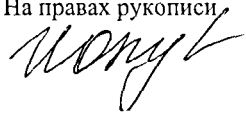


На правах рукописи



**Окулова Ираида Ивановна**

**Иммуноморфогенез у песцов,  
вакцинированных против сальмонеллёза**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных.

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунологией.

22 ОКТ 2009

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург 2009

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

**Научные руководители:** доктор ветеринарных наук, лауреат премии  
Правительства РФ в области науки и техники  
**Домский Игорь Александрович**  
кандидат ветеринарных наук, доцент  
**Разницына Валентина Анатольевна**

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
**Кудряшов Анатолий Алексеевич**  
доктор ветеринарных наук  
**Рахманина Маргарита Михайловна**

**Ведущая организация:** Государственное научное учреждение  
Научно-исследовательский институт пушного  
звероводства и кролиководства (НИИПЗК)  
им. В. А. Афанасьева Российской академии  
сельскохозяйственных наук.

Защита состоится 12 11 2009 года в 13<sup>00</sup> часов на заседании  
диссертационного совета Д 220.059.01 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская  
государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-  
Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812)3883611

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-  
Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан 10 Октября 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор ветеринарных наук

О.В. Крячко



## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Борьба с сальмонеллёзом всегда была важной и актуальной задачей, а в последнее время сальмонеллёзная инфекция широко распространена среди сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей и имеет тенденцию к дальнейшему росту (Г.Ф. Коромыслов, 1995; А.В. Жаров, Е.В. Зимина, 2001; И.А. Домский, 2003, 2004; А.Н. Панин, 2006; О.В. Мерзленко, 2006; G. Baljer, 1984; K. Berger, 1985; B.P. Smith, 1986; K. Nordstoga, 1992).

По данным В.С. Слугина (2004), переболевшие сальмонеллёзом звери в 85% случаев остаются бактерионосителями. В связи с этим, большое значение имеют мероприятия, направленные на своевременную специфическую профилактику, снижение и ликвидацию потерь животных от сальмонеллёза.

В последние годы в России и за рубежом для профилактики сальмонеллёза сельскохозяйственных животных и птицы все чаще применяют аттенуированные штаммы сальмонелл (Б.Ю. Шустер, 1988; Б.Ю. Шустер с соавт., 1994; V.L. Cooper, 1989; K. Onozuka, 1989; M. Nakamura, 1985).

В целях совершенствования профилактических сальмонеллёзных препаратов, применяющихся в звероводстве, были использованы вакцины на основе аттенуированных штаммов сальмонелл и с успехом испытаны на пушных зверях (И.А. Домский, А.Н. Кульминский, 2000; И.А. Домский, 2002, 2003; З.Н. Бельтюкова, 2006).

Применение вакцины из аттенуированных штаммов сальмонелл позволило апробировать разные способы ее введения животным, в том числе и пероральный. Указанный способ широко применяется для иммунизации человека и сельскохозяйственных животных (В.В. Никольский, 1968; А.А. Воробьев, 1973; А.В. Гайдамака, 1990; В.С. Прудников, 1991; Н.И. Rettig, 1971; P. Porter et al., 1975; G. Borsch, 1984; G. Vulger e.a., 1986). Более того, в ходе научных исследований был предложен и комбинированный способ, представляющий сочетание перорального и парентерального способов введения антигенов, что позволяет вовлечь в иммунологический процесс большее количество участков лимфоидной системы и обеспечить более напряженный иммунитет (А. Н. Мешалова, 1974; В. П. Бойко, 1977; Б.Б. Першин, 1980).

Таким образом, разработка новых средств и способов специфической профилактики и их внедрение в практику требует всестороннего изучения изменений, происходящих в организме животного в поствакцинальный период. Оценка состояния органов иммунной системы после иммунизации заключается в выявлении специфических иммунных процессов, происходящих в организме животного после введения антигенов.

После иммунизации в органах иммунной системы возникает ряд иммуноморфологических изменений, с которыми связывают естественную резистентность, постинфекционный и поствакцинальный иммуногенез (С.И. Гинзбург-Кашнина, 1960; П.Ф. Здравовский, 1963, 1969; Ф. Бернет, 1971; К.М. Батуев, 1979; Б.Б. Першин, 1980; Ю.А. Бородин с соавт., 1987; A. Fioretti, 1961).

В доступной нам литературе сведений об иммуноморфологических исследованиях пушных зверей после иммунизации мы не обнаружили. Получение данных, характеризующих иммуногенную активность вакцинного препарата совместно с изучением иммуноморфологических изменений в органах иммунной

системы песцов при вакцинации, является актуальным и важным направлением в изучении поствакцинального иммуноморфогенеза.

Основанием для выполнения исследований явилось соответствующее задание Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия России (письмо № 13-4-19/266 от 17.04.1996 г.), а также программа фундаментальных и приоритетных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации на 2001-2005 г.г., 2006-2010 г.г., программы и планы научно-исследовательских работ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. проф. Б.М. Житкова Российской академии сельскохозяйственных наук.

**Цель и задачи исследования.** Цель - изучение иммуноморфогенеза у песцов, вакцинированных разными способами против сальмонеллёза вакциной, содержащей аттенуированные штаммы сальмонелл.

**Задачи:**

1. Изучить иммунологические процессы у песцов, вакцинированных против сальмонеллёза.
2. Изучить иммуноморфогеenez у песцов после вакцинации.
3. Провести сравнительный анализ результатов иммунного ответа у песцов, полученных после вакцинации против сальмонеллёза разными способами.
4. Дать научно обоснованные рекомендации по вакцинации зверей против сальмонеллёза в ветеринарной практике звероводства.

**Научная новизна.** Впервые получены комплексные данные, характеризующие иммунологические и морфологические процессы в организме песцов, вакцинированных против сальмонеллёза, вакциной из аттенуированных штаммов сальмонелл. В динамике показаны гематологические, биохимические, серологические, иммунологические, морфологические и морфометрические изменения в органах иммунной системы зверей после вакцинации. Впервые проведены иммуногистохимические исследования с использованием маркеров Polyclonal Rabbit Anti – Human к CD<sub>3</sub> T- клеток.

**Практическая значимость.** На основании проведенных исследований изучены процессы иммуноморфогенеза в организме песцов, вакцинированных разными способами, и даны рекомендации по их практическому применению в ветеринарной практике звероводства. Полученные данные могут быть использованы в практической иммунологии и морфологии как дополнительные методы лабораторной оценки поствакцинального иммунитета для более объективной оценки реактогенности, безвредности и иммуногенной активности вакцинных препаратов и способов их введения.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были представлены и обсужданы на следующих конференциях и совещаниях: на Международной научно-практической конференции //Теоретические и практические вопросы ветеринарной медицины/, посвящ. 90-летию со дня рожд. д-ра вет. наук, проф. В.А. Лыжиной (Киров, 2007); на II Международной научно-практической конференции //Вопросы физиологии, содержания, кормопроизводства и кормления, селекции с-х животных, биологии пушных зверей и птиц, охотоведения/ (Киров, 2008); на Международной научно-практической

конференции //Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях/ (Воронеж, 2008); на межлабораторном научно-производственном совещании отдела звероводства (Киров, 2009).

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- результаты иммунологических исследований, характеризующие поствакцинальный иммунитет;
- результаты иммуноморфогенеза в органах иммунной системы у песцов после вакцинации;
- результаты сравнительного анализа поствакцинальных изменений при разных способах введения вакцины.

**Публикации.** Диссертантом по теме диссертации опубликованы 5 научных работ, в которых изложены основные результаты проведенных исследований. Работы опубликованы в материалах международных научных конференций, а также в научных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ (2 публикации).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 146 страницах печатного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических предложений, списка используемой литературы. Работа проиллюстрирована 24 таблицами, 54 рисунками (из них 39 фотографий). Список используемой литературы включает 236 источников, в том числе 52 на иностранных языках.

## 2. Материалы и методы исследований

Научные исследования проводили в период с 2003 по 2008 годы в лаборатории ветеринарии ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства (ВНИИОЗ) им. проф. Б.М. Житкова Россельхозакадемии, в ОАО Зверохозяйство «Вятка», в Научно-производственном объединении «Пушнина» Кировской области.

### 2.1 Материалы для исследований

Для проведения исследований использовали песцов вуалевых (*Alopex lagopus*) семейства Canidae в количестве 450 животных в возрасте 5 месяцев. Песцов разделили на 3 экспериментальных группы по принципу аналогов.

*Первую группу* вакцинировали перорально двукратно с интервалом в 14 дней. Иммунизирующую дозу вакцины добавляли в корм и смешивали. Зверей предварительно выдерживали на суточной голодной диете в целях полного поедания корма.

*Вторую группу* вакцинировали комбинированным способом. Вначале использовали вакцину для пероральной иммунизации, затем через 14 дней использовали вакцину для парентеральной вакцинации.

*Третью группу* животных не вакцинировали, зверей использовали в качестве контроля.

Для вакцинации зверей использовали сухую вакцину против сальмонеллёза пушных зверей из аттенуированных штаммов для оральной иммунизации (ТУ 9484-041-00494189-01) и для парентерального введения (ТУ № 9384-105-00494189-03), приготовленную из вакцинных штаммов, депонированных в России. Вакцины получены из Федерального государственного учреждения Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных

средств для животных и кормов (ФГУ «ВГНКИ», г. Москва). Для изготовления вакцин использовались следующие вакцинные (аттенуированные) штаммы сальмонелл: *Salmonella typhimurium* № 3; *Salmonella dublin* № 6; *Salmonella cholerae suis* № 9. Вирулентный штамм сальмонелл *Salmonella typhimurium* № 371 использовали для постановки опсоно-фагоцитарной реакции (ОФР), реакции агглютинации (РА).

Все вакцины применяли согласно наставлений по их применению, утвержденные в установленном порядке.

## 2.2 Методы исследований

**Гематологические методы.** Кровь для проведения исследований у опытных животных брали из плюсовой вены бедра до начала опытов и через 7, 14, 21, 28 дней после вакцинации. Определение количества клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов) проводили по общепринятой методике с использованием камеры Горяева. Для выведения лейкоцитарной формулы мазки окрашивали по Романовскому-Гимза. Определение гемоглобина проводили по Г.В. Дервизу и А.И. Воробьеву в модификации Х.О. Григорьевой и Н.Н. Каценельсон. Определение гематологических показателей проводили согласно общепринятым методикам, описанным в соответствующих руководствах В.А. Берестова (1980, 2005).

**Биохимические методы.** Общий белок и его фракции в сыворотке крови определяли нефелометрическим методом по В.Я. Антонову (1971). Лизоцимную активность сыворотки крови исследовали по В.Г. Дорофейчуку (1968). В качестве стандарта для определения лизоцима в испытуемом материале служила культура *Mycrococcus lysodeikticus*.

**Серологические методы.** Реакцию агглютинации для определения титров специфических антител-агглютининов к возбудителям сальмонеллэза ставили по Б. И. Антонову (1991). Определение среднегеометрического титра антител в сыворотке крови зверей проводили по Лярски (В.Н.Сюрин с соавт., 1984).

**Иммунологические методы.** Опсоно-фагоцитарную реакцию ставили по А.С. Лабинской (1978). Для оценки опсоно-фагоцитарной реакции использовали числовой показатель В.А. Штритера, представляющий собой сумму произведений, полученных в результате перемножения количества лейкоцитов на число соответствующих им плюсов, характеризующих интенсивность фагоцитоза.

**Морфологические методы.** Для изучения иммуноморфогенеза брали по 20 зверей из каждой опытной группы и забивали по 5 голов через 7, 14, 21 и 28 дней после вакцинации. Для контроля использовали 5 песцов. В качестве материала для исследований у зверей отбирали кусочки тимуса, глоточных миндалин, нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлов, селезенки, отделы стенок тонкой и толстой кишок. Материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина и обрабатывали по методикам Р. Лилли (1969), А.И. Кононского, (1976), Г.А. Меркулова (1969). Изготовление гистосрезов проводили на санном микротоме. Для оценки клеточного состава использовали парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм, окрашенные гематоксилином Майера и эозином. Иммуногистохимические исследования проводили с использованием маркеров Polyclonal Rabbit Anti- Human к CD<sub>3</sub> Т-клеток по С.В. Петрову и Н.Г. Райхмину (2004).

При гистологическом исследовании определяли размеры и количество лимфоидных узелков в глоточных миндалинах, нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлах, селезёнке. Определяли в них клеточный состав, подсчитывали количество иммунобластов, плазмобластов, незрелых и зрелых плазмочитов. В срезах тимуса изучали размеры коркового и мозгового слоев, количество лимфоцитов и телец Гассала. Исследования проводили с использованием винтового окуляр-микрометра МОВ-1-15 (мкм x 15) по Г.Г. Автандилову (1991,1993). Подсчет клеточных элементов проводили по зонам в 10 полях зрения, выбранных произвольным передвижением препарата под микроскопом МБИ-3У42, объектив 100/1.25.OIL, окуляр WF 10x18, с окулярной измерительной сеткой для цито-стереометрических исследований, предложенной Г.Г. Автандиловым (1991). Идентификацию клеток проводили по Г.С. Катинас (1981). Обнаруженные изменения фотографировали с использованием видеосистемы DIGITAL (Japan).

*Статистические методы.* Статистическая обработка цифровых материалов проводилась на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ «Statgnaphics» и «HG» по Стьюденту (А.А. Воробьев, 1962, Г.Ф. Лакин, 1981).

### 3. Результаты собственных исследований

#### 3.1 Результаты изучения поствакцинального иммунного ответа у песцов после пероральной иммунизации

*3.1.1 Гематологические исследования.* У вакцинированных песцов отмечали выраженный лейкоцитоз и лимфоцитоз на 14 день после вакцинации. Количество лейкоцитов увеличилось на 44,3% и составило  $7,75 \pm 0,56$  тыс/мкл (в контрольной группе -  $5,37 \pm 0,47$  тыс/мкл ( $P < 0,05$ )), количество лимфоцитов - на 24,5% и составило  $70,0 \pm 0,14$  % по сравнению с контрольной группой ( $56,2 \pm 1,82$  % ( $P < 0,001$ )). Содержание гемоглобина и эритроцитов во все сроки исследований оставались на уровне, близком к показателям в контроле.

*3.1.2 Биохимические исследования.* Исследования белка и белковых фракций в сыворотке крови иммунизированных песцов показали, что на 14 день наблюдали максимальное увеличение содержания общего белка на 31,5 % до  $8,5 \pm 0,27$  г % по сравнению с контролем ( $6,46 \pm 0,05$  г% ( $P < 0,001$ )),  $\gamma$ -глобулинов — на 64% до  $21,0 \pm 0,87$  % (в контроле -  $12,8 \pm 0,2$  % ( $P < 0,01$ )),  $\beta$ -глобулинов - на 9,6 % ( $P < 0,001$ ) в контроле  $15,5 \pm 0,22$ %, при уменьшении количества альбуминов на 20 %. В последующие сроки исследований после иммунизации зверей эти показатели снизились, но оставались достоверно выше, чем в контрольной группе зверей.

В ходе оценки факторов неспецифического иммунитета отмечено увеличение лизоцимной активности сыворотки крови у вакцинированных зверей, которая достигла максимальных значений на 14 день после вакцинации на 26,4 % и составила  $45,0 \pm 1,14$ % по сравнению с контролем ( $35,6 \pm 1,42$  % ( $P < 0,001$ )). В последующие сроки после иммунизации показатели у песцов постепенно снижались.

*3.1.3 Серологические исследования.* Во все сроки исследований у вакцинированных песцов отмечено увеличение специфических антител-

агглютининов в сыворотке крови. Максимальное значение титра специфических антител в сыворотке крови у песцов наблюдали через 14 дней после иммунизации. Их количество превышало контрольный уровень в 33 раза (403,17). Через 28 дней после иммунизации песцов активность антителообразования снижалась, но оставалась в 10 раз выше показателей контрольной группы.

Таким образом, установлено, что вакцинный препарат на основе живых аттенуированных штаммов сальмонелл у иммунизированных песцов активно стимулирует процесс формирования специфических антител.

**3.1.4 Иммунологические исследования.** Показатель Шриттера в опсонофагоцитарной реакции достиг максимальных значений уже на 7 день после вакцинации и составил  $30,0 \pm 1,2$  % (в контрольной группе -  $17,5 \pm 0,33$  % ( $P < 0,001$ )), затем отмечено его снижение. Через 28 дней после иммунизации животных активность фагоцитоза снизилась до уровня показателей контрольной группы. Очевидно, что факторы клеточного иммунитета включались в иммунный процесс быстрее, чем гуморальные. В данном случае показатель фагоцитарной активности нейтрофилов можно считать специфическим, так как при постановке реакции ОФР в качестве тест объекта микроорганизма использовали вирулентный штамм *Salmonella typhimurium* № 371.

### **3.2 Иммуноморфогенез у песцов после пероральной иммунизации**

**3.2.1 Иммуноморфогенез в тимусе.** При гистологическом исследовании тимуса песцов после вакцинации наблюдали четкое деление органа на дольки. Через 7 дней после иммунизации ширина корковой зоны долек тимуса составила  $330,2 \pm 16,2$  мкм, что в 1,4 раза больше, чем в контроле ( $223,2 \pm 16,2$  мкм ( $P < 0,01$ )). Количество лимфоцитов в корковом слое (выраженное в рядах клеток) увеличилось в 1,3 раза и составило  $33,4 \pm 2,23$  по сравнению с контролем ( $24,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,01$ )).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров Polyclonal Rabbit Anti - Human к CD<sub>3</sub> на наличие Т-клеток отмечали положительную реакцию (слабоположительную в контроле). Т-клетки скапливались как в корковой, так и в мозговой зоне долек тимуса.

На 14 день после иммунизации песцов в мозговой зоне тимуса наблюдали увеличение количества лимфоцитов в 1,3 раза ( $26,0 \pm 0,31$ ) по сравнению с контролем ( $19,5 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ )), теляц Гассалья - в 1,5 раза ( $3,6 \pm 0,2$ ) (в контроле  $2,4 \pm 0,24$  ( $P < 0,01$ )). В последующие сроки отмечали, что количество лимфоцитов как в корковой, так и в мозговой зоне тимуса существенно снизилось, что свидетельствует об активной миграции клеток за пределы органа. По мнению Л.В. Белецкой и Э.В. Гнездицкой (1986), структурно-функциональные особенности тимуса создают оптимальные условия микроокружения для пролиферации, дифференцировки и селекции субпопуляций Т-клеток.

**3.2.2 Иммуноморфогенез в глоточных миндалинах.** При гистологическом исследовании глоточных миндалин хорошо различима дифференцирующая лимфоидная ткань. При иммуноморфологическом исследовании через 7 дней после иммунизации песцов отмечали, что количество лимфоидных узелков увеличилось в 1,4 раза по сравнению с контролем ( $7,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,01$ )) и



составило  $10,4 \pm 0,78$ , а их диаметр - в 1,4 раза, (до  $570,6 \pm 12,4$  мкм) по сравнению с контрольным уровнем ( $412,7 \pm 19,6$  мкм ( $P < 0,001$ )). Под капсулой и в центре лимфоидных узелков наблюдали увеличение числа иммунобластов в 1,3 раза ( $16,1 \pm 0,25$ ) по сравнению с контролем ( $11,7 \pm 0,35$  ( $P < 0,001$ )).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров к CD<sub>3</sub> отмечали скопление Т-клеток под капсулой, в межузелковом пространстве и в центре лимфоидных узелков.

На 14 день после вакцинации песцов в межузелковом пространстве миндалин наблюдали плазмоцитарную реакцию, характеризующуюся увеличением количества плазмобластов, незрелых и зрелых плазмоцитов в 1,4 раза ( $P < 0,001$ ). Количество плазмобластов увеличилось до  $15,9 \pm 0,22$  (в контроле -  $11,3 \pm 0,41$  ( $P < 0,001$ )). Число незрелых плазмоцитов составило  $23,2 \pm 0,37$ , количество зрелых плазмоцитов -  $22,6 \pm 0,51$  ( $P < 0,001$ ). В последующие сроки исследований эти показатели снижались.

*3.2.3 Иммуноморфогенез в нижнечелюстных лимфатических узлах.* В корковом слое нижнечелюстных лимфатических узлов хорошо просматривались первичные и вторичные лимфоидные узелки. Мякотные шнуры были утолщены за счет скопления лимфоцитов. В мозговых синусах узла отмечали скопление лимфоцитов, макрофагов и ретикулярных клеток. На 7 день после вакцинации песцов в центре лимфоидных узелков и в периузелковой зоне отмечали увеличение количества иммунобластов в 1,3 раза ( $16,2 \pm 0,32$ ) по сравнению с контролем ( $12,2 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ )).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров к CD<sub>3</sub> Т-клеток реакция была положительной. Скопление Т-клеток отмечалось в паракортикальной зоне и в центре первичных и вторичных лимфоидных узелков.

Через 14 дней после введения вакцинного препарата число вторичных лимфоидных узелков увеличилось в 1,5 раза и составило  $9,4 \pm 0,87$  (в контрольной группе -  $6,2 \pm 0,31$  ( $P < 0,01$ )), а их диаметр - в 1,4 раза ( $412,5 \pm 4,14$  мкм) по сравнению с контролем ( $291,7 \pm 7,79$  мкм ( $P < 0,001$ )). При этом ширина коркового слоя увеличилась в 1,4 раза (до  $544,6 \pm 16,3$  мкм) по сравнению с контролем ( $370,0 \pm 17,62$  мкм ( $P < 0,001$ )). В мякотных тяжах узла отмечали плазмоцитарную реакцию, которая характеризовалась увеличением количества плазмобластов в 1,5 раза ( $15,4 \pm 0,23$ ) в сравнении с контролем ( $10,3 \pm 0,21$  ( $P < 0,001$ )), незрелых плазмоцитов - в 1,3 раза ( $22,8 \pm 0,58$ ) в сравнении с контролем ( $17,2 \pm 0,21$  ( $P < 0,001$ )). На 21 день после иммунизации песцов отмечали, что основную массу клеток составляли зрелые плазмоциты, количество которых увеличилось по сравнению с контрольным уровнем в 1,4 раза ( $23,4 \pm 0,40$ ). Через 28 дней после иммунизации показатели снизились.

*3.2.4 Иммуноморфогенез в селезенке.* При гистологическом исследовании селезенки у песцов через 7 дней после иммунизации наблюдали формирование первичных лимфоидных узелков, количество которых увеличилось в 1,4 раза по сравнению с контролем ( $7,8 \pm 0,37$  ( $P < 0,001$ )) и составило  $11,2 \pm 0,51$ . В центре лимфоидных узелков скапливались иммунобласты, их число увеличилось в 1,3 раза ( $21,2 \pm 0,32$ ) по сравнению с контролем ( $16,2 \pm 0,33$  ( $P < 0,001$ )).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров CD<sub>3</sub> Т-клеток реакция положительная. Т-клетки скапливались в периартериальной зоне узелка и в красной пульпе селезенки. На 14 день после иммунизации песцов отмечали, что количество вторичных лимфоидных узелков по сравнению с контролем (13,6±0,24) увеличилось в 1,4 раза и составило 20,1±0,70 (P<0,001), а их диаметр - в 1,5 раза (424,3±18,16 мкм) (в контроле 271,28±12,13 мкм (P<0,001)). В красной пульпе селезенки наблюдали скопление плазмобластов и незрелых плазмоцитов, число которых увеличилось в 1,3 раза: плазмобластов - до 25,3±0,21, незрелых плазмоцитов - до 33,8±0,60 по сравнению с контрольным уровнем соответственно 18,4±0,3 и 25,8±0,31 (P<0,001). В эти же сроки в сыворотке крови увеличился титр антигел-агглютининов в РА.

Через 21 день после иммунизации песцов отмечали, что количество вторичных лимфоидных узелков в селезенке и их диаметр по-прежнему превышали контрольный уровень в 1,3 раза (P<0,001). Через 28 дней после иммунизации песцов количество лимфоидных узелков с герминативным центром и их диаметр уменьшились, уменьшилось и общее количество иммунокомпетентных клеток в ткани селезенки.

*3.2.5 Иммуноморфогенез в лимфоидной ткани кишечника.* Наиболее выраженные изменения наблюдали в собственной пластинке тощей и подвздошной кишок. При гистологическом исследовании лимфоидной ткани тонкой кишки в собственной пластинке отмечали формирование лимфоидных узелков. Мелкие лимфоидные узелки целиком лежали в собственной пластинке, более крупные проникали через мышечную пластинку в подслизистую основу. В центре лимфоидных узелков отмечали скопление иммунобластов, а под эпителием в куполе узелков – плазмобластов; в подслизистом слое собственной пластинки скапливались сегментоядерные нейтрофилы и клетки с фигурами митоза, а также незрелые и зрелые плазмоциты. Зрелые плазмоциты также встречались в строме ворсинок и под эпителием крипт вблизи сосудов.

На 7 день после иммунизации песцов отмечали, что основную массу клеток составляли иммунобласты. В лимфоидных узелках тощей кишки количество иммунобластов увеличилось в 1,7 раза по сравнению с контролем (14,2±0,43 (P<0,001)) и составило 24,1±0,31, в стенке подвздошной кишки - в 1,9 раза (29,8±0,43), в контроле 15,2±0,34 (P<0,001).

Через 14 дней после вакцинации песцов, в период наибольшей иммунной активности, отмечали миграцию клеток из купола лимфоидного узелка в толщу эпителия. В стенке собственной пластинки слизистой оболочки тощей кишки количество плазмобластов по сравнению с контролем (10,1±0,14) увеличилось в 1,8 раза и составило 19,1±0,23 (P<0,001), в стенке подвздошной кишки - в 1,9 раза (до 20,6±0,57), в контроле 10,4±0,23 (P<0,001). Количество незрелых плазмоцитов в стенке тощей кишки составило 20,8±0,37, что в 1,4 раза больше, чем в контроле (14,6±0,24 (P<0,001)); в стенке подвздошной кишки - в 1,5 раза (30,2±0,35), по сравнению с контролем (19,0±0,31 (P<0,001)). На 28 день после вакцинации песцов в стенке собственной пластинки тощей кишки отмечали максимальное увеличение количества зрелых плазмоцитов в 2 раза (до 27,2±0,31) по сравнению с контрольной группой (12,4±0,27 (P<0,001)), в

подвздошной кишке - до  $37,8 \pm 0,31$  по сравнению с контрольной группой ( $17,4 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ )).

При гистологическом исследовании лимфоидной ткани толстой кишки отмечали скопление иммунобластов и плазмобластов в центре лимфоидных узелков, а незрелых плазмочитов - в куполе узелка и его короне. Количество незрелых и зрелых плазмочитов увеличивалось в подслизистом слое и в строме ворсинок собственной пластинки. Через 7 дней после иммунизации зверей в центре вторичных лимфоидных узелков отмечали скопление иммунобластов, их количество увеличилось в 2 раза: в слепой кишке - до  $32,2 \pm 0,34$  (в контроле  $15,8 \pm 0,43$  ( $P < 0,001$ )), в ободочной кишке - до  $26,3 \pm 0,35$  (в контроле  $13,2 \pm 0,25$  ( $P < 0,001$ )).

На 14 день после иммунизации песцов наблюдали, что число плазмобластов в стенке слепой кишки составило  $19,1 \pm 0,22$ , что в 1,4 раза больше, чем в контроле ( $13,6 \pm 0,43$  ( $P < 0,001$ )), в стенке ободочной кишки - в 2 раза больше ( $22,2 \pm 0,34$ ) по сравнению с контролем ( $10,3 \pm 0,32$  ( $P < 0,001$ )). На 21 день после иммунизации песцов наблюдали, что число незрелых плазмочитов увеличилось: в стенке слепой кишки - в 1,4 раза ( $25,6 \pm 0,51$ ), в контроле  $17,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,001$ ), в стенке ободочной кишки - в 1,9 раза ( $35,0 \pm 0,31$ ), в контроле  $17,8 \pm 0,58$  ( $P < 0,001$ ). Максимальное увеличение количества зрелых плазмочитов отмечали на 28 день после иммунизации песцов: в стенке слепой кишки - в 1,4 раза ( $23,8 \pm 0,37$ ), в контроле  $17,2 \pm 0,20$  ( $P < 0,001$ ), в стенке ободочной кишки - в 2 раза ( $33,4 \pm 0,20$ ), в контроле  $15,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,001$ ).

### **3.3 Результаты изучения поствакцинального иммунного ответа у песцов после комбинированного способа иммунизации**

**3.3.1 Гематологические исследования.** При гематологическом исследовании лейкоцитоз и лимфоцитоз отмечали у песцов на 14 день после вакцинации. Количество лейкоцитов по сравнению с контролем увеличилось на 58,2 % и составило  $8,5 \pm 0,81$  тыс/мкл ( $P < 0,001$ ), лимфоцитов - на 26,5 % и составило  $71,1 \pm 2,13\%$  ( $P < 0,001$ ). В последующие сроки исследований показатели снизились, но оставались достоверно выше, чем в контрольной группе зверей.

**3.3.2 Биохимические исследования.** При исследовании белков сыворотки крови максимальное содержание общего белка и его фракций ( $\gamma$ - и  $\beta$ -глобулинов) выявлено на 14 день после иммунизации: общий белок по сравнению с контролем ( $6,46 \pm 0,05$  г%) увеличился на 40 % и составил  $8,92 \pm 0,09$  г% ( $P < 0,001$ ),  $\gamma$ -глобулинов - на 97,6 % (до  $25,3 \pm 0,42\%$ ), в контроле  $12,8 \pm 0,2$  % ( $P < 0,001$ ). В последующем на 21 и 28 дни после вакцинации показатели снизились. Увеличение в сыворотке крови количества общего белка и  $\gamma$ -глобулинов свидетельствует о повышенной иммунобиологической реактивности организма.

Максимальное значение лизоцимной активности сыворотки крови у иммунизированных животных отмечали на 14 день после вакцинации. Она была на 39 % ( $49,6 \pm 1,51\%$ ) выше по сравнению с контролем ( $34,7 \pm 1,35\%$  ( $P < 0,01$ )). В более поздние сроки её показатели в опытной группе снизились до уровня контрольной группы.

**3.3.3 Серологические исследования.** Повышение титров антител-агглютининов в сыворотке крови у вакцинированных зверей было отмечено уже через 7 дней после вакцинации, и они были значительно выше, чем в

контрольной группе. Максимальных значений титры специфических антител-агглютининов в сыворотке крови вакцинированных животных достигали на 14 день после иммунизации, они увеличились в 38 раз (452,54). Затем показатели постепенно снижались, но оставались в несколько раз выше, чем в контрольной группе (10,0-14,14).

*3.3.4 Иммунологические исследования.* Показатель Штритера в опсоно-фагоцитарной реакции максимальных значений достиг на 7 день после вакцинации по сравнению с контролем (16,5±1,36) и составил 40,5±1,9 (P<0,001). Опсоно-фагоцитарная активность нейтрофилов во все сроки исследований у иммунизированных животных также оставалась достоверно выше, чем у не вакцинированных зверей, что свидетельствует о повышении защитных сил организма к инфекционному агенту и об активной иммунной перестройке в организме животных.

#### *3.4 Иммуноморфогенез у песцов после комбинированного способа иммунизации*

При вакцинации песцов против сальмонеллеза комбинированным способом в органах иммунной системы животных произошли аналогичные иммуноморфологические изменения, описанные нами у песцов после пероральной иммунизации, но имелись некоторые отличия.

*3.4.1 Иммуноморфогенез в тимусе.* Субкапсулярные и междольковые сосуды тимуса расширены, заполнены кровью. В некоторых долях границы между корковой и мозговой зоной были стерты. В корково-мозговом слое долек тимуса формировались лимфоидные узелки, наружный ободок которых состоял из выстроенных в ряды лимфоцитов. На 7 день после иммунизации в корковой зоне тимуса увеличилось количество лимфоцитов (выраженное в рядах клеток) в 1,4 раза по сравнению с контролем 24,2±0,56 (P<0,001) и составило 35,8±0,62. Ширина корковой зоны тимуса по сравнению с контролем (223,2±16,2) была увеличена в 1,8 раза и составила 413,4±8,3 мкм (P<0,001).

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров Polyclonal Rabbit Anti – Human к CD<sub>3</sub> Т-клеток, отмечали их скопление как в корковом, так и в мозговом слоях тимуса.

На 14 день после вакцинации песцов отмечали, что количество лимфоцитов в мозговой зоне увеличилось в 1,4 раза и составило 29,2±0,43 по сравнению с контролем 19,5±0,37 (P<0,001), телец Гассала - в 1,5 раза (3,7±0,33) по сравнению с контролем 2,4±0,24 (P<0,001). Ширина мозговой зоны долек тимуса по сравнению с контролем (256,4±13,3 мкм) увеличилась в 1,4 раза и составила 369,5±11,49 мкм (P<0,001). В последующие сроки исследований вышеуказанные показатели снизились, но остались достоверно выше показателей контрольной группы. Таким образом, анализируя полученные данные, можно отметить, что вакцинация песцов комбинированным способом оказывает выраженное иммуностимулирующее действие на корково-мозговую часть тимуса.

*3.4.2 Иммуноморфогенез в глоточных миндалинах.* Наблюдалась гиперемия межузелковых капилляров глоточных миндалин. На 7 день после иммунизации зверей отмечали, что количество лимфоидных узелков по сравнению с контролем увеличилось в 1,2 раза и составило 8,9±0,24; количество иммунобластов - в 1,2 раза (14,5±0,35 (P<0,001)).

Таким образом, установлено, что комбинированное введение вакцины активизировало клеточную пролиферацию и гиперплазию лимфоидных узелков в глоточных миндалинах.

*3.4.3 Иммуноморфогенез в нижнечелюстных лимфатических узлах.* В нижнечелюстных лимфатических узлах наблюдали диapedез эритроцитов и гиперемии в краевых, промежуточных и мозговых синусах. Через 7 дней после иммунизации зверей в лимфатических узлах отмечали формирование первичных лимфоидных узелков, количество которых увеличилось в 1,8 раза ( $P < 0,001$ ), а количество вторичных лимфоидных узелков - в 2 раза ( $14,4 \pm 0,75$ ) по сравнению с контролем ( $6,0 \pm 0,31$  ( $P < 0,001$ )). В центре вторичных лимфоидных узелков и в краевых синусах отмечали скопление иммунобластов, количество которых по сравнению с контролем ( $12,2 \pm 0,21$ ) увеличилось в 1,4 раза и составило  $17,3 \pm 0,34$  ( $P < 0,001$ ).

На 14 день после вакцинации зверей в мягкотных тьяжах и мозговых синусах узлов скапливались клетки плазмоцитарного ряда: количество плазмобластов увеличилось в 1,5 раза ( $16,3 \pm 0,34$ ), в контроле  $10,3 \pm 0,22$  ( $P < 0,001$ ), незрелых плазмоцитов - в 1,4 раза ( $24,4 \pm 0,32$ ), в контроле  $17,2 \pm 0,21$  ( $P < 0,001$ ), зрелых плазмоцитов - в 2,4 раза ( $38,6 \pm 0,2$ ), в контроле  $16,7 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ ). Далее количество вторичных лимфоидных узелков с герминативным центром уменьшилось, а также сократилось число зрелых плазмоцитов, что говорит об угасании иммунных процессов.

*3.4.4 Иммуноморфогенез в селезенке.* На 7 день после иммунизации песцов наблюдали формирование первичных лимфоидных узелков, количество которых по сравнению с контролем ( $7,8 \pm 0,37$ ) увеличилось в 1,6 раза и составило  $12,8 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ ). В центре лимфоидных узелков и в периартериальной зоне отмечали увеличение количества иммунобластов в 1,8 раза (до  $29,4 \pm 0,32$ ) по сравнению с контролем ( $16,2 \pm 0,31$  ( $P < 0,001$ )). Через 14 дней после иммунизации диаметр вторичных лимфоидных узелков по сравнению с контролем ( $271,2 \pm 12,3$  мкм) увеличился в 1,2 раза и составил  $338,2 \pm 15,9$  мкм ( $P < 0,001$ ), а их количество возросло в 1,9 раза ( $26,2 \pm 0,58$ ) по сравнению с контролем ( $13,6 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ )). В красной пульпе селезенки отмечали выраженную плазмоцитарную реакцию с увеличением количества плазмобластов в 2 раза ( $36,2 \pm 0,43$ ) ( $P < 0,001$ ), незрелых плазмоцитов - в 1,4 раза (от  $25,8 \pm 0,42$  до  $36,0 \pm 0,2$ ) ( $P < 0,001$ ), а зрелых плазмоцитов - в 1,8 раза (до  $31,6 \pm 0,19$ ) по сравнению с контролем ( $P < 0,001$ )). К 28 дню после вакцинации показатели снизились.

*3.4.5 Иммуноморфогенез в лимфоидной ткани кишечника.* В стенке толстой и тонкой кишок нами была отмечена клеточная пролиферация и структурно-функциональная перестройка слизистой оболочки с явлениями десквамации эпителия верхушек ворсинок, гиперемии собственной пластинки и подслизистого слоя.

Через 7 дней после вакцинации песцов в стенке собственной пластинки тощей кишки количество иммунобластов увеличилось в 2 раза ( $28,6 \pm 0,34$ ) по сравнению с контролем ( $14,2 \pm 0,43$  ( $P < 0,001$ )); в подвздошной кишке - в 1,9 раза ( $29,4 \pm 0,15$ ) по сравнению с контролем  $15,2 \pm 0,34$  ( $P < 0,001$ ). Через 14 дней наблюдали нарастание числа незрелых клеток. Количество плазмобластов и незрелых плазмоцитов в стенке собственной пластинки тощей кишки

увеличилось в 2 раза и составило  $20,5 \pm 0,14$  и  $29,6 \pm 0,37$  по сравнению с контролем  $10,1 \pm 0,11$  и  $14,6 \pm 0,25$  ( $P < 0,001$ ). В стенке собственной пластинки подвздошной кишки число плазмобластов увеличилось в 2,2 раза и составило  $23,3 \pm 0,43$  по сравнению с контрольным уровнем  $10,4 \pm 0,23$  ( $P < 0,001$ ), количество незрелых плазмоцитов - в 1,4 раза ( $27,4 \pm 0,24$ ) по сравнению с контрольным уровнем -  $19,0 \pm 0,31$  ( $P < 0,001$ ). Максимальное увеличение количества зрелых плазмоцитов отмечено через 28 дней после иммунизации: в стенке собственной пластинки тощей кишки - в 2,4 раза ( $30,0 \pm 0,44$ ) по сравнению с контролем  $12,4 \pm 0,34$  ( $P < 0,001$ ), подвздошной кишки - в 2 раза ( $38,0 \pm 0,44$ ) по сравнению с контролем  $17,4 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ ).

Через 7 дней после иммунизации песцов в стенке толстой кишки наблюдали увеличение количества иммунобластов: в лимфоидных узелках слепой кишки - в 2,2 раза ( $35,2 \pm 0,73$ ), в контроле  $15,8 \pm 0,43$  ( $P < 0,001$ ), в ободочной кишке - в 2 раза ( $28,5 \pm 0,32$ ), в контроле  $13,2 \pm 0,25$  ( $P < 0,001$ ). Через 14 дней после иммунизации в стенке собственной пластинки толстой кишки число клеточных элементов возросло, из них основную массу клеток представляли плазмобласты и незрелые плазмоциты. В стенке слепой кишки количество плазмобластов увеличилось в 1,9 раза ( $26,8 \pm 0,25$ ) по сравнению с контролем  $13,6 \pm 0,43$  ( $P < 0,001$ ), незрелых плазмоцитов - в 2 раза ( $33,8 \pm 0,51$ ) по сравнению с контролем  $17,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,001$ ). В стенке ободочной кишки число плазмобластов увеличилось в 2,5 раза ( $26,4 \pm 0,32$ ) по сравнению с контролем  $10,3 \pm 0,32$  ( $P < 0,001$ ), незрелых плазмоцитов - в 2 раза ( $37,8 \pm 0,37$ ) по сравнению с контролем  $17,8 \pm 0,58$  ( $P < 0,001$ ). Через 28 дней после иммунизации в лимфоидной ткани толстой кишки отмечали выраженную плазмоцитарную реакцию. Количество зрелых плазмоцитов в стенке слепой кишки увеличилось в 2,3 раза и составило  $35,4 \pm 0,40$  по сравнению с контролем  $15,2 \pm 0,37$  ( $P < 0,001$ ), ободочной кишке - в 2,4 раза ( $36,8 \pm 0,37$ ) по сравнению с контролем  $15,2 \pm 0,20$  ( $P < 0,001$ ).

### **3.5 Сравнительный анализ результатов иммунного ответа у песцов, вакцинированных против сальмонеллёза разными способами**

**3.5.1 Результаты гематологических исследований.** Гематологические исследования позволяют судить как о физиологическом статусе, так и о специфических процессах, происходящих в организме в ответ на введение антигена, и дают дополнительную информацию о степени иммунобиологической реактивности организма животных. На 14 день после иммунизации комбинированным способом в крови песцов общее количество лейкоцитов по сравнению с животными, привитыми пероральным способом, было выше на 9,6%. Далее на 21 и 28 дни последовало снижение и выравнивание их количества в обеих группах.

Выраженный лимфоцитоз у вакцинированных животных в обеих опытных группах наблюдали на 14 день после вакцинации с разницей в 1,5 % после комбинированного способа введения вакцины, с постепенным снижением показателей в последующие сроки.

**3.5.2 Результаты биохимических исследований.** Показатели гуморальных факторов иммунитета у вакцинированных животных были достоверно выше, чем в контрольной группе. Доказательством этого явилось повышение в обеих опытных группах количества  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови, который

увеличился через 14 дней после иммунизации песцов. В группе животных, вакцинированных комбинированным способом он был выше на 20% по сравнению с пероральным способом иммунизации.

Лизоцимная активность сыворотки крови у песцов при комбинированном способе введения вакцины на 14 день была на 10 % выше, чем после пероральной иммунизации, с последующим выравниванием в обеих опытных группах на 28 день.

**3.5.3 Результаты серологических исследований.** Титры антител в сыворотке крови песцов, вакцинированных пероральным способом, уже на 7 день увеличивались на 41 % по сравнению с комбинированным способом. На 14 день после иммунизации комбинированным способом показатели становились на 12 % выше, чем при пероральном способе вакцинации. В последующие дни после вакцинации титры антител снизились в обеих опытных группах. В результате исследований установлено, что вакцинный препарат на основе живых аттенуированных штаммов сальмонелл у иммунизированных песцов активно стимулирует процесс формирования специфических антител. По данным Н.И. Реаттиг (1971) пероральная вакцинация всегда вызывает резкое нарастание титра специфических антител у иммунизированных животных, так как происходит быстрое реагирование иммунокомпетентных клеток на антиген выбросом иммуноглобулинов.

**3.5.4 Результаты иммунологических исследований.** Фагоцитарная активность нейтрофилов достоверно увеличивалась на 7 день после вакцинации в обеих опытных группах, но после комбинированного способа вакцинации показатель Штритера в ОФР был выше на 35%, что подтверждает достаточно выраженную реакцию клеточного иммунитета на вирулентный возбудитель сальмонеллёза. Далее происходит постепенное снижение показателей в обеих опытных группах, и к 28 дню после вакцинации они становятся практически равными контрольным.

### **3.5.5 Сравнительный анализ результатов исследования иммуноморфогенеза у песцов, полученных после вакцинации против сальмонеллёза разными способами**

Морфологический анализ показал, что при комбинированном способе введения вакцины по сравнению с пероральным способом на 7 день иммунизации песцов в корковом слое тимуса увеличилось количество лимфоцитов на 7 %, в мозговом слое – на 11 %, телец Гассала – на 6 %. Через 14 дней после иммунизации количество лимфоцитов как в корковом, так и в мозговом слое уменьшилось, что свидетельствует об активной миграции клеток за пределы органа. При комбинированном способе вакцинации отмечали формирование в корково-мозговой зоне тимуса лимфоидных узелков и гиперемии междольковых и субкапсулярных сосудов.

При обоих способах введения вакцины из аттенуированных штаммов сальмонелл при иммуногистохимическом исследовании с использованием маркеров Polyclonal Rabbit Anti – Human к CD<sub>3</sub> Т-клеток была выявлена положительная реакция. Т-клетки скапливались как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса.

При морфологическом исследовании глоточных миндалин наблюдали, что при пероральной иммунизации количество иммунобластов увеличилось на 10

%, незрелых и зрелых плазмоцитов – на 40 % по сравнению с комбинированным способом введения вакцины. Из вышесказанного следует, что миндалины глоточного узла при пероральной иммунизации первыми соприкасаются с антигенным фактором, поступающим с кормом, так как паренхима узла состоит из ретикулярной стромы, в петлях которой располагаются лимфоциты, плазмоциты, макрофаги (Ю.И. Бородин с соавт., 1987).

При комбинированном способе иммунизации зверей в нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлах отмечали диапедез эритроцитов и гиперемию в краевых, промежуточных и мозговых синусах, а количество иммунобластов было увеличено на 6 %, число плазмобластов - на 9 %, зрелых плазмоцитов - на 17 % по сравнению с пероральным способом введения вакцины.

При гистологическом исследовании селезенки при комбинированном способе введения вакцины установили, что количество иммунобластов было увеличено на 38 %, плазмобластов - на 44 %, незрелых плазмоцитов – на 9 %, зрелых плазмоцитов - на 8 % по сравнению с пероральным способом иммунизации.

При комбинированном способе иммунизации наблюдали более выраженный иммунологический ответ со стороны лимфоидной ткани в собственной пластинке тонкой и толстой кишок по сравнению с пероральной иммунизацией. После комбинированного способа введения вакцины в стенке тощей кишки у песцов количество иммунобластов было увеличено на 18%, в стенке подвздошной кишке - на 8%; число зрелых плазмоцитов - на 11%. В стенке слепой кишки количество иммунобластов увеличилось на 10%, зрелых плазмоцитов – на 48%; в стенке ободочной кишки количество иммунобластов – на 4,5%, зрелых плазмоцитов – на 10%.

Также было установлено, что вакцинация песцов комбинированным способом вызывала в слизистой оболочке тонких и толстых кишок гиперемию и десквамацию покровного эпителия верхушек ворсинок.

### Выводы

1. После пероральной двукратной и комбинированной вакцинации песцов против сальмонеллеза, вакциной из аттенуированных штаммов сальмонелл на 7-14 день наблюдалась активизация клеточного иммунитета, которая сопровождалась лейкоцитозом и лимфоцитозом, увеличением фагоцитарной активности нейтрофилов ( $P < 0,001$ ),

В глоточных миндалинах, нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлах, селезенке и в лимфоидной ткани кишечника отмечена гиперплазия лимфоидных узелков, увеличение количества иммунобластов ( $P < 0,001$ ).

2. При иммуногистохимическом исследовании отмечено скопление Т-клеток в тимусе, в межузелковом пространстве глоточных миндалин, в паракортикальной зоне лимфоидных узелков лимфатических узлов, в периартериальной зоне и в красной пульпе селезенки.

3. Через 14-21 день после пероральной и комбинированной иммунизации песцов живой вакциной активизировались гуморальные факторы защиты. Титры специфических антител-агглютининов в сыворотке крови стали в 33-38 раз выше, чем в контроле. Увеличилось содержание общего белка и его  $\gamma$ - и  $\beta$ -



глобулиновых фракций ( $P < 0,001$ ), повышалась лизоцимная активность сыворотки крови ( $P < 0,05$ ),

А также в в глоточных миндалинах, в нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлах, селезенке и лимфоидной ткани кишечника увеличилось количество незрелых и зрелых плазмоцитов ( $P < 0,001$ ), что напрямую связано с повышением титра специфических антител в сыворотке крови в эти сроки .

4. После 21 дня отмечали уменьшение количества лимфоцитов и лейкоцитов, содержания общего белка и его  $\gamma$ - и  $\beta$ - глобулинов. Падала лизоцимная активность сыворотки крови, снижался показатель Штритера в опсонофагоцитарной реакции. Активность антителообразования снизилась, но оставалась выше показателей контрольной группы.

В органах иммунной системы уменьшилось количество иммунокомпетентных клеток. Через 28 дней после вакцинации показатели становились практически равными контрольным, что можно расценить как проявление гомеостаза.

5. Наиболее выраженные иммунные реакции в организме зверей происходили в результате введения вакцины комбинированным способом по сравнению с пероральным применением.

Общее число лейкоцитов было больше на 31 %, лимфоцитов - на 1,5 %, показатель в ОФР увеличивался на 35%, титры антител -агглютининов - на 12%, количество  $\gamma$ - глобулинов - на 20%.

6. Количество лимфоцитов в корковом слое тимуса было больше на 7 %, в мозговом слое – на 11 %, телец Гассала – на 6 %; в нижнечелюстных лимфатических узлах число иммунобластов - на 6 %, число плазмобластов - на 9%, зрелых плазмоцитов - на 17 %; в селезенке количество иммунобластов - на 38 %, плазмобластов - на 44 %, незрелых плазмоцитов - на 9 %, зрелых плазмоцитов - на 8 %; в стенке тощей кишки количество иммунобластов - на 18,6%, зрелых плазмоцитов - на 11%; в стенке слепой кишки количество иммунобластов - на 10%, зрелых плазмоцитов - на 48%. иммунобластов - на 6-38%, плазмобластов - на 9-44 %, зрелых плазмоцитов - на 8-48%.

7. При комбинированном способе иммунизации по сравнению с пероральным в нижнечелюстных и брыжеечных лимфатических узлах отмечался диapedез эритроцитов и гиперемия в красвых, промежуточных и мозговых синусах, в стенках тонкой и толстой кишок - очаговая десквамация покровного эпителия верхушек ворсинок. В тимусе происходило формирование лимфоидных узелков и гиперемия междольковых и субкапсулярных сосудов.

8. Установлено, что комбинированный способ вакцинации обеспечивает более надежную иммуногенную эффективность, но является более трудоемким процессом и более реактогенен для организма зверей.

Пероральная иммунизация является слабореактогенной и безвредной, а иммунный ответ по своей активности и продолжительности не уступает иммунитету, полученному после комбинированной иммунизации.

## Практические предложения

1. Гематологические, биохимические, серологические, иммунологические и морфологические исследования могут использоваться для комплексной оценки иммунных процессов у пушных зверей после вакцинации и для совершенствования методов иммунологического контроля биопрепаратов и способов их применения.

2. Пероральную иммунизацию песцов против сальмонеллёза можно рекомендовать для внедрения в ветеринарную практику звероводства с учетом ее эффективности, низкой трудоемкости, отсутствия стрессовых влияний на организм животных

3. Результаты исследований могут использоваться в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных и практических занятий по курсам морфологии и иммунологии.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гематологические и иммуноморфологические изменения у песцов при вакцинации против сальмонеллёза / **И. И. Окулова** [и др.] // Кролиководство и звероводство. 2007. № 5. С. 25-27.
2. Влияние аттенуированных штаммов сальмонелл на формирование специфического иммунитета у песцов против сальмонеллёза / **И. И. Окулова** [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2008. № 4. С. 195-197.
3. Иммуноморфологические изменения у песцов, иммунизированных живой вакциной против сальмонеллёза комбинированным методом / **И. И. Окулова** [и др.] // Теоретические и практические вопросы ветеринарной медицины : сб. статей Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию со дня рожд. д-ра вет. наук, проф. В. А. Лыжиной. Киров, 2007. С. 92-94.
4. **И. И. Окулова**, З. Н. Бельтюкова Вакцинопрофилактика сальмонеллёза у пушных зверей // Вопросы физиологии, содержания, кормопроизводства и кормления, селекции с.-х. животных, биологии пушных зверей и птиц, охотоведения : материалы II Междунар. науч.-практ. конф. Киров, 2008. С. 264-269.
5. **Окулова И. И.**, Березина Ю. Н., Домский И. А. Иммуноморфологические изменения в лимфоидной ткани кишечника песцов при специфической профилактике сальмонеллёза // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях : материалы Междунар. науч.-практ. конф. Воронеж, 2008. С. 197-201.

9

Подписано в печать 09.10.2009 г.  
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.  
Усл. печ. л. 1,1. Тираж 80 экз.  
Заказ № 1312.

Отпечатано в ООО «Издательство "ЛЕМА"»  
199004, Россия, Санкт-Петербург,  
В.О., Средний пр., д.24, тел./факс: 323-67-74  
e-mail: [izd\\_lemma@mail.ru](mailto:izd_lemma@mail.ru)  
<http://www.lemaprint.ru>