

УДК 619.615: 371/075.5/

ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У ПЕСЦОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА

**И. И. Окулова, И. А. Домский, Ю. А. Березина, З. Н. Бельтюкова,
М. А. Кошурникова**

*Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова, Киров, Россия*

Борьба с сальмонеллезом всегда была важной и актуальной задачей, а в последнее время сальмонеллезная инфекция среди сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей широко распространена и имеет тенденцию к дальнейшему росту. Помимо этого переболевшие сальмонеллезом звери в 85 % случаев остаются бактерионосителями. Вспышки сальмонеллеза у пушных зверей регистрируют с начала апреля до конца сентября, на некоторых фермах смертность животных достигает 30 %. Указанные обстоятельства обеспечивают длительное существование эпизоотического очага сальмонеллезной инфекции. В связи с этим большое значение имеют мероприятия, направленные на своевременную специфическую профилактику, снижение и ликвидацию потерь животных от сальмонеллеза. Используемые до последнего времени инактивированные вакцины против сальмонеллеза по результатам многолетнего их применения оказались недостаточно эффективными. При вакцинации происходят сложные структурные и функциональные изменения в органах иммунной системы животных. Многократное введение препарата согласно соответствующим наставлениям по применению делает процесс иммунизации длительным и трудоемким. В работе использованы песцы клеточного разведения, привитые инактивированной вакциной. Животных опытной группы вакцинировали ассоциированной инактивированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей, изготовленной ФГУП «Покровский завод биопрепаратов» и ООО «Агровет» (вакцина ОКЗ ТУ 9384-047-00008064-99). Песцы были привиты подкожно двукратно с интервалом 14 дней согласно наставлению по применению препарата. Животных контрольной группы не вакцинировали. После планового убоя песцов клеточного разведения из каждой группы брали по пять зверей на 7, 14, 21 и 28-й день после вакцинации. Для гистологического исследования брали следующие органы: подчелюстные лимфатические узлы, селезенку, которые фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Оценку клеточного иммунитета проводили с помощью реакций Е- и ЕАС-роsetкообразования, опсонофагоцитарной реакции, реакции агглютинации. При гистологическом исследовании селезенки песцов после вакцинации на срезе хорошо различимы красная и белая пульпа. При гистологическом изучении нижнечелюстных лимфатических узлов у песцов в корковом слое хорошо просматривались первичные и вторичные лимфоидные узелки. Мякотные шнуры за счет скопления лимфоцитов утолщены. В результате иммунизации песцов против сальмонеллеза инактивированной вакциной в периферических органах иммунитета происходит пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, характеризующаяся увеличением иммунобла-

стов и зрелых плазмочитов, характерных как для клеточного, так и для гуморального иммунного ответа.

Ключевые слова: инактивированная вакцина; ОФР; E- и EAC-розеткообразование; подчелюстные лимфатические узлы; селезенка; иммунобласты; проплазмочиты; плазмочиты.

I. I. Okulova, I. A. Domskey, Yu. A. Berezina, Z. N. Bel'tyukova, M. A. Koshurnikova. POST-VACCINATION IMMUNITY IN ARCTIC FOXES VACCINATED AGAINST SALMONELLA

Combating salmonellosis has always been an important task. This infection has been widespread among farm and fur animals, as well as poultry, and tends to be on a rise lately. Furthermore, 85 % of animals continue to carry the bacteria after recovery. Salmonellosis outbreaks are registered among fur animals from early April to late September. In some farms, mortality is up to 30 %. As a result, epizootic hotbeds of salmonella infection are persistent. It is therefore important to take timely and specific actions to prevent, reduce and eliminate animal losses to salmonellosis. The inactivated salmonellosis vaccines used until lately proved to be not very effective. Vaccination of animals induces complex structural and functional changes in the immune system organs. Repeated administration of the drug, as instructed, turns immunization into a lengthy and laborious process. This study was carried out with cage-reared Arctic foxes treated with inactivated vaccine. Animals in the experimental group were vaccinated with an associated inactivated vaccine against colibacillosis, salmonella, klebsiella and protozoa infections manufactured by the Pokrovsky Biologics Plant and LLC AgroVet (vaccine OKZ TU-9384-047-00008064-99). The animals were vaccinated subcutaneously twice with an interval of 14 days according to the instruction for the drug. Animals in the control group were not vaccinated. After the scheduled slaughter of cage-reared Arctic foxes, 5 animals from each group in their 7th, 14th, 21st, and 28th days after vaccination were taken. Their spleens and submandibular lymph nodes were extracted for histological examination and fixed in 10% aqueous solution of neutral formalin. Cellular immunity was assessed using opsonophagocytic assay (OPA), E- and EAC-rosette formation, and agglutination test. Morphological and morphometric measurements of the peripheral immune organs were taken. Spleen tissue sections from vaccinated Arctic foxes had red and white pulp clearly visible during histological examination. Histological examination of mandibular lymph nodes of the Arctic foxes revealed primary and secondary lymphoid nodules in the cortical layer. Medullary cords are thickened due to the accumulation of lymphocytes. Immunization of Arctic foxes with inactivated vaccine against salmonellosis results in the proliferation and differentiation of immunocompetent cells in peripheral immune organs, which involves an increase in the number of immunoblasts and mature plasmocytes. This change is characteristic of both cellular and humoral immune response.

Key words: inactivated vaccine; OPA; E- and EAC-rosette formation; submandibular lymph nodes; spleen; immunoblasts; proplasmocytes; plasmocytes.

Введение

В настоящее время в звероводческих хозяйствах ежегодно проводятся плановые профилактические мероприятия по формированию у животных специфического иммунитета к актуальным для данной местности инфекционным заболеваниям. При вакцинации животных в организме происходят сложные структурные и функциональные изменения в органах иммунной системы [Домский, Кульминский, 1997; Домский, 2002]. Используемые до последнего времени инактивированные вакцины против сальмонеллеза по результатам многолетнего их

применения оказались недостаточно эффективными [Макаров и др., 1994] из-за деградации антигенных свойств под влиянием физико-химических воздействий на микробную клетку в процессе инактивации, ограниченной циркуляции антигена в организме и, как следствие, слабого и недостаточного стимулирования иммунной системы в процессе иммуногенеза [Матвиенко, 1986]. Периферические органы обеспечивают процессы антигензависимой пролиферации и дифференцировки клеток, мигрирующих из центральных органов, где они ранее приобрели специфические рецепторы к данному антигену. Для обеспечения контакта с антигенами

эти органы расположены на пути их поступления через лимфу или кровь [Носсел, 1973; Бородин, 1987]. После иммунизации в организме происходит поэтапное включение всех фаз иммунного ответа. Возникает ряд иммунных процессов, начиная с опсоно-фагоцитарной реакции (ОФР), как показателя естественной резистентности, активации Т-, а затем и В-лимфоцитов и нарастания титра антител, с которыми связывают поствакцинальный иммунитет [Fioretti, 1961; Батуев, 1979; Першин, 1980].

Таким образом, оценка состояния органов иммунной системы после иммунизации заключается в выявлении специфических иммунных процессов, происходящих в организме животного после введения антигенов. При этом важно оценить качество вакцин и способов их применения с точки зрения иммунологической эффективности.

Основная цель исследования – морфологические особенности органов иммунной системы у песцов, вакцинированных против сальмонеллеза.

Материалы и методы

Исследование проведено в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ВНИИОЗ им проф. Б. М. Житкова, ООО Племзверохозяйство «Вятка». В работе использовали молодняк песцов (*Alopex lagopus*) в возрасте 60 дней. Было сформировано две группы: контрольная (n=100) и опытная (n=100).

Животных опытной группы вакцинировали ассоциированной инактивированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей клеточного содержания, изготовленной ФГУП «Покровский завод биопрепаратов» и ООО «Агровет» (вакцина ОКЗ ТУ-9384-047-00008064-99). Вакцину применяли на молодняке песцов согласно наставлению по применению. Песцы в возрасте шестидесяти дней были иммунизированы двукратно с интервалом 14 дней подкожно в дозе 0,3 мл. Как правило, болезненности, воспаления, повышения температуры на месте введения препарата не отмечалось. За привитыми животными наблюдали в течение месяца, за весь этот период у них не было отмечено отказа от корма, угнетения, заболевания и падежа.

Формирование поствакцинального иммунитета у песцов оценивали с помощью ряда методик.

Клеточный иммунитет. Оценку клеточного иммунитета проводили с помощью ОФР, реак-

ций Е- и ЕАС-роzetkoобразования [Bianco et al., 1970; Jondall et al., 1972].

Опсоно-фагоцитарная реакция. ОФР ставили по А. С. Лабинской [1978]. Параллельно проводили подсчет общего количества лейкоцитов и лимфоцитов. Оценка поствакцинального иммунитета при помощи реакций розеткообразования имеет большое научное и практическое значение. Эти реакции способны в достаточно короткие сроки и без больших затрат дать возможность представить картину формирования иммунитета и его напряженности у вакцинированных животных. При постановке ОФР использовали вирулентный полевой штамм *Sal. typhimurium*, что выгодно охарактеризовало специфичность и направленность выявленных изменений. Клеточная иммунная реакция представляет собой образование ретикулоэндотелиальной системой в ответ на введение антигена мелких долгоживущих лейкоцитов – сенсibilизированных лимфоцитов, которые принимают активное участие в нейтрализации болезнетворного антигена. Приобретение специфического активного иммунитета сопровождается повышением фагоцитарной активности лейкоцитов. Явление фагоцитоза филогенетически является одним из защитных механизмов животных и человека и характеризующим его иммунную реакцию. Реакцию ставили по общепринятой методике, для оценки реакции использовали числовой показатель Штритера, представляющий собой сумму произведений, полученных в результате перемножения количества лейкоцитов на число соответствующих их оценок фагоцитоза, характеризующих его интенсивность. Поэтому полученные результаты можно рассматривать как специфические показатели, характеризующие состояние вакцинированных зверей.

Реакция агглютинации (РА). Исследования гуморального иммунитета проводили с помощью РА к возбудителям сальмонеллеза [по: Антонов, Блинова, 1971]. В качестве антигена для постановки РА использовали живые гомологические штаммы сальмонелл, выращенные на мясо-пептонном агаре в течение 20 часов и смытые физраствором. Антитела играют основную роль в иммунитете потому, что являются молекулами-эффекторами гуморального иммунитета. Также они участвуют в распознавании чужеродных молекул, локализуясь на внешней стороне мембраны лимфоидных и фагоцитирующих клеток. Результаты РА представлены в виде среднегеометрических титров специфических антител по Лярски [Сюрин и др., 1984].

Морфологические методы исследования. После планового убоя песцов из каждой группы брали по пять животных на 7, 14, 21 и 28-й день после вакцинации. Для гистологического исследования брали следующие органы: подчелюстные лимфатические узлы, селезенку, которые фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Материал обрабатывали по общепринятым методикам [Меркулов, 1969]. Окрашивание проводили гематоксилином и эозином. Морфометрические показатели и фотографии были сделаны с использованием системы Vision Bio (Epi 2014 г.) с автоматической обработкой сигнала и выводением на дисплей. Для подсчета иммунокомпетентных клеток использовали сетку случайного шага с 110 равноудаленными точками (перекрестками линий), встроенную в окуляр-микрометр Л. Б. Левинсона, по Автандилову [1990]. Сетка накладывалась на срез органа при увеличении микроскопа МБИ-3У42 (окуляр WF-10x; объектив x4/0.10; x10/0.25). Срез органа при таком увеличении целиком находился в поле зрения и был целиком закрыт сеткой. При учете структурных компонентов подсчитывалось количество пересечений сетки, проходящихся на весь срез целиком и отдельно на каждый структурный компонент органа. Положение сетки на препарате произвольно менялось 5–10 раз с повторением подсчета.

Проведены иммуногистохимические исследования с использованием маркеров CD3 Polyclonal Rabbit Anti-Human Т-клеток [Руководство..., 2012]. Работа выполнена в Кировском НИИ гематологии и переливания крови. Наиболее специфичным и основным маркером Т-лимфоцитов является CD3. Зрелые Т-клетки покидают тимус через сосуды кортико-медуллярной зоны, поступают в кровоток, Т-лимфоциты становятся частью единого пула рециркулирующих Т-клеток. В периферических лимфоидных органах (лимфоузлы, селезенка, лимфатические фолликулы) Т-лимфоциты занимают преимущественно тимусзависимые зоны: паракортикальные зоны лимфатических узлов, периартериальные муфты селезенки и групповых лимфатических фолликулов. Эксперименты на животных проводили в соответствии с основами опытного дела в животноводстве [Овсянников, 1976]. Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС), Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [1977]. Полученные цифровые материалы об-

работаны с использованием пакета статистических программ Statgraphics и HG.

Результаты и обсуждение

Показатели титра специфических антител-агглютининов в сыворотке крови вакцинированных животных также дали возможность оценить активность иммунного ответа. Антитела играют основную роль в иммунитете потому, что являются молекулами-эффекторами гуморального иммунитета. Свою защитную функцию иммуноглобулины зачастую осуществляют в синергизме с комплементом и лизоцимом. Антитела синтезируются в организме в ответ на внедрение инфекционного возбудителя или антигенного раздражения.

Серологические и иммунологические показатели. Во все сроки исследований у вакцинированных песцов отмечалось увеличение специфических антител-агглютининов в сыворотке крови. Максимальное значение титра специфических антител в сыворотке крови у песцов наблюдали через 14 дней после иммунизации, что в 4 раза выше (105,7), чем в контроле (11,89) (табл. 1). Через 28 дней после иммунизации песцов активность антителообразования снижается, оставаясь в 3,4 раза выше показателей контрольной группы. По данным Международного эпизоотического бюро, реакция агглютинации является методом оценки поствакцинального сальмонеллезного иммунитета и должным образом характеризует его напряженность.

Показатель Штритера в опсоно-фагоцитарной реакции (активность нейтрофилов) на 14-й день после вакцинации достиг максимальных значений по сравнению с контролем ($16,8 \pm 7,56$) и составил $39,2 \pm 3,23$ ($p < 0,001$). К 28-му дню после иммунизации животных активность фагоцитоза снижается до уровня физиологической нормы, соответствующей уровню показателей у контрольных песцов (табл. 1).

Из данных табл. 1 видно, что показатели ОФР незначительно повышаются к 7-му дню, достигая максимальных значений к 14-му дню после вакцинации, затем происходит снижение значений. Иммунизация песцов инактивированной вакциной против сальмонеллеза вызывает в организме животного ответные иммунобиологические перестройки.

После применения инактивированной вакцины для профилактики сальмонеллеза у песцов наблюдается выраженный лейкоцитоз и лимфоцитоз (табл. 2). Повышение общего количества лейкоцитов у вакцинированных зверей особенно выражено на 7–14-й дни после вакцинации ($p < 0,05$). Достоверное ($p < 0,001$)

Таблица 1. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в ОФР и показатели титра антител в РА у песцов, вакцинированных против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 1. Indicators of phagocytic activity of neutrophils b OFR and antibody titer b RA in Arctic foxes vaccinated against salmonellosis with inactivated vaccines

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment: Титр антител в РА Antibody titer in RA	76,5	349,26	299,23	117,5
Показатель Штритера в ОФР Schtroeter Index in OFR	23,0 ± 3,44	30,2 ± 3,23	26,6 ± 4,75	24,4 ± 3,45*
Контрольная группа / Control group: Титр антител в РА Antibody titer in RA	10	20	20	10
Показатель Штритера в ОФР Schtroeter Index in OFR	22,0 ± 4,53	16,8 ± 7,56	16,0 ± 4,16	12,8 ± 1,64

Примечание. *P < 0,001 по сравнению с контролем.

Note. *P < 0.001 compared to control.

Таблица 2. Изменение показателей лейкоцитарных клеток у песцов в норме и после иммунизации инактивированной вакциной против сальмонеллеза

Table 2. Changes in leukocyte cell counts in Arctic foxes in normal condition and after immunization with inactivated salmonellosis vaccine

Группы животных (n=5) Group of animals (n=5)	Показатели Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
		7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт, вакцинированные Experiment, vaccinated	Лейкоциты (тыс./мкл) White blood cells (ths/μl)	10,14 ± 1,02*	9,46 ± 0,61*	6,66 ± 0,36	7,78 ± 0,37**
	Лимфоциты Lymphocytes (%)	70,2 ± 3,72*	75,4 ± 2,87**	62,4 ± 5,93	72,0 ± 2,25**
	(10 ⁹ /л)	7,11 ± 0,472**	7,08 ± 0,35**8	4,15 ± 0,26*	5,95 ± 0,42**
	Е-РОК (Т-лимф-ты / Т-Lymph) (%)	56,4 ± 1,86*	53,6 ± 2,11**	53,4 ± 1,12*	50,4 ± 3,6
	(10 ⁹ /л)	4,01 ± 0,346**	3,77 ± 0,16***	2,21 ± 0,22	2,99 ± 0,29**
Контроль, невакцинированные Control, unvaccinated	ЕАС-РОК (В-лимф-ты / В-Lymph) (%)	32,2 ± 3,12*	36,4 ± 0,81***	35,8 ± 1,15***	30,6 ± 1,36**
	(10 ⁹ /л)	2,28 ± 0,236**	2,57 ± 0,18***	1,48 ± 0,14*	1,83 ± 0,17***
	Лейкоциты (тыс./мкл) White blood cells (ths/μl)	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17	7,4 ± 0,17
	Лимфоциты Lymphocytes (%)	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85	61,0 ± 0,85
	(10 ⁹ /л)	4,48 ± 0,169	4,75 ± 0,12	4,72 ± 0,04	4,1 ± 0,16
Е-РОК (Т-лимф-ты / Т-Lymph) (%)	48,83 ± 1,22	49,8 ± 0,79	49,3 ± 1,14	50,1 ± 0,83	
	(10 ⁹ /л)	2,19 ± 0,113	2,36 ± 0,07	2,32 ± 0,06	2,05 ± 0,07
	ЕАС-РОК (В-лимф-ты / В-Lymph) (%)	21,5 ± 1,08	22,1 ± 1,22	22,6 ± 0,95	23,5 ± 1,25
(10 ⁹ /л)	0,95 ± 0,041	1,05 ± 0,06	1,06 ± 0,04	0,95 ± 0,06	

Примечание. Здесь и далее различия с контрольной группой достоверны: *p < 0,05; **p < 0,01; *** p < 0,001.

Note. Hereinafter the differences with control group are significant at: *p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0,001.

увеличение количества лимфоцитов происходит к 7-му дню исследований, максимальных значений они достигают к 14-му дню. Затем к 28-му дню происходит достоверное (p < 0,01) снижение их количества у всех вакцинированных животных. В последующие сроки наблю-

дений показатели выравниваются с показателями в контрольной группе, которые характеризуют физиологическую норму. Через 7 дней после иммунизации песцов инактивированной вакциной против сальмонеллеза наблюдается достоверное (p < 0,05) увеличение количест-

ва Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой, достигая при этом максимальных значений. Количество Т-лимфоцитов увеличивается к 7-му дню на 7,57 %. Далее происходит постепенное снижение показателей. К моменту последнего исследования (через 28 дней) их количество снижается на 4,3 %. Увеличение количества В-лимфоцитов происходит также к 7-му дню после иммунизации, достигая максимальных значений у зверей опытной группы к 14-му дню ($p < 0,001$). Их количество к этому сроку увеличивается на 14,3 %. В следующие сроки исследований наблюдается достоверное ($p < 0,01$) снижение этих показателей. К концу опыта количество ЕАС-РОК снижается на 7,1 %. В контрольной группе животных существенных изменений количества лимфоцитов не произошло, выявленные различия оказались недостоверными (табл. 2).

Морфологические методы. Селезенка – важный орган лимфоцитобразования и иммунитета, в котором под влиянием антигенов, присутствующих в крови, происходит образование клеток либо продуцирующих гуморальные антитела, либо участвующих в реакциях клеточного иммунитета. Антигены фагоцитируются и разрушаются в красной пульпе, а их оставшаяся часть прикрепляется к клеткам краевого синуса белой пульпы. Затем они постепенно переходят в лимфоидные узелки, в которых позднее появляются плазматические клетки, содержащие антитела к антигену [Миллер, Дукор, 1967; Герберт, 1974].

При гистологическом исследовании селезенки песцов после вакцинации на срезе хорошо различимы красная и белая пульпа. Белая пульпа представлена лимфоидными узелками, как с герминативным центром, так и без него. При иммуноморфологическом исследовании через 14 дней после иммунизации песцов в селезенке наблюдали формирование вторичных лимфоидных узелков, диаметр которых по сравнению с контролем достоверно увеличился в 1,3 раза ($p < 0,001$). Через 21 день после иммунизации диаметр вторичных лимфоидных узелков увеличился в 1,5 раза ($p < 0,001$), а их количество возросло в 1,2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Как видно из табл. 4, в центре лимфоидных узелков и в периартериальной зоне отмечалось скапливание иммунобластов, плазмобластов, количество которых по сравнению с контролем увеличилось в 1,2–2,3 раза ($p < 0,001$).

В красной пульпе селезенки отмечали выраженную плазмоцитарную реакцию с увеличением количества зрелых плазмоцитов через 21 день в 1,2 раза по сравнению с контролем (рис. 1) и на 28-й день отмечали снижение показателей.

Результаты исследований показывают, что вакцина существенно стимулирует гиперплазию лимфоидных узелков в селезенке и пролиферацию иммунокомпетентных клеток. Лимфоидная ткань селезенки участвует преимущественно в иммунных реакциях гуморального типа, обеспечивая накопление больших плазматиче-

Таблица 3. Морфометрические показатели в селезенке у песцов после иммунизации инактивированной вакциной

Table 3. Morphometric parameters in the spleen of polar foxes after immunization with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment: Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	14,8 ± 0,37 10,0 ± 0,44	14,1 ± 0,37 12,6 ± 0,40**	14,6 ± 0,42 19,2 ± 0,35***	14,4 ± 0,51 11,4 ± 0,24**
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	365,10 ± 9,20** 138,96 ± 7,88	298,12 ± 8,66** 141,6 ± 3,40**	279,6 ± 9,27 148,0 ± 9,31**	275,48 ± 8,23 137,24 ± 5,33
Контрольная группа / Control group: Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	13,6 ± 0,24 7,8 ± 0,37	-	-	-
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	271,28 ± 12,3 134,64 ± 6,93	-	-	-

Таблица 4. Динамика иммунокомпетентных клеток в селезенке у песцов после иммунизации против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 4. Dynamics of immunocompetent cells in the spleen of Arctic foxes after immunization against salmonellosis with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment количество клеток / number of cells:				
иммунобластов / immunoblasts	19,5 ± 0,5**	17,9 ± 0,32	17,3 ± 0,22	16,9 ± 0,40
плазмобластов / plasmoblasts	21,3 ± 0,43	23,3 ± 0,11***	19,5 ± 0,33	18,9 ± 0,25
незрелых плазматических клеток / immature plasma cells	27,2 ± 0,23	29,7 ± 0,32***	27,4 ± 0,6	27,3 ± 0,20
зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	17,9 ± 0,22	29,5 ± 0,92	27,3 ± 0,41***	27,0 ± 0,18***
Контрольная группа / Control group количество клеток / number of cells:				
иммунобластов / immunoblasts	16,2 ± 0,33	-	-	-
плазмобластов / plasmoblasts	18,4 ± 0,31	-	-	-
незрелых плазматических клеток / immature plasma cells	25,8 ± 0,42	-	-	-
зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	17,4 ± 0,24	-	-	-

ских клеток, синтезируя антитела [Сапин, 1983; Кириллов, 1994].

При гистологическом изучении нижнечелюстных лимфатических узлов у песцов в корковом слое хорошо просматривались первичные и вторичные лимфоидные узелки. Мякотные шнуры за счет скопления лимфоцитов утолщены. В корковом слое наблюдали формирование лимфоидных узелков. В нижнечелюст-

ных лимфатических узлах количество вторичных лимфоидных узелков и их диаметр на 7-й день после вакцинации увеличились в 1,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (табл. 5).

Клеточная реакция в нижнечелюстных лимфатических узлах характеризовалась увеличением иммунобластов (рис. 2), количество которых достигло максимума по сравнению с контролем на 14-й день после вакцинации (табл. 6).

На 14-й день после вакцинации клеточная реакция характеризовалась увеличением количества плазмобластов и зрелых

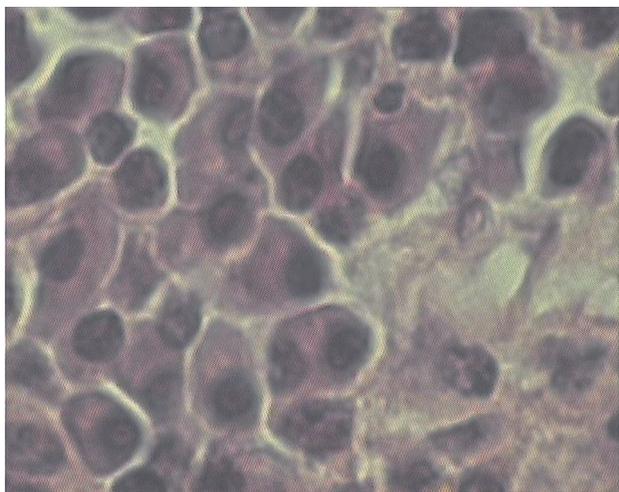


Рис. 1. Плазмоциты в красной пульпе селезенки через 14 дней после вакцинации.

Здесь и на рис. 2: увеличение микроскопа – окуляр GF-Pw 10x, объектив HI 40x/1,25. Окраска гематоксилином Майера и эозином

Fig. 1. Plasmocytetes in the red pulp of the spleen, 14 days after vaccination.

Here and in Fig. 2: microscope magnification: eyepiece – GF-Pw 10x; lens HI 40x/1.25. Staining with Mayer hematoxylin and eosin

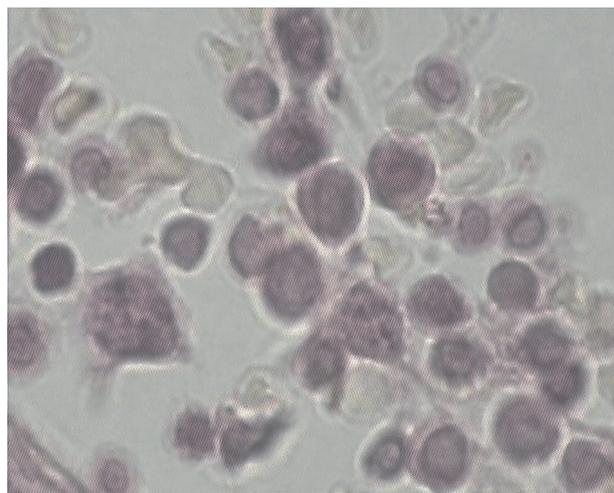


Рис. 2. Иммунобласты и плазмоциты в мозговом слое нижнечелюстных л/узлов под капсулой в корковом слое через 14 дней после вакцинации

Fig. 2. Immunoblasts and plasmocytetes in the brain layer of the mandibular l/nodes under the capsule in the cortical layer, 14 days after vaccination

Таблица 5. Морфометрические показатели в нижнечелюстных лимфатических узлах у песцов после иммунизации инактивированной вакциной

Table 5. Morphometric parameters in mandibular lymph nodes of Arctic foxes after immunization with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	6,8 ± 0,200*** 6,9 ± 0,316	7,4 ± 0,678*** 7,6 ± 0,748	8,2 ± 0,374*** 6,8 ± 0,583	7,4 ± 0,678*** 4,22 ± 0,437
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	305,0 ± 5,375 170,68 ± 5,244	330,88 ± 7,72*** 180,6 ± 6,361	321,48 ± 8,75 164,0 ± 4,72	300,88 ± 9,25 14076 ± 5,196
Контрольная группа / Control group Количество лимфоидных узелков / Number of lymphoid nodules: – первичных / primary – вторичных / secondary	4,8 ± 0,56 6,2 ± 0,31	-	-	-
Диаметр лимфоидных узелков (мкм) / Diameter of lymphoid nodules (µm): – первичных / primary – вторичных / secondary	291,7 ± 7,79 116,4 ± 2,18	-	-	-

Таблица 6. Динамика иммунокомпетентных клеток в нижнечелюстных лимфатических узлах у песцов после иммунизации против сальмонеллеза инактивированной вакциной

Table 6. Dynamics of immunocompetent cells in mandibular lymph nodes in Arctic foxes after immunization against salmonellosis with inactivated vaccine

Группы животных (n=5) Показатели Group of animals (n=5) Indicators	Результаты исследований Results of the research, M ± m			
	7 дней 7 days	14 дней 14 days	21 день 21 days	28 дней 28 days
Опыт / Experiment количество клеток / number of cells: иммунобластов / immunoblasts плазмобластов / plasmoblasts незрелых плазматических клеток / immature plasma cells зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	13,6 ± 0,32** 28,4 ± 0,45** 18,6 ± 0,54** 17,6 ± 0,34**	14,6 ± 0,32*** 27,6 ± 0,25* 19,4 ± 0,43** 18,5 ± 0,45**	13,4 ± 0,32* 26,8 ± 0,37* 18,4 ± 0,35** 20,4 ± 0,52*	12,9 ± 0,34* 25,4 ± 0,32* 17,6 ± 0,35* 18,6 ± 0,36*
Контрольная группа / Control group количество клеток / number of cells: иммунобластов / immunoblasts плазмобластов / plasmoblasts незрелых плазматических клеток / immature plasma cells зрелых плазматических клеток / mature plasma cells	12,2 ± 0,24 10,3 ± 0,21 17,2 ± 0,21 16,7 ± 0,24	-	-	-

плазмочитов, число которых по сравнению с контролем увеличилось в 1,5 раза ($p < 0,01$) (табл. 6).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров к CD3 Т-клеткам реакция положительная. Т-лимфоциты скапливались в периартериальной зоне узелка селезенки (рис. 3), в паракортикальной зоне лимфатических узлов (рис. 4).

Изучение механизмов формирования иммунитета и роли иммунных реакций в органах иммунитета позволяет выявить общие закономерности, происходящие в селезенке и лимфатических узлах после вакцинации. Последовательность события начала антителообразования в лимфоидном узелке, которая происходит после введения антигена в лимфатический узел, стала известна благодаря исследованиям

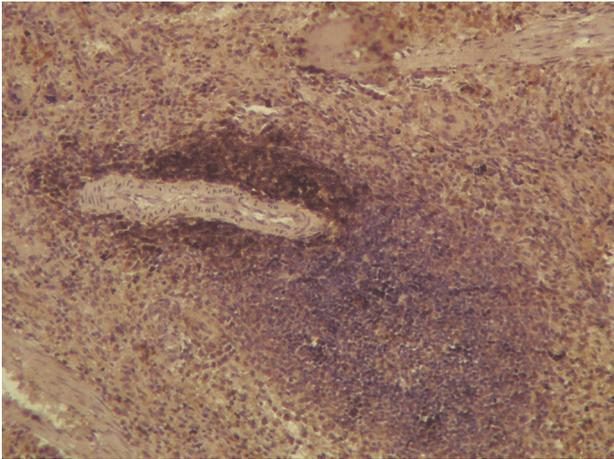


Рис. 3. Скопление CD3 T-клеток в периартериальной зоне селезенки

Fig. 3. Accumulation of CD3 T cells, the reaction is positive. T cells accumulated in the periarterial zone of the spleen

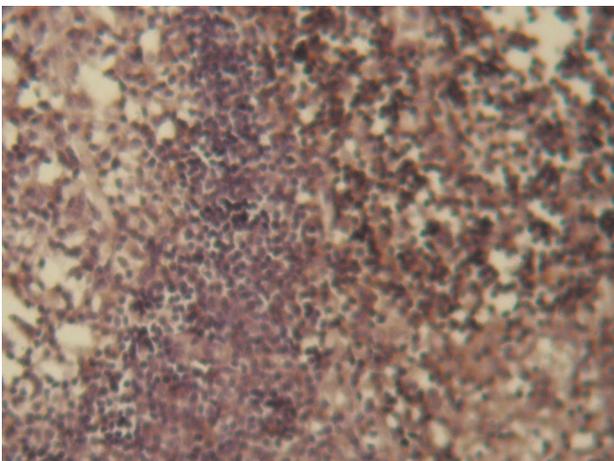


Рис. 4. Скопление CD3 T-клеток в паракортикальной зоне лимфоидного узелка

Fig. 4. Accumulation of CD3 T-cells, in the paracortical zone of a lymphatic nodule

Носсела и Айда из Мельбурна [Герберт, 1974]. В работе [Nossal, Mäkelä, 1962] представлены данные о структуре лимфатических узлов, играющих важную роль в иммуногенезе, развивающемся в результате иммунизации. К 28-му дню после вакцинации показатели сравнялись с контрольной группой.

Заключение

Таким образом, в ходе исследований отмечали увеличение в динамике Т- и В-лимфоцитов, изменения титра антител, а также фагоцитарной активности нейтрофилов. Представлены данные о структуре селезенки и лимфатических узлов, играющих важную роль в иммуногенезе. В результате иммунизации песцов против сальмонеллеза инактивиро-

ванной вакциной в периферических органах иммунитета происходит пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, характеризующаяся увеличением иммунобластов и зрелых плазмочитов, характерных как для клеточного, так и для гуморального иммунного ответа.

Литература

- Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство. М.: Медицина, 1990. 384 с.
- Антонов В. Я., Блинова П. Н. Лабораторные исследования в ветеринарии. 1971. М.: Колос, 1971. 640 с.
- Батуев К. М. Морфология лимфоидных фолликулов тонкой кишки человека // Тр. Пермского медицинского института. 1979. Т. 106. С. 53–57.
- Бородин Ю. И. Функциональная морфология иммунной системы. М.: Наука, 1987. 229 с.
- Герберт У. Д. Ветеринарная иммунология. М.: Колос, 1974. 303 с.
- Домский И. А., Кульминский А. Н. Сальмонеллез пушных зверей // Кролиководство и звероводство. 1997. № 4. С. 24–25.
- Домский И. А. Оральная вакцинация пушных зверей против сальмонеллеза // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ВНИИОЗ. (28–31 мая 2002 г.) / ВНИИОЗ, РАСХН. Киров, 2002. С. 548–551.
- Кириллов А. К. Иммунопрофилактика инфекционных болезней // Кролиководство и звероводство. 1994. № 3. 22 с.
- Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. 392 с.
- Макаров В. В., Бакулов И. А., Филиппов В. В. Внутриклеточный паразитизм и протективный иммунитет // Вестник РАСХН. 1994. № 3. С. 45–49.
- Матвиенко Б. А. Сальмонеллезы животных // Болезни сельскохозяйственных животных. Алма-Ата, 1986. С. 53–66.
- Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. Л.: Медицина, 1969. 402 с.
- Миллер Д., Дукор П. Биология тимуса / пер. с нем. М.: Мир, 1967. 93 с.
- Носсел Г. Антитела и иммунитет. М.: Медицина, 1973. 176 с.
- Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос, 1976. 304 с.
- Першин Б. Б. Вакцинация и местный иммунитет. Л.: Медицина, 1980. 210 с.
- Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных: Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12 авг. 1977 г. № 755.
- Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Ред. С. В. Петров, Н. Г. Райхлин. Казань: Титул, 2012. 624 с.
- Сагин М. Р. О закономерностях строения и развития органов иммунной системы // Функциональная морфология лимфатических узлов и других органов иммунной системы и их роль в иммунных

процессах: тез. докл. всесоюз. науч. конф. М., 1983. С. 148–149.

Сюрин В. Н., Фомина Н. В., Белоусова Р. В. Частная ветеринарная вирусология. М.: Колос, 1984. 427 с.

Bianco C., Prilrick R., Nussenzweig V. Population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody complex // *J. Exp. Med.* 1970. Vol. 134, no. 4. P. 702–720.

Fioretti A. Die Gaumenmandel Darstellung der Biologie und Physiopathologie. Stuttgart, 1961. 234 p.

References

Antonov V. Ya., Blinova P. N. Laboratornye issledovaniya v veterinarii [Laboratory studies in veterinary science]. 1971. Moscow: Kolos, 1971. 640 p.

Avtandilov G. G. Meditsinskaya morfometriya: rukovodstvo [Medical morphology: guidelines]. Moscow: Meditsina, 1990. 384 p.

Batuev K. M. Morfologiya limfoidnykh follikulov tonkoi kishki cheloveka [Morphology of lymphoid follicles of the human small intestine]. *Tr. Permskogo meditsinskogo inst.* [Proceed. Perm Medical Inst.]. 1979. Vol. 106. P. 53–57.

Borodin Yu. I. Funktsional'naya morfologiya immuno sistemy [Functional morphology of the immune system]. Moscow: Nauka, 1987. 229 p.

Domskii I. A., Kul'minskii A. N. Sal'monellez pushnykh zveri [Salmonellosis of fur animals]. *Krolikovodstvo i zverovodstvo* [Rabbit and Fur Farming]. 1997. No. 4. P. 24–25.

Domskii I. A. Oral'naya vaktsinatsiya pushnykh zveri protiv sal'monelleza [Oral vaccination of fur-bearing animals against salmonellosis]. *Sov. probl. Prirodopol'zovaniya, oxotovedeniya i zverovodstva: mat. Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashh. 80-letiyu VNIIOZ (28–31 maya 2002 g.)* [Modern problems of nature management, hunting and animal breeding: Proceed. Int. scientific-pract. conf. 80th anniv. of All-Russ. Research Inst. for Hunting Husbandry and Livestock Breeding (VNIIOZ) (May 28–31, 2002)]. Kirov, 2002. P. 548–551.

Gerbert U. D. Veterinarnaya immunologiya [Veterinary immunology]. Moscow: Kolos, 1974. 303 p.

Kirillov A. K. Immunoprofilaktika infektsionnykh boleznei [Immunological prophylaxis of infectious diseases]. *Krolikovodstvo i zverovodstvo* [Rabbit and Fur Farming]. 1994. No. 3. 22 p.

Labinskaya A. S. Mikrobiologiya s tekhnikoi mikrobiologicheskikh issledovaniy [Microbiology with a method of microbiological research]. Moscow: Meditsina, 1978. 392 p.

Makarov V. V., Bakulov I. A., Filippov V. V. Vnutrikletchnyi parazitizm i protektivnyi immunitet [Intracellular parasitism and protective immunity]. *Vestnik RASKhN* [Bull. Russ. Acad. Agricultural Sci.]. 1994. No. 3. P. 45–49.

Matvienko B. A. Sal'monellezy zhivotnykh [Salmonellosis in animals]. *Bolezni sel'skokh. zhivotnykh* [Diseases of agricultural animals]. Alma-Ata, 1986. P. 53–66.

Merkulov G. A. Kurs patologogistologicheskoi tekhniki [A Course in pathohistological methods]. Leningrad: Meditsina, 1969. 402 p.

Jondall M., Holm J., Wogzell H. Surface markers of human B- and T-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmunerosettes with sheep red blood cells // *J. Exp. Med.* 1972. Vol. 136, no. 2. P. 207–215.

Nossal G. J., Mäkelä O. J. Autoradiographic studies on the immune response: I. The kinetics of plasma cell proliferation // *J. Exp. Med.* 1962. No. 115(1). P. 209–230. doi: 10.1084/jem.115.1.209

Поступила в редакцию 12.09.2019

Miller D., Dukor P. Biologiya timusa [Biology of thymus]. tr. from German. Moscow: Mir, 1967. 93 p.

Nossal, G. Antitela i immunitet [Antibodies and immunity]. Moscow: Meditsina, 1973. 176 p.

Ovsyannikov A. I. Osnovy opytnogo dela v zhivotnovodstve [Fundamentals of experiments in animal husbandry]. Moscow: Kolos, 1976. 304 p.

Pershin B. B. Vaktsinatsiya i mestnyi immunitet [Vaccination and local immunity]. Leningrad: Meditsina, 1980. 210 p.

Petrov S. V., Raikhlin N. G. (eds). Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoi diagnostike opukholei cheloveka [Guidelines for the immunohistochemical diagnosis of human tumors]. Kazan: Titul, 2012. 624 p.

Pravila provedeniya rabot s ispol'zovaniem eksperimental'nykh zhivotnykh: Prilozhenie k Prikazu Minzdrava SSSR ot 12 avg. 1977 g. № 755 [Rules for conducting experiments on animals: Annex to Order of the USSR Ministry of Health Care, Aug. 12, 1977. No. 755].

Sapin M. R. O zakonomernostyakh stroeniya i razvitiya organov immuno sistemy [On the patterns in the structure and development of the organs of the immune system]. *Funktsional'naya morfologiya limfoticheskikh uzlov i drugikh organov immuno sistemy i ikh rol' v immunnykh protsessakh: tez. dokl. Vsesoyuz. nauch. konf.* [Functional morphology of the lymph nodes and other organs of the immune system and their role in immune processes: Abs. All-Union. sci. conf.]. Moscow, 1983. P. 148–149.

Syurin V. N., Fomina N. V., Belousova R. V. Chastnaya veterinarnaya virusologiya [Special veterinary virology]. Moscow: Kolos, 1984. 427 p.

Bianco C., Prilrick R., Nussenzweig V. Population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody complex. *J. Exp. Med.* 1970. Vol. 134, no. 4. P. 702–720.

Fioretti A. Die Gaumenmandel Darstellung der Biologie und Physiopathologie. Stuttgart, 1961. 234 p.

Jondall M., Holm J., Wogzell H. Surface markers of human B- and T-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmunerosettes with sheep red blood cells. *J. Exp. Med.* 1972. Vol. 136, no. 2. P. 207–215.

Nossal G. J., Mäkelä O. J. Autoradiographic studies on the immune response: I. The kinetics of plasma cell proliferation. *J. Exp. Med.* 1962. No. 115(1). P. 209–230. doi: 10.1084/jem.115.1.209

Received September 12, 2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Окулова Ираида Ивановна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: okulova_i@mail.ru

Домский Игорь Александрович

директор, чл.-корр. РАН, д. вет. н., проф.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: gnu-vniioz@mail.ru

Березина Юлия Анатольевна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: uliya180775@bk.ru

Бельтюкова Зинаида Николаевна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: Labvet@mail.ru

Кошурникова Мария Александровна

старший научный сотрудник, к. вет. н.
Всероссийский научно-исследовательский институт
охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б. М. Житкова
ул. Преображенская, 79, Киров, Россия, 610000
эл. почта: koshurnikova@vniioz-kirov.ru

CONTRIBUTORS:

Okulova, Iraida

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: okulova_i@mail.ru

Domsky, Igor

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: gnu-vniioz@mail.ru

Berezina, Yulia

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: uliya180775@bk.ru

Bel'tyukova, Zinaida

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: Labvet@mail.ru

Koshurnikova, Maria

Professor Zhitkov Federal State Budgetary Russian Research
Institute of Game Management and Fur Farming
79 Preobrazhenskaya St., 610000 Kirov, Russia
e-mail: koshurnikova@vniioz-kirov.ru