fost vaccinați cu tulpina „H-120”, la vîrsta de o zi prin metoda spray, în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20%, doza medie 10 ml/l, concentrația CIC constituia valori cu limitele între 1: -63 și 1:256 la vîrsta de 10 zile. La investigațiile ulterioare se observă o micșorare a concentrației CIC pînă la valori negative, ulterior are loc o creștere spre valori care se mențin sub limita 100 U, 1:23, 1:50, la vîrsta de 60 de zile.

În grupa a VIII-a, unde puii au fost vaccinați cu tulpina „H-120” în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20%, doza maximă 15 ml/l, concentrația CIC a constituit valori negative cu limitele între 1:-107 și 1:-143 la a 10-a zi cu reducerea ulterioară pînă la 1: -209 la a 20-a zi, după care are loc o majorare la vîrsta de 35 și 45 de zile. La vîrsta de 60 de zile concentrația CIC constituia de la 1: 111 pînă la 1:146.

Calcularea concentrațiilor CIC a fost realizată prin diferență între proba tratată cu PEG și cea tratată cu tampon borat.

(U) CIC = extincția probei - extincția martorului

Exprimarea rezultatelor s-a făcut în unități, prin multiplicarea valorilor citite la aparat, conform relației:

(U) CIC = densitatea optică la 450nm x 1000

Pentru interpretare sunt considerate pozitive valorile care depășesc 100 U, respectiv negative cele aflate sub această limită.

CONCLUZII

1. La examinarea serului sanguin a puilor (vîrsta de 10 zile) valorile complexelor imune circulante au fost relativ reduse, o parte din ele și negative, variind între limitele 1:-12 și 1:562.

2. În cazul administrării vaccinului Ma5+Clon30 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (5 ml/l), complexe imune circulante, la vîrsta de 60 de zile, prezintă valori pozitive care depășesc 100 U, variind între limitele 1:103 -1:206, iar în cazul administrării vaccinului H-120 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (10 ml/l), valorile complexelor imune circulante sunt negative, sub limita de 100 U, cu variația 1:23-1:50.

3. Vaccinarea puilor contra bronșitei infecțioase se recomandă de efectuat cu vaccinul Ma5+Clon30 în combinație cu soluția hidroalcoolică de polen de 20% (5 ml/l).

BIBLIOGRAFIE

1. Chen, H. W., Huang, Y. P., Wang, C. H. *Identification of intertypic recombinant infectious bronchitis viruses from slaughtered chickens*. School of Veterinary Medicine, National Taiwan University, 2010, 89(3), p. 439-446.
2. Ghergariu, S., Pop, Al., Spînu, M. et al. *Manual de laborator clinic veterinar*. Ed. All Education, București, 2000, p. 424.
3. Geerligts, H. J. et al. *Efficacy and safety of an attenuated QX-like infectious bronchitis virus strain as a vaccine for chickens*. Avian Pathology, 2011, 40(1), p. 93-102, pubget.com.
4. Han, Z. et al. *A 15-year analysis of molecular epidemiology of avian infectious bronchitis coronavirus in China*. Division of Avian infectious Diseases, The Chinese Academy of Agricultural Sciences, People's Republic of China, 2011 Jan, 11(1), p. 190-200.
5. Landman, W. J., Matthijs, M. G., van Eck, J. H. *Effect of anti-inflammatory drugs on colibacillosis lesions in broilers after infectious bronchitis virus and subsequent Escherichia coli infection*. Vet Q. 2012 Mar; 31(1), p. 25-29.
6. Mînzat, R. M. *Boli virotice și prionice ale animalelor*. Timișoara: Brumar, 2005, p. 729, ISBN 973-602-085-1.
7. Zou, N. L. et al. *Genetic analysis revealed LX4 genotype strains of avian infectious bronchitis virus became predominant in recent years in Sichuan area, China*. Key Laboratory of Animal Diseases and Human Health of Sichuan Province, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, China, 2010, 41(2), p. 202-209.

Data prezentării articolului – 23.11.2012

CZU: 636.7:611.69.08

ASPECTELE STRUCTURALE MACRO-MICROSCOPICE ALE GLANDEI MAMARE LA FEMELELE CANIS LUPUS FAMILIARIS

S. DIDORUC

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Abstract. This work includes the macro-microscopic study of the multiple mammary gland in the bitch in different periods of the ontogenic development and functional state of animals. We have studied the symmetry and uniformity of mammary gland development from every region by taking into consideration basic characteristics of mammary glands under the comparative approach. We have also made a morphological analysis of the microscopic study at the level of mammary glands in different periods of animal development.

Keywords: Alveolar lobules, Capsule conjunctival, Increases mammary, Mammary buds, Mammary glands, Papilla mammary, Trabeculi conjunctivae.

INTRODUCERE

Glanda mamară la cățea reprezintă un organ policonstituitiv, organospecific, complex de origine ectodermică, aflat în strânsă legătură neuro-hormonală cu aparatul genital feminin, care are un rol deosebit în dezvoltarea cățelilor și secretă laptele – produs biologic activ (V. Enciu, Șt. Țurcanu, 2011).

Procesul de dezvoltare a glandei mamare începe în primele perioade ale embriogenezei prin apariția îngroșărilor ectodermice pare, numite creste mamare, situate paralel una de alta pe părțile ventrale ale regiunilor pieptului și abdomenului, de la membrele anterioare spre posterioare. Ulterior, în procesul dezvoltării, din crestele mamare se dezvoltă 5-7 noduli care cresc și constituie punctul de plecare a dezvoltării viitoarelor glande mamare (V. Coțofan, V. Enciu, 2000; M. Popovici, A. Budanțev, 2002; A. Akaevskij i dr., 2005; Howard, E. Evans, Alexandr de Lahunda, 2010).