

Берзина Юлия Анатольевна

**Розеткообразующие лимфоциты у песцов и лисиц,  
их физиологические показатели и динамика  
в иммунных процессах**

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

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийском научно-исследовательском институте охотничьего хозяйства и звероводства (ВНИИОЗ) им. проф. Б.М. Житкова Российской академии сельскохозяйственных наук

**Научный руководитель:** доктор ветеринарных наук, лауреат премии  
Правительства РФ в области науки  
**Домский Игорь Александрович**

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
**Ивановский Александр Александрович**

кандидат ветеринарных наук,  
ведущий научный сотрудник  
**Сазонкин Владимир Николаевич**

**Ведущая организация:** Институт биологии Карельского научного центра РАН

Защита состоится «25» декабря 2006 года в 15 часов на заседании диссертационного совета ДМ 220.022.04 при ФГОУ ВПО Вятской государственной сельскохозяйственной академии по адресу: 610017, г. Киров, Октябрьский проспект, дом 133, ФГОУ ВГСХА, факс: (8332) 57-43-78.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Вятской государственной сельскохозяйственной академии

Автореферат разослан «25» ноября 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат ветеринарных наук, доцент



С.Д. Андреева

## Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Основная задача иммунологических исследований состоит в том, чтобы выявить и оценить специфические иммунные процессы. В современной практике иммунологических исследований основным объектом изучения является кровь – ее клеточные элементы и сыворотка. При изучении клеточных реакций чаще всего изучают популяции лимфоцитов, а выделение этих клеток из крови животных является первым этапом исследований (Барбер Х.Р., 1980; Фримель Г., 1987; Youm A., 1974; Benjamini E., 1996).

В ветеринарии исследования клеточного иммунитета проводили: Кондауров Б.И., 1982; Корчан Н.И., Тертышник В.И., 1983; Солодовников В.Л., 1983; Пацула Ю.И. с соавт., 1983; Груздев К.Н., 1984; Васильев А.А, Кондауров Б.И., 1984; Галатюк А.Е., 1985; Бикбулатов З.Г. с соавт., 1998; Карпенко Л.Ю., 1999; 2001; Федоров Ю.Н., 2000; Жаров А.В., 2001; Топурия Г.М., 2002; Копейкин Ю.А., 2004; Bianco C. et.al, 1970; Jondall M. et.al, 1972, Chen J. et.al, 1992; Moller G., 1993; Gershwin L. et.al, 1995 и др.

По мнению ряда авторов (Узенбаева Л.В., Илюха Л.А., 2001; Таранин А.В., Зеленев Е.Ю., 2001; Файзулоев Е.Б., 2002), иммунная система пушных зверей мало изучена. В доступных нам литературных источниках имеются только единичные исследования количества Т- и В-лимфоцитов у нутрий (Есепенок В.А., 1998) и норок (Хитрова Д.А., 2003). Все приведенные выше литературные данные подтверждают важность изучения этой составляющей иммунной системы.

Вопросы изучения иммунного статуса организма пушных зверей, его изменений с учетом возраста животных, а также последствий, к которым может привести его снижение, освещены недостаточно. Очевидно, что создание наиболее целостной картины изучения изменений количества Т- и В-лимфоцитов у пушных зверей, в частности у песцов и лисиц, с учетом возраста, на наш взгляд, представляет несомненный интерес.

Разработка и внедрение средств специфической профилактики требует всестороннего изучения изменений, происходящих в организме животного в поствакцинальный период. Основная роль оценки состояния иммунитета заключается в том, чтобы выявить и оценить специфические иммунные процессы, происходящие в организме животного при введении антигенов. При этом важно оценивать качество вакцин и методов их применения с точки зрения иммунологической эффективности.

Таким образом, отсутствие целенаправленных исследований популяций лимфоцитов у пушных зверей, свидетельствуют о том, что изучение и оценка физиологических и иммунных изменений Т- и В-лимфоцитов у песцов и лисиц является актуальной задачей и представляет научный и практический интерес.

**Цель и задачи исследований.** Цель исследований - выделение лимфоцитов у песцов и лисиц, изучение их отдельных популяций в онтогенезе и в иммунных процессах.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- выяснить возможность выделения и идентификации популяции лимфоцитов у песцов и лисиц;
- изучить их физиологические показатели и видовые особенности, с учетом возрастных изменений;
- изучить динамику и особенности изменения популяций лимфоцитов зверей в процессах специфических иммунных реакций на воздействие разных бактериальных антигенов на примере вакцины против сальмонеллеза.
- сравнить особенности изменений количества Т- и В-лимфоцитов у песцов и лисиц при использовании инактивированной и живой вакцины против сальмонеллеза.
- изучить влияние различных способов введения живой вакцины против сальмонеллеза на специфические клеточные реакции.

**Научная новизна.** Впервые апробированы и отработаны методы выделения и идентификации лимфоцитов у песцов и лисиц, установлены физиологические показатели лимфоцитов, их видовые особенности и возрастные изменения. Получены новые данные, подтверждающие участие лимфоцитов в специфических иммунных реакциях в ответ на воздействие разных вакцинных антигенов и на способы их введения.

**Практическая значимость.** Предлагаемые способы определения иммунного статуса песцов и лисиц с помощью количественных методов определения Т- и В-лимфоцитов могут быть использованы для оценки состояния естественной резистентности зверей при отборе на племя, а также в качестве дополнительных иммунологических тестов для определения эффективности вакцин. Полученные при этом показатели у здоровых и больных животных могут служить фоновыми величинами для оценки иммунного статуса зверей при разных физиологических, иммунных и патологических состояниях, при любом воздействии на иммунную систему организма. Полученные в результате исследований данные могут быть использованы в учебном процессе при ведении курсов иммунологии, микробиологии, вирусологии.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены:

1. на Всероссийской научно-производственной конференции «Современные проблемы диагностики и лечения болезней животных», ВГСХА, 2004г., г. Киров;
2. на III Международном симпозиуме «Физиологические основы повышения продуктивности млекопитающих, введенных в зоокультуру», 27-29 сентября 2005г., г. Петрозаводск;
3. на Ученом совете ГНУ ВНИИОЗ, протокол № 4 от 13.04.2006 г.;
4. на расширенном межлабораторном совещании отдела звероводства ГНУ ВНИИОЗ, протокол № 2 от 9.10.2006 г.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- методы выделения и идентификация популяций лимфоцитов у песцов и лисиц;
- физиологические показатели количества Т- и В-лимфоцитов, их видовые особенности и возрастная динамика;
- особенности количественных изменений в популяциях лимфоцитов при специфическом иммунном ответе.

**Публикации.** По материалам исследований опубликовано 3 научные работы, в том числе в изданиях, рекомендуемых ВАК.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 151 странице машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы. Работа проиллюстрирована 18 таблицами и 10 рисунками. Список используемой литературы включает 231 источник, в том числе 60 на иностранных языках.

## ***1. Материалы и методы***

Работа выполнена в лаборатории ветеринарии ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства им. проф. Б.М. Житкова (г. Киров), в ООО зверохозяйстве «Вятка», в ООО Научно-производственное объединение «Пушнина» (Жирновская область).

**Животные.** В работе использовались следующие виды пушных зверей: песцы (*Alopex lagopus*) вуалевые и серебристые; лисицы (*Vulpes vulpes*) серебристо-черные, в т.ч.:

- молодняк песцов и лисец в возрасте 60 дней (48 голов);
- взрослые животные 1-го, 3-х, 5-ти летнего возраста (72 песца, 72 лисицы).
- молодняк песцов и лисец, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза (24 песца, 24 лисицы)
- молодняк песцов и лисец, иммунизированных живой вакциной против сальмонеллеза (24 песца, 24 лисицы)
- песцы в возрасте 1 год, иммунизированные разными способами введения вакцины (24 головы).

Всего в работе было использовано 168 песцов и 144 лисицы.

Для получения эритроцитов использовали 3 головы барана.

**Штаммы.** Все штаммы, используемые в работе, депонированы в России и получены из ВГНКИ ветеринарных препаратов для иммунизации животных и приготовления опытных и опытно – промышленных серий вакцины.

Вакцинные (аттенуированные) штаммы сальмонелл:

- Штамм *Salmonella tiphymurium* №3;
- Штамм *Salmonella dublin* №6;
- Штамм *Salmonella cholerae suis* №9.

Вирулентные штаммы сальмонелл:

- Штамм *Salmonella tiphymurium* №371, использовался для постановки ОФР и РА.

**Биопрепараты:** Опытные и опытно-промышленные серии вакцин против сальмонеллеза пушных зверей для орального (ТУ 9484-041-00494189-01) и парентерального введения (ТУ № 9384-105-00494189-03).

Вакцина ассоциированная инактивированная против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейной инфекции молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей (ТУ-9384-047-00008064-99) серия №15, изготовленная 12.2004г. ФГУП Покровский завод биопрепаратов и ООО «Агровет» (Вакцина ОКЗ).

Все вакцины применяли согласно наставлений по их применению.

**Химические и лекарственные препараты:** верографин 76%, производство СПОФА (Чехословакия), дата выпуска 05.1999; урографин 76%, производство АО

Шеринг (Германия), дата выпуска 11.2004; полиглокин, срок годности до 08.2007; сыворотка диагностическая гемолитическая жидкая (ФГУП «НПО Микроген»), дата выпуска 11.2003; комплект сухой – лиофилизированная сыворотка морской свинки (ФГУП «НПО Микроген»), срок годности до 08.2007; раствор Хенкса pH 7,2; раствор Олсвера; гепарин –20 ЕД/мл крови; глутаровый альдегид 0,6%; трипановый синий 0,2%, раствор эозина 0,5%.

Общеклинические методы. С целью изучения влияния биопрепаратов на организм опытных зверей проводили визуальное наблюдение за их состоянием после введения препаратов. При этом следили за активностью зверей, наличием у них аппетита и т.п. Анализировали все случаи отклонения от нормального физиологического состояния, угнетения, признаки заболевания. В необходимых случаях проводили измерение температуры тела, периодические контрольные взвешивания зверей с целью получения данных о развитии молодняка.

Гематологические методы. Кровь у опытных зверей брали из вены бедра (v. saphena) через 7, 14, 21, 28 дней после иммунизации. Определение гематологических показателей проводили согласно общепринятым методикам (Берестов В.А., 1981; Антонов Б.И., 1986). Для реакций розеткообразования использовали 1%-, 5%-ную суспензию эритроцитов барана. Всего проведено 1872 гематологических исследования.

Иммунологические методы. Кровь пушных зверей использовали для выделения лимфоцитов в градиенте плотности (Груздев К.Н., 1984). Количество Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Jondall M. et. al., 1972), В-лимфоцитов - методом розеткообразования с эритроцитами барана, обработанными антителами и комплекментом (Bianco S. et.al., 1970). Опсоно – фагоцитарную реакцию ставили по Лабинской А.С. (1978). Определение специфических антител к возбудителям сальмонеллеза проводили в реакции агглютинации (Антонов В.Я., Блинова П.Н., 1971). Всего проведено более 9000 иммунологических исследований.

Статистические методы. Статистическую обработку цифровых материалов проводили на компьютере с программным обеспечением «Microsoft® Excel 98». А также использовали общепринятые методы математической статистики, оценку достоверности статистических показателей выборок производили по критерию Стьюдента (Лакин Г.Ф., 1981). Определение среднегеометрического титра антител в сыворотке крови зверей проводили по Ляски (Сюрин В.Н. с соавт., 1984).

Благодарности. Работа выполнена при помощи сотрудников отдела звероводства ГНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М.Житкова: старших научных сотрудников, кандидатов ветеринарных наук О.Ю. Беспятых и Д.М. Журавлева, старшего научного сотрудника Бельтюковой З.Н., ветеринарного врача I категории Окуловой И.И., которые оказывали большую помощь в сборе материала и проведении лабораторных исследований. Помощь в организации работы и проведении необходимых мероприятий оказана ветеринарными специалистами зверохозяйств: главным ветврачом зверохозяйства «Вятка» М.С. Филатовой, ветврачом зверохозяйства «Вятка» С.Н. Тюфяковым, главным ветврачом НПО «Пушнина» Н.А. Кононовой.

Автор всем приносит искреннюю благодарность и признательность за помощь в выполнении диссертационной работы.

## 2. Результаты исследований

### 2.1. Выделение лимфоцитов в градиенте плотности у пушных зверей

В доступной нам литературе мы не нашли метода выделения лимфоцитов из крови песцов и лисиц. Выделение лимфоцитов осуществляли методом одноступенчатого градиентного фракционирования лейкоцитов и эритроцитов в основе которого лежит разделение клеток периферической крови на фракции в зависимости от их удельной плотности (Войш А., 1968, 1974; Otto A., Schmid D.O., 1979; Натвиг Д.Б. с соавт., 1980; Кондауров Б.И. с соавт., 1981; Бабаян В.А. с соавт. 1988). За основу взяли метод выделения Т-, В-лимфоцитов у сельскохозяйственных животных (Груздев К.Н., 1984).

Для получения суспензии моноклеаров с приемлемым для дальнейшей работы выходом клеток использовали несколько предлагаемых прописей, состоящих из нижеуказанных синтетических соединений, которые готовили в следующих пропорциях:

1. Растворы полиглюкина и верографина в определенном соотношении: 6%-ный раствор полиглюкина – 8 частей и 76%-ный раствор верографина – 2 части.
2. Растворы полиглюкина и урографина в том же соотношении, что и растворы полиглюкина и верографина.
3. Раствор урографин – фиколл готовят в соотношении: 9%-ный раствор фиколла – 12 частей и 34%-ный раствор урографина – 5 частей.
4. Раствор полиглюкин – тразограф готовят в определенном соотношении: 6%-ный раствор полиглюкина – 8 частей и 60%-ный раствор тразографа – 2 части.

Плотность полученных смесей устанавливали с помощью набора ареометров. Измерение плотности проводили при  $t=20\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Готовили растворы с плотностью от 1,077 до 1,082 г/мл и хранили их при  $t = 4^{\circ}\text{C}$ . Для максимально возможного выделения лимфоцитов из клеток периферической крови песцов подбирали необходимую плотность разделительного раствора. Выделение лимфоцитов проводили при режиме центрифугирования 400G в течение 30 минут.

В результате исследований установлено, что наилучшее лимфоцитарное кольцо с четко очерченными границами получали при выделении лимфоцитов с помощью смеси растворов верографин – полиглюкин с плотностью 1,077-1,079 г/мл. Кольцо с менее выраженной границей - при использовании раствора урографин - полиглюкин с плотностью 1,077-1,079 г/мл. При выделении лимфоцитов в случаях, где использовались растворы урографин - фиколл и тразограф-полиглюкин кольцо или вообще не образовывалось, или получалось с размытыми краями, где отсутствовали четкие границы разделения и образовывалась взвесь, содержащая разные клетки крови.

Таблица 1. Содержание лимфоцитов, выделенных из крови песцов при использовании разных смесей и плотностей растворов

Плотность раствора, г/мл	Состав смесей для выделения лимфоцитов и содержание лимфоцитов в выделенной взвеси, %, (M±m)			
	Верографин-полиглокин	Урографин-полиглокин	Урографин-фиколл	Тразограф-полиглокин
1,077	95±1,528	91±1,0	60±2,309	78±3,78
1,079	92±1,0	88,3±0,88	61,3±2,603	74±2,64
1,080	--	78,6±2,72	55±1,732	74±2,309
1,082		66±2,082	35±5,77	68±2,082

Из данных таблицы видно, что наибольшее количество лимфоцитов выделено из взвеси при использовании в качестве градиента смеси верографина–полиглокина с плотностью раствора 1,077 г/мл, чуть ниже (на 3%) лимфоцитов оказалось в взвеси при использовании этого же градиента с плотностью раствора 1,079 г/мл. Содержание лимфоцитов в выделенной взвеси при использовании градиента урографин-полиглокин с плотностью 1,077 г/мл было меньше на 4%. При использовании соединения тразограф-полиглокин с плотностью 1,077 г/мл количество лимфоцитов на 17% ниже, чем при использовании смеси верографин-полиглокин с аналогичной плотностью. При использовании синтетического соединения урографин-фиколл с плотностью 1,077 г/мл было получено на 35% меньше лимфоцитов, чем при использовании смеси верографин-полиглокин с плотностью 1,077 г/мл. Количество выделяемых лимфоцитов у песцов при использовании растворов с разной плотностью колеблется в пределах от 35 до 95%.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что выделение лимфоцитов из крови пушных зверей в градиенте плотности 1,077-1,079 г/мл верографин-полиглокин и урографин-полиглокин являются наиболее приемлемыми. В настоящее время верографин снят с производства. Данные растворы дают схожий результат и могут заменять друг друга. Полученные результаты свидетельствуют о возможности и целесообразности использования метода выделения лимфоцитов в градиенте плотности для исследований количества Т- и В-лимфоцитов у песцов и лисиц.

## 2.2. Приготовление эритроцитарных маркеров для выявления розеткообразующих лимфоцитов периферической крови песцов и лисиц

Известно, что Т-лимфоциты имеют на своей поверхности рецепторы для эритроцитов барана, представленные в виде CD2-молекул, в качестве эритроцитарного маркера для определения данных клеток применяли свежеприготовленную взвесь эритроцитов барана

В отличие от Т-клеток, В-лимфоциты имеют на своей поверхности рецепторы для третьего компонента комплемента (С3). Поэтому для дифференциации использовали эритроциты барана, которые предварительно сенсбилизировали гемолизином и комплементом (Шабалин В.Н., Серова Л.Д., 1988; Чередеев А.Н., 1999).



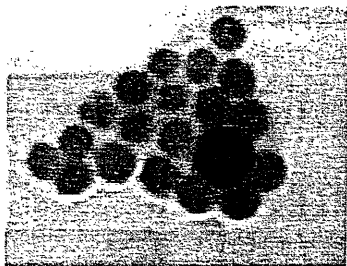


Рис. 1. Розеткообразующий комплекс

В результате проведенной работы нами в процессе постановки реакций розеткообразования были получены розеткообразующие комплексы (рис.1).

### 2.3. Изучение возрастных изменений количества Т- и В-лимфоцитов у песцов

При определении количества Т- и В-лимфоцитов у песцов в раннем онтогенезе установлено, что в двухмесячном возрасте количество Т- и В-лимфоцитов находится на низком уровне. С возрастом животных их количество повышается. Достоверные ( $P < 0,05$ ) изменения количества Т-лимфоцитов происходят к четырехмесячному возрасту ( $54,6 \pm 1,63\%$ ), их численность увеличивается на  $5,35\%$ . При дальнейших исследованиях установлено, что сохраняется тенденция к увеличению данного показателя до трехлетнего возраста ( $71,3 \pm 1,45\%$ ), увеличение составило -  $22,05\%$ . Далее к пятилетнему возрасту происходит его снижение - на  $6\%$  ( $65,3 \pm 2,02\%$ ) по сравнению с отмеченным максимальным значением.

Содержание В-лимфоцитов также с возрастом увеличивается. Достоверное ( $P < 0,001$ ) их изменение наблюдаются уже у трехмесячных зверей. Показатель по сравнению с двухмесячными животными увеличился на  $6,35\%$  и составил  $22,6 \pm 0,95\%$ . Максимальных значений он достигает к пяти годам ( $31,3 \pm 1,02\%$ ), увеличиваясь к этому возрасту на  $15,05\%$ .

### 2.4. Изучение возрастных изменений количества Т- и В-лимфоцитов у лисиц

У лисиц содержание Т-лимфоцитов (Е-РОК) также меняется с возрастом животного. На протяжении всех сроков исследований происходит увеличение количества Т-лимфоцитов, при этом достоверное изменение ( $P < 0,05$ ) наблюдается к пятимесячному возрасту ( $50,25 \pm 2,59\%$ ), достигая максимального значения к трем годам ( $70,5 \pm 2,63\%$ ). Увеличение количества Т-лимфоцитов с двухмесячного возраста по сравнению с трехлетними животными происходит на  $35,9\%$ . К пятилетнему возрасту отмечено их снижение.

При определении количества В-лимфоцитов наблюдается аналогичная картина. Достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение их количества происходит к четырехмесячному возрасту ( $26,25 \pm 2,01\%$ ), достигая максимального значения к

пяти годам ( $35,2 \pm 2,28\%$ ). С возрастом у лисиц количество В-лимфоцитов увеличивается на 16,6%.

## 2.5. Сравнительная характеристика возрастных изменений количества Т- и В-лимфоцитов у песцов и лисиц

По нашему мнению, интересно сопоставление динамики лимфоцитов у разных видов и возрастов пушных зверей (рис. 2).

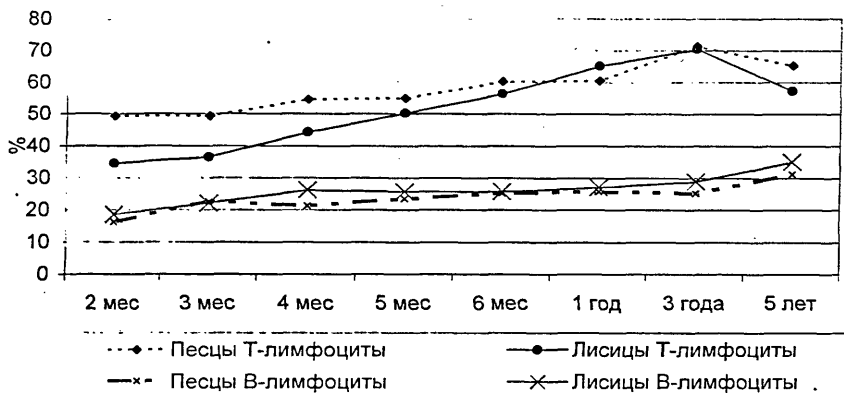


Рис. 2. Видовые различия и возрастная динамика количества Т- и В-лимфоцитов у песцов и лисиц.

Установлено, что возрастная динамика количества Т- и В-лимфоцитов крови у песцов и лисиц в целом одинакова. Основное же различие заключается в активности изменений количества Т- и В-лимфоцитов с возрастом животных. Например, у песцов количество Т-лимфоцитов уже в двухмесячном возрасте выше, чем у лисиц на 14,65% ( $P < 0,05$ ). С 4-х месяцев их количество у песцов практически не изменяется, затем происходит постепенное нарастание количества Т-лимфоцитов, достигая максимального уровня к трем годам. Показатель Т-лимфоцитов у песцов выше, чем у лисиц на протяжении 6-ти месяцев исследования, но данные изменения являются достоверными только до четырехмесячного возраста ( $P < 0,05$ ). У лисиц отмечено резкое увеличение количества Т-лимфоцитов от минимальных его значений у двухмесячных животных до максимальных у трехлетних животных. В год количество Т-лимфоцитов у лисиц выше, чем у песцов. К трем годам показатели выравниваются. Очевидно, что различия, столь существенные в первые месяцы жизни, сглаживаются с возрастом животных.

При сравнении результатов изменений количества В-лимфоцитов у песцов и лисиц видно, что их у лисиц выше, чем у песцов на протяжении всех сроков исследований, но данные изменения не являются достоверными. С возрастом наблюдается повышение данного показателя, максимальных значений он достигает к пяти годам, но даже в этом возрасте у лисиц количество В-лимфоцитов выше, чем у песцов (35,2% и 31,3% соответственно).

Наиболее заметно увеличение количества Т- и В-лимфоцитов в первые сроки исследования, позднее их количество стабилизируется. Это объясняется функциональной зрелостью организма животного, постоянством и зрелостью иммунной системы.

## **2.6. Изучение поствакцинального иммунитета у песцов, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза**

Для изучения поствакцинального иммунного ответа у песцов, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза, было сформировано 2 группы по 4 головы:

1 группа - животные, вакцинированные инактивированной вакциной против сальмонеллеза пушных зверей;

2 группа - невакцинированные животные (контроль).

Вакцину применяли на молодяке песцов, согласно наставлению по применению. Звери 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 зверями наблюдали в течение месяца, за весь этот период у них не было отмечено отказа от корма, угнетения, заболевания и падежа.

После применения инактивированной вакцины для профилактики сальмонеллеза у песцов наблюдается выраженный лейкоцитоз и лимфоцитоз. Повышение общего количества лейкоцитов у вакцинированных зверей особенно выражено на 7-14 дни после вакцинации ( $P < 0,05$ ). Достоверное ( $P < 0,001$ ) увеличение количества лимфоцитов происходит к 7-му дню, максимальных значений они достигают к 14-му дню исследований ( $75,4 \pm 2,87\%$ ). Затем к 28-му дню происходит достоверное ( $P < 0,01$ ) снижение их количества у всех вакцинированных животных. В последующие сроки наблюдений показатели выравниваются с показателями контрольной группы, которые характеризуют физиологическую норму.

При определении титра специфических антител в РА установлено, что он повышается уже на 7-й день и продолжает увеличиваться далее, достигая максимальных значений на 14-й день после вакцинации, затем происходит его снижение.

Показатели опсоно-фагоцитарной реакции также незначительно повышаются к 7-му дню, достигают максимальных значений на 14-й день после вакцинации, затем происходит снижение значений.

Через 7 дней после иммунизации песцов инактивированной вакциной против сальмонеллеза наблюдается достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение количества Т-лимфоцитов ( $56,4 \pm 1,86\%$ ) по сравнению с контролем ( $48,83 \pm 1,22\%$ ), 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 после вакцинации) их количество снижается на  $4,3\%$ .

Увеличение количества В-лимфоцитов происходит тоже к 7-му дню после иммунизации, достигая максимальных значений у зверей опытной группы к 14-му

дню (опыт-  $36,4 \pm 0,81\%$ , контроль-  $22,1 \pm 1,22\%$ ,  $P < 0,001$ ). 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.

## **2.7. Изучение поствакцинального иммунитета у песцов, иммунизированных живой вакциной против сальмонеллеза**

Зверей разделили на 2 группы: опытная и контрольная (по 4 головы в каждой группе). Образцы крови у животных брали на 7, 14, 21 и 28 дни после вакцинации.

После иммунизации песцов живой вакциной против сальмонеллеза, в результате ответной реакции организма на введение антигена, были отмечены следующие изменения. Уже на 7-й день после иммунизации наблюдается увеличение общего количества лейкоцитов ( $8,25 \pm 0,93$  тыс/мкл), затем происходит снижение показателя и к 28-му дню он соответствует физиологической норме животного в данном возрасте. Установленное увеличение лейкоцитов у иммунизированных живой вакциной зверей указывает на хорошую реактивность организма песцов при введении препарата. Через 7 дней после вакцинации наблюдается достоверное ( $P < 0,01$ ) увеличение количества лимфоцитов ( $75,66 \pm 3,69\%$ ) на  $14,66\%$ , по сравнению с показателями у зверей в контрольной группе ( $61,0 \pm 0,85\%$ ). Изменения, наблюдаемые в составе лейкоформулы в виде выявленного лимфоцитоза, свидетельствует о раздражении ретикуло-эндотелиальной системы в ответ на введение вакцинных антигенов.

Отмеченные изменения являются общеизвестными и обычными реакциями поствакцинального периода при введении любого вакцинного антигена, как живого, так и инактивированного.

Повышение титра антител-агглютининов наблюдается уже через 7 дней, максимальных значений он достигает к 14-му дню после вакцинации, затем постепенно снижается. Таким образом, показатели титра специфических антител-агглютининов у животных опытной группы в течение всех сроков исследований после иммунизации животных оставались достоверно выше показателей контрольной группы.

Фагоцитарная активность нейтрофилов в ОФР начинает повышаться к 7-му дню исследования и к 14-му дню достигает максимальных значений, далее понижается. По-видимому, факторы клеточного иммунитета включаются в иммунный процесс быстрее, чем гуморальные. При этом фагоцитарная активность нейтрофилов в опытной группе во все сроки исследования выше, чем в контрольной группе.

На 7-й день после иммунизации у вакцинированных зверей наблюдается достоверное увеличение розеткообразующих клеток (Т- и В-лимфоцитов). Их максимальные значения отмечаются на 14-й день после иммунизации (Е-РОК -  $61,8 \pm 0,72\%$ , ЕАС-РОК -  $40,4 \pm 1,5\%$ ). Количество Т-лимфоцитов увеличивается к 14-му дню на  $12\%$ .

Значительно возросло к 14-му дню количество В-лимфоцитов - на  $18,3\%$ . В последующие сроки исследований количество Т- и В-лимфоцитов снижается. К

моменту последнего исследования (28 дней после вакцинации) количество Т-лимфоцитов снизилось на 4,3%, а В-лимфоцитов - на 9,7%.

Таким образом, динамика Т- и В-лимфоцитов соответствует изменениям титров антител в РА и фагоцитарной активности нейтрофилов в ОФР, отражающих специфические иммунные процессы гуморального и клеточного иммунитета к сальмонеллезу при применении как живых вакцин, так и инактивированных их аналогов.

## **2.8. Сравнительная характеристика изменений количества Т- и В-лимфоцитов у песцов, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза**

Целью явилось выявление особенностей показателей клеточных иммунных реакций у песцов, иммунизированных разными вакцинными антигенами (живым и инактивированным).

Результаты исследований показывают (рис. 3 и 4), что количество Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных пушных зверей увеличивается уже на 7-й день во всех опытных группах после введения препаратов, рост показателей продолжается до 14-го дня. Такое увеличение можно объяснить трансформацией Т-клеток под действием антигена, так как именно эти клетки с макрофагами в первую очередь распознают и связывают антиген. В остальные сроки - 21 и 28 дней после вакцинации наблюдают постепенное снижение данных показателей. Таким образом, в опытных группах зверей отмечается схожая тенденция иммунного ответа. Однако следует отметить, что количество Т- и В-лимфоцитов в группе зверей, иммунизированных живой вакциной выше, чем в случае применения инактивированного препарата. Это отмечается во все сроки исследования - на 7-й день показатели Т-лимфоцитов при применении живой вакцины выше на 6,06%, чем у животных, вакцинированных инактивированной вакциной. Через 14 дней этот показатель выше на 8,2% ( $P < 0,05$ ), а в 21 день - на 2,4%. К последнему сроку исследования количество Т-лимфоцитов выравнивается. Та же картина наблюдается и при изменении количества В-лимфоцитов. Количество ЕАС-РОК у песцов, иммунизированных живой вакциной, выше, чем у песцов, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза, через 7 дней на 4,63%, через 14 дней на 4% ( $P < 0,05$ ), через 21 день на 3,4%, через 28 дней на 2,6%. Максимальных значений количество Т-лимфоцитов достигает уже к 7-му дню после вакцинации, а пик количества В-лимфоцитов, являющихся предшественниками плазматических клеток, которые продуцируют антитела, происходит только к 14 дню. Это свидетельствует о том, что вначале происходит активация клеточного звена иммунитета, функцию которого в нашем случае выполняют Т-лимфоциты, а затем вступают в работу гуморальные факторы, определяемые функционированием В-клеток.

В результате проведенных исследований можно заключить, что вакцинный препарат на основе живых аттенуированных штаммов сальмонелл у иммунизированных им песцов вызывает более выраженный иммунный ответ, чем инактивированные его аналоги, предлагаемые сегодня для профилактики сальмонеллеза.

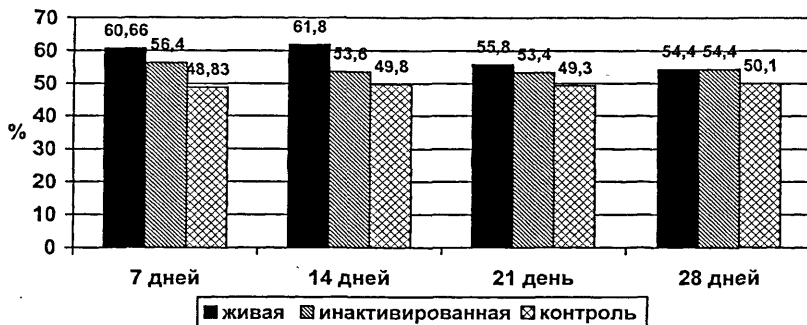


Рис. 3. Изменение количества Т-лимфоцитов у песцов, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза

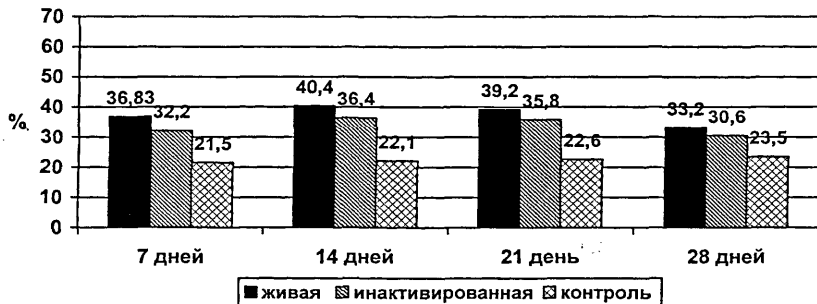


Рис. 4. Изменение количества В-лимфоцитов у песцов, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза

### 2.9. Изучение поствакцинального иммунитета у лисиц, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза

Опытные группы лисиц формировали по аналогии с группами у песцов. У лисиц при введении инактивированной вакцины наблюдается достоверное ( $P < 0,01$ ) увеличение общего количества лейкоцитов, максимальное значение которых достигается уже на 7-й день (опыт-  $8,45 \pm 0,55$  тыс/мкл, контроль-  $5,75 \pm 0,44$  тыс/мкл) после иммунизации по сравнению с невакцинированными животными. Затем к 28-му дню происходит их снижение у всех вакцинированных животных.

Достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение количества лимфоцитов происходит к 7-му дню исследований, достигающее при этом максимальных значений ( $80,5 \pm 3,96\%$ ). Затем к 28-му дню происходит снижение их количества у всех вакцинированных животных. В последующие сроки наблюдений показатели выравниваются с показателями к контрольной группе, которые характеризуют физиологическую норму.

При определении титра специфических антител в РА установлено, что он повышается уже на 7-й день и продолжает увеличиваться далее, достигая максимальных значений на 14-й день после вакцинации, затем происходит его снижение.

Показатели опсоно-фагоцитарной реакции также незначительно повышаются к 7-му дню, достигают максимальных значений на 21-й день после вакцинации, затем происходит снижение значений.

Через 7 дней после иммунизации инактивированной вакциной у лисиц наблюдается достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение количества Т-лимфоцитов ( $51,25 \pm 2,59\%$ ) по сравнению с контрольной группой ( $35,6 \pm 3,5\%$ ). Пик количества Т-лимфоцитов приходится на 14-й день (опыт-  $56,5 \pm 3,37\%$ , контроль-  $34,3 \pm 2,6\%$ ) после иммунизации. В опытной группе количество Т-лимфоцитов увеличивается к 14-му дню на 22,2%. До 28 дня происходит их снижение. К моменту последнего исследования (через 28 дней после вакцинации) их уровень снижается на 13,0%.

Увеличение В-лимфоцитов происходит уже к 7-му дню ( $28,5 \pm 1,04\%$ ), но данный показатель является недостоверным.

К 21-му дню происходит их достоверное изменение ( $36,0 \pm 0,34\%$ ) при  $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой ( $26,6 \pm 2,4\%$ ), достигающее при этом максимальных значений. Количество В-лимфоцитов увеличивается к 21-му дню - на 9,4%. К концу опыта оно снижается на 6,7%.

Числовые показатели Т- и В- лимфоцитов у иммунных лисиц заметно увеличиваются к 14-му дню, максимальных значений достигают к 21-му дню после вакцинации, а к 28-му дню происходит некоторое их снижение. Но во все сроки иммунизации, они характеризуют достаточно выраженную реакцию клеточного иммунитета, в то время как у контрольных зверей - слаболожительную, определяющую только уровень естественной резистентности.

У контрольных животных существенных изменений показателей не произошло.

## **2.10. Изучение поствакцинального иммунитета у лисиц, иммунизированных живой вакциной против сальмонеллеза**

У лисиц после иммунизации живой вакциной против сальмонеллеза наблюдается достоверное ( $P < 0,001$ ) увеличение общего количества лейкоцитов уже к 7-му дню (опыт-  $9,45 \pm 0,34$  тыс/мкл, контроль-  $5,75 \pm 0,44$  тыс/мкл), в результате ответной реакции организма на введение антигена. Общее количество лейкоцитов достигает максимальных значений к 14-му дню после иммунизации, затем происходит постепенное снижение и к 28-му дню оно соответствует показателям контрольной группы. Также к 7-му дню наблюдается увеличение количества лимфоцитов, которое достигает максимальных значений к 14-му дню исследования (опытная группа -  $84,5 \pm 0,95\%$ , контрольная группа -  $63,6 \pm 4,77\%$ ), постепенно снижаясь до 28-го дня.

Повышение титра антител-агглютининов наблюдается уже через 7 дней, максимальных значений он достигает к 14 дню после вакцинации, затем постепенно снижается. Таким образом, показатели титра специфических антител-агглютининов у животных опытной группы в течение всех сроков исследований после

иммунизации животных оставались достоверно выше показателей контрольной группы.

Фагоцитарная активность нейтрофилов в ОФР начинает повышаться к 7-му дню исследования и к 21-му дню достигает максимальных значений, далее понижается.

Достоверное увеличение количества розеткообразующих клеток у вакцинированных зверей наблюдается к 7-му дню, максимальных значений оно достигает на 14-21 дни после вакцинации. Важно отметить, что показатели Е-РОК, выявленные в группе опытных животных в первые три срока исследования, являются достоверными по сравнению с контролем, что подтверждает достаточно выраженную клеточную реакцию на введение вакцинного антигена. Количество Т-лимфоцитов увеличивается к 14-му дню на 26%, достигая при этом максимальных значений (опытная группа -  $60,25 \pm 3,54\%$ , контрольная группа -  $34,25 \pm 2,86\%$ ). К моменту последнего исследования (через 28 дней), их уровень снижается на 16,84%.

Количество В-лимфоцитов ( $43,25 \pm 2,92\%$ ) значительно возросло ( $P < 0,001$ ) на 21-й день исследования, достигая при этом максимального значения по сравнению с контрольной группой ( $26,25 \pm 2,01\%$ ). К 21-му дню количество В-лимфоцитов повышается на 16,65%. К концу опыта происходит их снижение ( $P < 0,05$ ) на 12,9%.

В контрольной группе животных существенных изменений показателей не произошло.

### **2.11. Сравнительная характеристика изменений количества Т- и В-лимфоцитов у лисиц, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза.**

Данные исследований показывают (рис. 5 и 6), что количество Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных лисиц увеличивается уже на 7-й день во всех опытных группах после введения препаратов, рост показателей продолжается до 21-го дня. К 28-му дню после вакцинации наблюдают постепенное их снижение. Количество Т- и В-лимфоцитов в группе зверей, иммунизированных живой вакциной выше, чем в случае применения инактивированного препарата. Это отмечается во все сроки исследования - на 7-й день показатели Т-лимфоцитов у живой вакцины выше на 4,25%, чем у животных, вакцинированных инактивированной вакциной, через 14 дней - на 3,75%, через 21 день - на 8,05% ( $P < 0,05$ ). Та же картина наблюдается и при изменении В-лимфоцитов. Через 7 дней увеличение количества В-лимфоцитов на 3,75%, через 14 дней на 7%, через 21 день на 7,25% ( $P < 0,05$ ), через 28 дней на 6,2% у лисиц, иммунизированных живой вакциной выше, чем у лисиц, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза. Максимальных значений количество Т-лимфоцитов достигает к 14-му дню после вакцинации, а пик количества В-лимфоцитов, являющихся предшественниками плазматических клеток, которые продуцируют антитела, происходит только к 21-й день. Это свидетельствует о том, что вначале происходит активация клеточного звена иммунитета, функцию которых в нашем случае выполняют Т-лимфоциты, а затем вступают в работу гуморальные факторы, определяемые функционированием В-клеток.

При иммунизации лисиц вакциной из аттенуированных штаммов сальмонелл в организме у животных происходят сложные иммунобиологические перестройки,



приводящие к повышению устойчивости организма, что вызывает достаточно выраженный иммунный ответ.

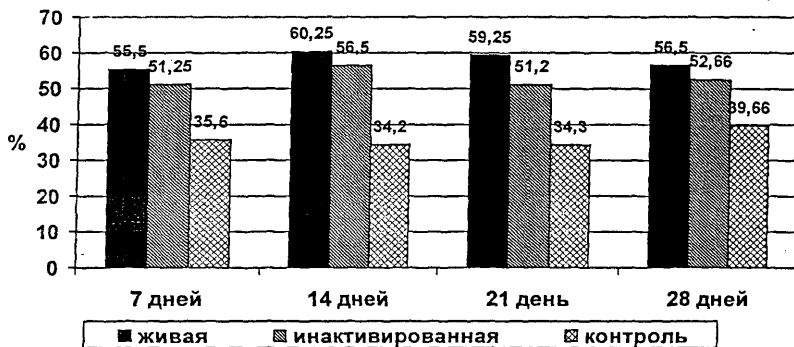


Рис. 5. Изменение количества Т-лимфоцитов у лисиц, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза.

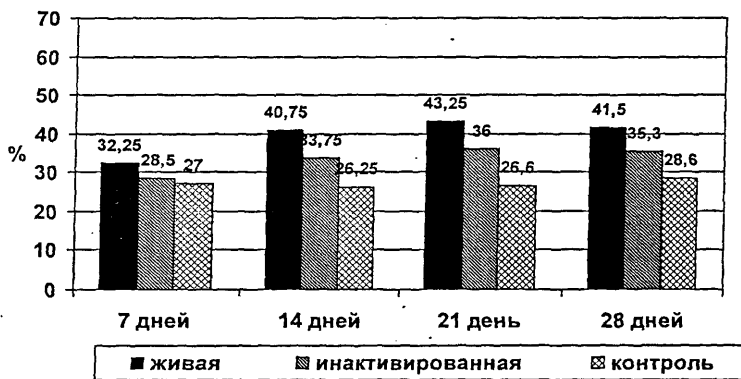


Рис. 6. Изменение количества В-лимфоцитов у лисиц, иммунизированных разными вакцинами против сальмонеллеза.

### 2.12. Динамика количества Т- и В-лимфоцитов у песцов при разных способах введения сальмонеллезных антигенов.

Для проведения работы по изучению изменений количества Т- и В-лимфоцитов после иммунизации вакциной против сальмонеллеза при разных способах введения антигенов были созданы 4 группы песцов:

1 группа – животные, иммунизированные парентеральным методом введения (внутримышечно);

2 группа - животные, иммунизированные пероральным методом введения;

3 группа - животные, иммунизированные комбинированным методом введения. Первое введение - перорально, а через 7 дней - внутримышечно.

4 группа - невакцинированные животные (контроль).

Изучение поствакцинального иммунного ответа у песцов опытных групп проводили по указанным методикам.

Анализируя материал по изучению иммунного ответа зверей на введение сальмонеллезной вакцины разными способами, можно сказать, что динамика иммунного ответа одинакова: увеличение количества лимфоцитов по сравнению с контролем происходит уже на 7-й день при всех способах введения, к 14-21 дню уровень количества Т- и В-лимфоцитов достигает максимальных значений, затем происходит его незначительное снижение.

**Парентеральная вакцинация.** При парентеральной иммунизации песцов вакцину против сальмонеллеза, содержащую аттенуированные штаммы сальмонелл, вводили внутримышечно согласно наставлению по применению. При клиническом наблюдении за животными в течение 7-ми дней после вакцинации звери оставались активными, отказа от корма и признаков нарушения пищеварения отмечено не было.

При двукратном парентеральном введении вакцины достоверное ( $P < 0,001$ ) увеличение общего количества лейкоцитов происходит на 14-й день после вакцинации (опыт -  $10,43 \pm 0,29$  тыс/мкл, контроль -  $5,2 \pm 0,26$  тыс/мкл), затем до 28-го дня происходит достоверное ( $P < 0,001$ ) их снижение по сравнению с контролем. Также наблюдается увеличение количества лимфоцитов к 7-му дню исследования, достигающее максимальных значений ( $P < 0,001$ ) к 14-му дню после иммунизации (опыт -  $82,5 \pm 2,02\%$ , контроль -  $55,3 \pm 3,93\%$ ), затем происходит его снижение.

Количество Т-лимфоцитов при парентеральном способе введения вакцины достоверно ( $P < 0,05$ ) увеличивается на 7,25% по сравнению с контролем на 7-й день, достигая максимальных значений к 14-му дню после иммунизации ( $P < 0,01$ ) (опыт -  $69,6 \pm 2,9\%$ , контроль -  $52,25 \pm 2,28\%$ ), затем происходит незначительное снижение показателя.

Количество В-лимфоцитов ( $P < 0,05$ ) увеличивается на 11,5% по сравнению с контролем на 7-й день, достигая максимальных значений к 14-му дню исследований (опыт -  $41,75 \pm 6,33\%$ , контроль -  $24,75 \pm 2,39\%$ ) при  $p < 0,05$ , затем происходит незначительное их снижение.

**Пероральная вакцинация.** Песцов иммунизировали против сальмонеллеза вакциной для орального применения, которую давали зверям с кормом согласно наставлению по применению. В течение 7 дней после вакцинации песцы оставались активными, признаков нарушения пищеварения и отказа от корма не отмечалось.

Иммунный ответ на пероральную вакцинацию зверей против сальмонеллеза, контролируемый показателями клеточного иммунитета (Т- и В-лимфоцитов) соответствует описанному выше в случае парентерального введения антигена. Практически во все сроки отмечен достоверный лейкоцитоз, лимфоцитоз, увеличение Е-РОК и ЕАС-РОК в крови вакцинированных животных по сравнению с контрольной группой.

Максимально высокий уровень ( $P < 0,001$ ) количества Е-РОК (на 12,7%) наблюдается на 21-й день ( $65,0 \pm 0,91\%$ ) после иммунизации по сравнению с контролем ( $52,3 \pm 2,76\%$ ) Значение данного показателя (Е-РОК) несколько ниже, чем при введении вакцины парентерально.

Достоверное увеличение ЕАС-РОК по сравнению с контрольной группой при пероральном способе введения вакцины наблюдается во все сроки исследования, но максимальное его значение наблюдается на 28-й день ( $50,75 \pm 2,56$  %) при  $P < 0,001$  (увеличение на 27,5%), по сравнению с контролем ( $23,25 \pm 2,65$ %). Количество В-лимфоцитов выше, чем при введении вакцины парентерально. Полученные данные свидетельствуют о том, что эффективность пероральной вакцинации стимулирует образование клеточных иммунных реакций, в виде увеличения розеткообразующих лимфоцитов, вначале Т-клеток, отвечающих за клеточный иммунитет, а позднее и В-лимфоцитов, отвечающих за гуморальный иммунитет.

**Комбинированная вакцинация.** Иммунизацию песцов комбинированным методом проводили в 2 этапа: сначала вакцинный препарат давали с кормом, затем через 10 дней вводили внутримышечно. При наблюдениях за животными никаких отклонений от физиологической нормы отмечено не было.

При комбинированном способе введения наблюдается схожая картина: выраженный лейкоцитоз, лимфоцитоз на 14-й день после иммунизации ( $P < 0,001$ ). Увеличение показателей иммунитета (Е-РОК, ЕАС-РОК) происходит во все сроки исследования, максимальных значений достигают на 14-й день после вакцинации при  $P < 0,01$  (увеличение Т-лимфоцитов происходит на 14,75%, а В-лимфоцитов на 16,25%) по сравнению с контрольной группой, затем наблюдается некоторое их снижение.

Таким образом, показатели количества Т- и В-лимфоцитов у животных опытных групп в течение всех сроков исследований после иммунизации животных оставались достоверно выше показателей контрольной группы.

Пероральный способ иммунизации создает необходимый уровень иммунного ответа для повторного парентерального введения вакцины и получения устойчивого и продолжительного иммунитета к возбудителям сальмонеллеза. Результаты проведенных исследований позволяют констатировать, что введение вакцины с комбинированным способом обладает способностью стимулировать образование иммунного ответа в организме животного.

При сравнительном анализе показателей, отмеченных у зверей, иммунизированных вакциной против сальмонеллеза разными способами следует отметить более высокие показатели Т-лимфоцитов у песцов, вакцинированных вакциной с парентеральным способом введения (рис. 7 и 8). При введении вакцины внутримышечно максимальное содержание Т-лимфоцитов на 4,6% выше, чем при пероральном методе и на 2,6%, чем при комбинированном. Но эти данные не являются достоверными.

В случае изменения количества В-лимфоцитов, максимальное их значение наблюдается у зверей, иммунизированных вакциной с пероральным способом введения. Он выше на 8,75%, чем при внутримышечном способе и на 9,5% выше чем при комбинированном. Но данная разница также не является достоверной.

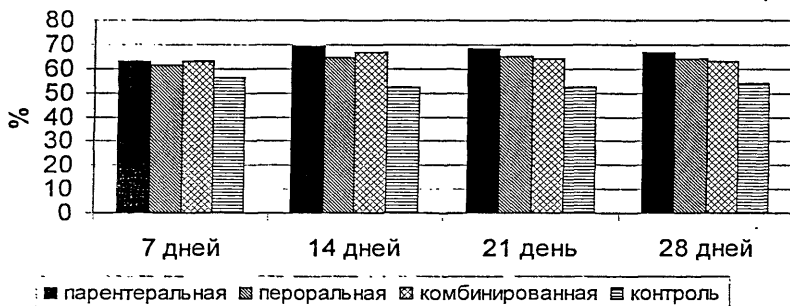


Рис. 7. Динамика количества Т-лимфоцитов у песцов, иммунизированных вакциной против сальмонеллеза разными способами введения.

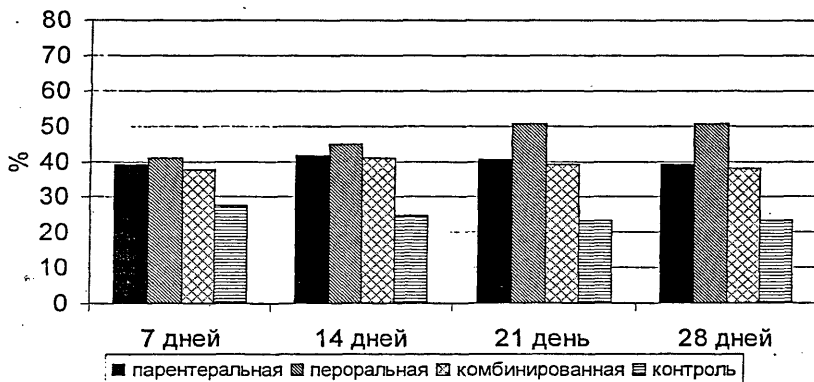


Рис. 8. Динамика количества В- лимфоцитов у песцов иммунизированных вакциной против сальмонеллеза разными способами введения.

При пероральной иммунизации живые микроорганизмы проникают в лимфатические узлы кишечника и стимулируют гуморальный, клеточный местный и системный иммунитет. Таким образом, иммуногенное воздействие на организм введенных с кормом аттенуированных штаммов сальмонелл оказалось характерной поствакцинальной реакцией организма. По напряженности поствакцинальный иммунитет к сальмонеллезу при пероральном способе вакцинации песцов не уступает парентеральному. Таким образом, нами подтверждено, что введение вакцины перорально стимулирует иммунологические реакции, которые не уступают таковым при инъекционном введении антигена.

При комбинированном способе в иммунологический процесс вовлекается большее количество участков лимфоидной системы, что обеспечивает более надежную иммуногенную эффективность.

### 3. Выводы

1. Оптимальным градиентом плотности для выделения лимфоцитов у песцов и лисиц, является смесь, состоящая из урографина-полиглюкина с плотностью 1,077-1,079г/мл. При режиме центрифугирования 400g в течение 30 минут она позволяет выделять 88-91% лимфоцитов.
2. Установлено, что лимфоциты песцов и лисиц можно дифференцировать, используя известные методы розеткообразования.
3. Определены физиологические показатели лимфоцитов, характеризующие уровень естественной резистентности и иммунного статуса организмов песцов и лисиц с учетом динамики их количества в процессе онтогенеза.
4. Выявлены видовые и возрастные особенности динамики количества Т- и В-лимфоцитов.  
Увеличение количества Т-лимфоцитов происходит до трехлетнего возраста, затем к пяти годам наблюдается постепенное их снижение, а уровень В- лимфоцитов продолжает нарастать до пяти лет.  
Установлено, что до четырехмесячного возраста у песцов по сравнению с лисицами достоверно выше уровень Т-лимфоцитов. Это свидетельствует о более раннем развитии иммунной системы у песцов.
4. Динамика количества Т- и В-лимфоцитов в крови лисиц и песцов на введение бактериального антигена представляет собой общую закономерность, выражающуюся в количественном увеличении розеткообразующих клеток к 14-21 дню после вакцинации, когда в большинстве случаев отмечаются их максимальные значения, а далее следует постепенное снижение показателей. Такая закономерность изменений Е- и ЕАС-РОК является типичной во всех случаях применения вакцин (как живых, так и инактивированных) и способах их введения в организм.
5. При применении живой вакцины из аттенуированных штаммов сальмонелл у песцов и лисиц клеточная реакция, характеризующаяся увеличением количества Т- и В-лимфоцитов более выражена. Эти показатели превосходят показатели группы животных, иммунизированных инактивированной вакциной против сальмонеллеза. Живая вакцина обладает более иммуногенными свойствами, чем ее инактивированные аналоги.
6. При разных способах вакцинации песца против сальмонеллеза отличий в интенсивности иммунного ответа в виде количественных показателей отдельных популяций лимфоцитов не выявлено. Однако при пероральном способе введения вакцины пик иммунного ответа наступает позже.
7. В ходе исследований выявлены такие общие тенденции, как увеличение в динамике Т- и В-лимфоцитов, изменения титра антител, а также фагоцитарной активности нейтрофилов. Это дает основания использовать реакции

розеткообразования в качестве дополнительных тестов, которые позволяют получить более объективную картину при изучении иммуногенных свойств вакцин.

#### ***4. Практические предложения***

1. Апробированные методы выделения и дифференцирования лимфоцитов у песцов и лисиц могут быть использованы в лабораторной работе, научной и практической деятельности ветеринарных специалистов при оценке естественной резистентности зверей, их иммунного статуса и характеристике иммунных процессов, происходящих в результате специфической иммунизации и патогенеза разных инфекционных болезней.

2. Полученные данные о состоянии иммунологической реактивности и естественной резистентности служат обоснованием необходимости включения данных тестов иммунологического мониторинга в схему комплексного обследования поголовья пушных зверей, при отборе на племя, а также в качестве дополнительных тестов для определения иммуногенности вакцинных препаратов.

3. Для применения вышеуказанных методов исследований и использования их результатов в лабораторной, научной и практической ветеринарной работе разработаны методические рекомендации по выделению лимфоцитов в градиенте плотности и по определению Т-, Та- и В-систем лимфоцитов в крови песцов и лисиц, которые рассмотрены на расширенном межлабораторном совещании отдела звероводства ГНУ ВНИИОЗ (протокол №2 от 9.10.2006 г) и направлены на рассмотрение профильных секций Российской сельскохозяйственной академии.

#### ***5. Список опубликованных работ по теме диссертации***

1. Березина Ю.А. Выделение лимфоцитов в градиенте плотности у плотоядных животных //Ю.А. Березина, И.А. Домский, З.Н. Бельтюкова //Всероссийская научно-практическая конференция «Современные проблемы диагностики и лечения болезней животных».- Киров. - 2004. - С. 7-9.
2. Березина Ю.А. Выделение лимфоцитов и динамика розеткообразующих клеток у песцов разного возраста //Ю.А. Березина, И.А. Домский //3 Международный симпозиум «Физиологические основы повышения продуктивности млекопитающих, введенных в зоокультуру».- Петрозаводск.- 2005. - С. 23-25.
3. Березина Ю.А. Динамика Т- и В- лимфоцитов у песцов и лисиц в онтогенезе //Ю.А. Березина, И.А. Домский, З.Н. Бельтюкова //Кролиководство и звероводство. - 2006.- №6. - С. 24-25.

Отпечатано в типографии КОГУЗ МИАЦ,  
г. Киров, ул. Энгельса, 82, тел. 62-10-19  
Заказ 1609. Тираж 100.

