

УДК 619:616.995:636.92
doi: 10.36359/scivp.2019-20-2.28

КЛІТИННИЙ ІМУНІТЕТ КРОЛІВ ЗА ВПЛИВУ *TREPONEMA CUNICULI*

Ю. В. Дуда, канд. вет. наук, доцент

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
вул. С. Єфремова, 25, м. Дніпро, 49000, Україна

Спірохетоз кролів поширений повсюдно та вражає в окремих кролівничих господарствах від 3-5 до 30 %, а іноді навіть 90 % тварин. Експериментальна частина роботи виконана в ТОВ «Олбест» Дніпропетровської області впродовж 2016–2019 рр. Дослідження проведено на кролях-самцях 3-4 місячного віку, масою тіла 3,5–4,0 кг каліфорнійської породи відібраних за принципом аналогів. З метою визначення рівня ураженості *Treponema cuniculi* кролів, їх екскременти досліджували за методом Мак-Мастера та поділили на дві групи: здорові тварини (контрольна група) та хворі тварини (дослідна група). Кількість Т- і В-лімфоцитів визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. Спірохетоз у кролів-самців спричинив істотні зміни кількості популяції Т- і В-лімфоцитів. Встановлено, що у крові кролів, хворих на трепонемоз, відмічалось кількісне збільшення лімфоцитів, в основному за рахунок вірогідного збільшення В-лімфоцитів до 30,57 % ($p < 0,001$). У крові тварин дослідних груп відмічалась кількісне збільшення Т-лімфоцитів на 35,42 % ($p < 0,01$) за рахунок Т-хелперів, які зросли в 1,82 рази, що вказує на активізацію імунної системи організму кролів. Крім цього, у заражених тварин спостерігалась достовірне зменшення О-лімфоцитів до 8,07 % ($p < 0,001$) та відсотка Т-супресорів – до 15,00 % ($p < 0,01$), порівняно зі здоровими. Такий перерозподіл у популяції Т-клітин зумовив зростання імунорегуляторного індексу у кролів дослідної групи в 4 рази, ніж у здорових. У хворих тварин загальна кількість Т-активних лімфоцитів крові була на 23,85 % більшою, ніж у контролю. В цілому отримані результати досліджень показали, що за впливу збудника *Treponema cuniculi* у крові кролів призвело до збільшення Т- і В-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-активних, на фоні зниження О-лімфоцитів і Т-супресорів. Такий перерозподіл популяції лімфоцитів, свідчать про імунну відповідь за паразитування спірохет.

Ключові слова: СПІРОХЕТОЗ, *TREPONEMA CUNICULI*, *SPIROCHAETA CUNICULI*, Т- і В-ЛІМФОЦИТИ, ПОПУЛЯЦІЇ Т-ЛІМФОЦИТІВ, КРОЛІ.

Одним із поширених захворювань у кролівництві Україні впродовж 2017-2018 рр. є спірохетоз (трепонемоз), збудником якого є *Treponema cuniculi* (*Spirochaeta cuniculi*). Це ниткоподібні паразити, які закручуються у вигляді спіралі, у кількості від 6 до 15 і більше завитків, які розташовані один від одного на відстані 1 мкм, завдовжки від 7 до 30 мкм, у діаметрі – 0,25 мкм [1, 2].

Трепонемоз кролів поширений повсюдно та вражає в окремих кролівничих господарствах від 3-5 до 30 %, а іноді навіть 90 % тварин [3-5].

Хвороба зазвичай починається з легкої гіперемії і набрякlostі препуція або великих соромітних губ, рідше з почервоніння слизової оболонки кінцевої частини прямої кишки. З

уражених органів виділяється серозно-слизовий ексудат, що містить спірохети. Надалі на запалених ділянках утворюються дрібні вузлики, величиною від макового до просяного зерна, які в подальшому перетворюються на виразки, що легко кровоточать. Зливаючись, вони утворюють великі виразки, покриті бурими корками. При подальшому розвитку хвороби у кролів ураження часто поширюються на прилеглі ділянки шкіри, запалені ділянки набувають червонувато-синюватого забарвлення, стають набряклими і утворюються великі товсті кірки [6, 7].

Проблема спірохетозу вивчалась, як закордонними вченими [5-7], так і вітчизняними, але питання імунітету за цієї хвороби не вивчалось взагалі. Отже, дослідження клітинного імунітету кролів за впливу *Treponema cuniculi* є актуальним.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчити вплив збудника спірохетозу на показники клітинного імунітету кролів.

Матеріали і методи. Експериментальна частина роботи виконана в ТОВ «Олбест» Дніпропетровської області впродовж 2016–2019 рр. Дослідження проведено на кролях-самцях 3-4 місячного віку, масою тіла 3,5–4,0 кг каліфорнійської породи відібраних за принципом аналогів. У господарстві кролі отримували збалансований стандартний гранульований комбікорм і воду без обмеження та утримувались в сітчастих одноярусних клітках у приміщенні, згідно з чинними ветеринарно-санітарними нормами. Зразки крові у кролів відбирали з крайової вушної вени. Інші дослідження проводили в лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Тварин поділили на дві групи: здорові тварини (контрольна група) та хворі тварини (дослідна група). З метою визначення рівня ураженості *Treponema cuniculi* кролів, їх екскременти досліджували за методом Мак-Мастера [4].

Загальну кількість Т-лімфоцитів визначали методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана [8-10]. Число Т-клітин з переважно супресорною активністю (Т-супресори) – шляхом віднімання числа теофілінрезистентних Т-клітин (Т-хелпери) від загального числа Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) розраховували як співвідношення теофілінрезистентних Т-клітин до теофілінчутливих. Визначення кількості В-лімфоцитів проводили методом комплементарного розеткоутворення [1, 20]. Число О-клітин підраховували відніманням від 100 % суми загальної кількості Т-лімфоцитів та В-лімфоцитів.

При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.). Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) здійснювали з використанням програми Microsoft Excel-07.

Результати й обговорення. Інтенсивність інвазії у кролів, хворих на спірохетоз, складала $1960,00 \pm 247,81$ збудників в 1 г фекалій.

Встановлено, що збудник *Treponema cuniculi* впливає на показники клітинного імунітету кролів. Зокрема, виявлені істотні зміни кількості популяцій Т- і В-лімфоцитів, як у відсотковому (рис. 1), так і кількісному значенні (табл.).

Аналізуючи одержані дані, встановлено, що у крові кролів, хворих на спірохетоз, відмічалось кількісне збільшення лімфоцитів до $3,85 \pm 0,24$ Г/л ($p < 0,05$), порівняно з цим показником у здорових, що дорівнював $3,09 \pm 0,30$ Г/л. Зокрема, цей підйом відбувся в результаті вірогідного зростання В-лімфоцитів до 30,57 % ($p < 0,001$). Як відомо, на поверхні ці клітини несуть імуноглобуліни, що функціонують як рецептори до антигенів. У відповідь на взаємодію з антигеном В-лімфоцити відповідають розподілом і диференціацією в плазматичні клітини, що виробляють антитіла, за допомогою яких забезпечується гуморальний імунітет [11, 12]. За даними багатьох вчених, збільшення В-лімфоцитів відзначається при аутоімунних захворюваннях, хронічних захворюваннях печінки, цирозі, муковісцерозі, бронхіальній астмі,

паразитарних і грибкових інфекціях [13-15]. Зокрема, у хворих тварин спостерігалась вірогідне зменшення О-лімфоцитів до 8,07 % ($p < 0,001$). Останні, як відомо, є однією з найбільш реактивних клітинних систем організму та за необхідністю можуть перетворюватися на Т- і В-лімфоцити, не проходячи диференціацію в імунних органах. Кількісна і відносна зміна цих клітин, на нашу думку, відбулась за впливу *Treponema cuniculi* на організм кролів.

У крові тварин дослідних груп відмічалась вірогідне кількісне збільшення Т-лімфоцитів на 35,42 % ($p < 0,01$) за рахунок Т-хелперів, які зросли в 1,82 рази, що вказує активацію імунної системи організму кролів.

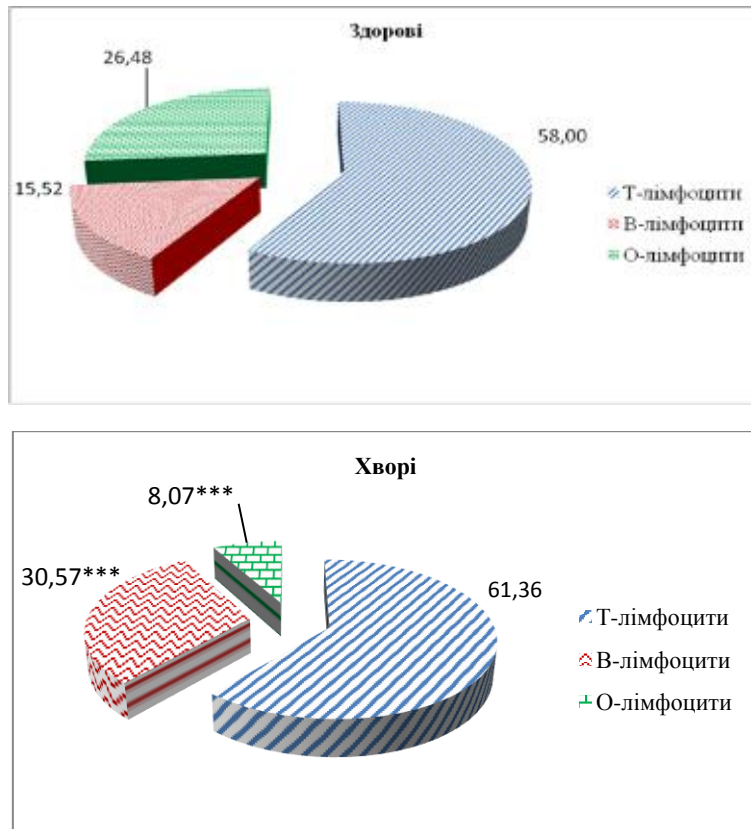


Рис. 1. Т-, В-, О-лімфоцити крові кролів за впливу збудника *Treponema cuniculi*, %
Примітка: *** $p < 0,001$, порівняно із здоровими тваринами

Таблиця

Показники клітинного імунітету кролів за впливу збудника *Treponema cuniculi* ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин	
	Здорові (контроль), $n=27$	Хворі (дослід), $n=28$
Т-лімфоцити, Г/л	$3,19 \pm 0,26$	$4,32 \pm 0,18^{**}$
В-лімфоцити, Г/л	$0,88 \pm 0,07$	$2,19 \pm 0,14^{***}$
Т-хелпери, Г/л	$1,80 \pm 0,15$	$3,28 \pm 0,14^{***}$
Т-супресори, Г/л	$1,39 \pm 0,14$	$1,12 \pm 0,12$
ІРІ	$1,44 \pm 0,12$	$5,77 \pm 1,52^{**}$
Т-активні, Г/л	$2,39 \pm 0,26$	$2,96 \pm 0,15^*$
О-лімфоцити, Г/л	$1,61 \pm 0,19$	$0,51 \pm 0,04^{***}$

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ порівняно із здоровими тваринами

Відсоток Т-супресорів у крові тварин, хворих на спірохетоз, достовірно знизився до 15,00% ($p < 0,01$), порівняно зі здоровими (рис. 2). Такий перерозподіл у популяції Т-клітин

зумовив зростання імунорегуляторного індексу (ІРІ) у кролів дослідної групи в 4 рази, ніж у здорових.

Зокрема, у заражених тварин загальна кількість Т-активних лімфоцитів крові була на 23,85 % більшою, ніж у контролі.

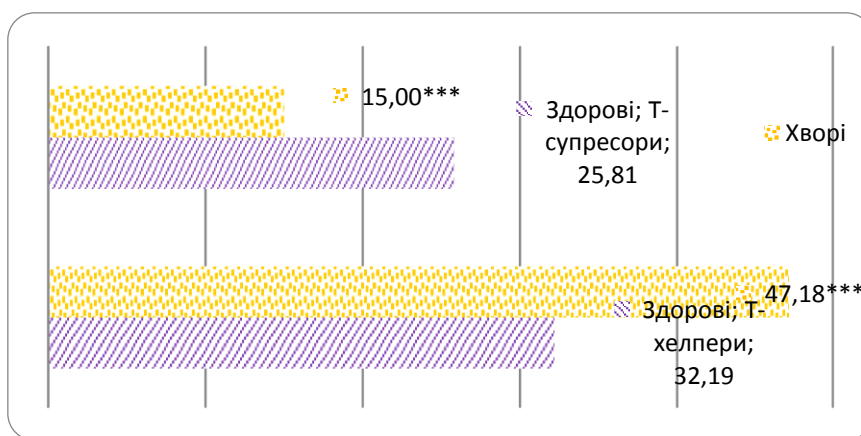


Рис. 2. Т-хелпери та Т-супресори крові кролів за впливу збудника *Treponema cuniculi*, %
Примітка: *** $p < 0,001$ порівняно із здоровими тваринами

У цілому отримані результати досліджень показали, що вплив збудника *Treponema cuniculi* у крові кролів призвів до збільшення Т- і В-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-активних, на фоні зниження О-лімфоцитів і Т-супресорів. Такий перерозподіл популяції лімфоцитів, свідчать про імунну відповідь на паразитування спірохет та виникненню запальних процесів на слизовій оболонці зовнішніх статевих органів, в області анального отвору і на прилеглих ділянках шкіри.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що у крові кролів, хворих на спірохетоз, відмічалось кількісне збільшення лімфоцитів, в основному за рахунок вірогідного збільшення В-лімфоцитів до 30,57 % ($p < 0,001$). У крові тварин дослідних груп відмічалась кількісне збільшення Т-лімфоцитів на 35,42 % ($p < 0,01$) за рахунок Т-хелперів, які зросли в 1,82 рази, що вказує активацію імунної системи організму кролів. Крім цього, у заражених тварин спостерігалась достовірне зменшення О-лімфоцитів до 8,07 % ($p < 0,001$) та відсотка Т-супресорів – до 15,00 % ($p < 0,01$), порівняно зі здоровими. Такий перерозподіл у популяції Т-клітин зумовив зростання імунорегуляторного індексу у кролів дослідної групи в 4 рази, ніж у здорових. У хворих тварин кількість Т-активних лімфоцитів крові була на 23,85 % більшою, ніж у контроля.

В цілому отримані результати досліджень показали, що за впливу збудника *Treponema cuniculi* у крові кролів призвело до збільшення Т- і В-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-активних, на фоні зниження О-лімфоцитів і Т-супресорів. Такий перерозподіл популяції лімфоцитів, свідчать про імунну відповідь за паразитування спірохет.

Перспективи досліджень полягають у дослідженні показників гуморальної ланки імунітету за впливу збудника *Treponema cuniculi*.

THE EFFECT OF *TREPONEMA CUNICULI* ON THE CELLULAR IMMUNITY OF RABBITS

Y. V. Duda

Dnipro State Agrarian and Economic University,
25, S. Efremova st., Dnipro, 49000, Ukraine

S U M M A R Y

The spirochetosis of rabbits is widespread and affects animals in size of from 3-5 to 30 % and sometimes even 90 % in individual rabbit breeding farms.

The experimental part of the work was performed in LLC “Albest” of the Dnepropetrovsk region during 2016-2019. The study was conducted on male rabbits of California breed of 3-4 months of age, weighing 3.5-4.0 kg selected on the basis of analogs. In order to determine the level of infection of rabbits by *Treponema cuniculi*, their excrement was investigated by the MacMaster method and divided into two groups: healthy animals (control group) and sick animals (research group). The count of T- and B-lymphocytes was determined by the method of spontaneous rosette-formation with sheep erythrocytes. Spirochetosis in male rabbits caused significant changes in the count of T- and B-lymphocytes. It was established that an increase in the number of lymphocytes was observed in the blood of rabbits with spirochetosis, mainly because of a possible increase in B-lymphocytes by 30.57 % ($p < 0.001$). In the blood of animals of the experimental groups, there was an increase in the number of T-lymphocytes by 35.42 % ($p < 0.01$) due to T-helpers, which increased by 1.82 times, which indicates the activation of the immune system of rabbits. In effected animals showed a significant decrease in O-lymphocytes to 8.07 % ($p < 0.001$) and the percentage of T-suppressors - up to 15.00 % ($p < 0.01$), compared with healthy ones. This redistribution in the population of T-cells led to an increasing of the immune-regulatory index in rabbits of the experimental group by 4 times than in healthy ones. Sick animals have T-active blood lymphocytes more 23.85 % than in the control one. In general, the results of studies showed that effect of the pathogen *Treponema cuniculi* in the blood of rabbits led to an increase in T- and B-lymphocytes, T-helper cells and T-active, against the background of a decrease in B-lymphocytes and T-suppressors. Such redistribution of lymphocyte populations suggests an immune response to parasitism of spirochaeta.

Keywords: SPIROCHETOSIS, *TREPONEMA CUNICULI*, *SPIROCHAETA CUNICULI*, T- AND B-LYMPHOCYTES, T-LYMPHOCYTE POPULATIONS, RABBITS.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ КРОЛИКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ *TREPONEMA CUNICULI*

Ю. В. Дуда

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет,
ул. С. Ефремова, 25, г. Днепр, 49000, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Спирохетоз кроликов распространен повсеместно и поражает в отдельных кролиководческих хозяйствах от 3-5 до 30 %, а иногда даже 90 % животных. Экспериментальная часть работы выполнена в ООО «Олбест» Днепропетровской области в течение 2016-2019 гг. Исследование проведено на кроликах-самцах 3-4 месячного возраста, массой тела 3,5-4,0 кг калифорнийской породы, отобранных по принципу аналогов. С целью определения уровня пораженности *Treponema cuniculi* кроликов, их экскременты исследовали методом Мак-Мастера и поделили на две группы: здоровые животные (контрольная группа) и больные животные (исследовательская группа). Количество Т- и В-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана. Спирахетоз у кроликов вызвал существенные изменения количества популяций Т- и В-лимфоцитов. Установлено, что в крови кроликов, которые больны трепонемозом, отмечалось увеличение количества лимфоцитов, в основном за счет увеличения В-лимфоцитов в 30,57 % ($p < 0,001$). В крови животных опытных групп установили рост количества Т-лимфоцитов на 35,42 % ($p < 0,01$) за

счет Т-хелперов, которые выросли в 1,82 раза, что указывает активацию иммунной системы организма кроликов. Кроме этого, у зараженных животных наблюдалось достоверное уменьшение О-лимфоцитов до 8,07 % ($p < 0,001$) и процента Т-супрессоров - до 15,00 % ($p < 0,01$), по сравнению со здоровыми. Такое перераспределение в популяции Т-клеток обусловило рост иммунорегуляторного индекса у кроликов опытной группы в 4 раза, чем у здоровых. У больных животных количество Т-активных лимфоцитов крови было на 23,85% больше, чем в контроле. В целом, полученные результаты исследований показали, что при воздействии возбудителя *Treponema cuniculi* в крови кроликов привело к увеличению Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-активных, на фоне снижения В-лимфоцитов и Т-супрессоров. Такое перераспределение популяций лимфоцитов, свидетельствуют об иммунном ответе на паразитирование спирохет.

Ключевые слова: СПИРОХЕТОЗЫ, *TREPONEMA CUNICULI*, *SPIROCHAETA CUNICULI*, Т и В-ЛИМФОЦИТЫ, ПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ, КРОЛИКИ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Герасимчик В. А. Инфекционные и незаразные болезни пушных зверей и кроликов : учеб.-метод. пособие / В. А. Герасимчик. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – С.142-145.
2. Інфекційні та інвазійні хвороби кролів / Л. Є. Корнієнко, О. Б. Домбровський, С. І. Пономар, А. А. Антіпов. – Біла Церква, 2003. – С.209-213.
3. Трепонемоз кроликов [Электронный ресурс] : Ветеринарная служба Владимирской области [Веб-сайт]. – Режим доступа: <https://vetvo.ru/treponemoz-krolikov.html> (дата звернення 01.06.2019) . – Назва з екрана.
4. Duda Y. V. Effect of *Treponema cuniculi* on protein metabolism of rabbits / Duda Y. V., Kuneva L. V., Shevchik R. S. // *1st International gap agriculture and livestock congress, abstract*, 2018, P. 439.
5. Saito K. RPR Test for Serological Survey of Rabbit Syphilis in Companion Rabbits / Saito K., Tagawa M., Hasegawa A // *J. Vet. Med. Sci.* , 2003, vol. 65(7), pp. 797-799.
6. Clinical Features and Rapid Plasma Reagin Antibody Titers in Spontaneous and Experimental Rabbit Syphilis / Saito K., Tagawa M., Mimura M. et al. // *J. Vet. Med. Sci.* – 2005, vol. 67(7), – P. 739.
7. Nordhoff M. L. Incidence and significance of treponemes in animals / Nordhoff M. L., Wieler L.H. // *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* Jan-Feb, 2005, vol.118(1-2), pp. 24-36.
8. Лимфоциты: методы / Под ред. Дж. Клауса. – М.: Мир, 1990. – 393 с.
9. Современные методы оценки иммунного статуса / С. Г. Ситайло, Т. И. Ельчанинова, Ю.И. Василенко и др. – Кривой Рог, 2000. – 40 с.
10. Череев А. Н. Количественная и функциональная оценка Т- и В- систем иммунитета человека //Общие вопросы патологии. – М.: ВИНТИ, 1976. – Т.4. – С. 126–160.
11. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія та алергологія / Казмірчук В. Є., Ковальчук Л. В. — Вінниця: Нова книга, 2006. — 526 с.
12. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity / Yuseff M. I., Pierobon P., Reversat A., Lennon-Dumenil A. M. // *Nat Rev Immunol.* 2013, – vol.13(7), – P. 475-478.
13. Kearney J. F. Innate-like B cells. *Springer Semin Immunopathol.* 2005, vol. 26(4), pp. 377–383.
14. B-lymphocyte autoimmunity in rheumatoid synovitis is independent of ectopic lymphoid neogenesis / Cantaert T., Kolln J., Timmer T., et al. // *J Immunol.*, 2008, vol. 181(1), pp. 785–794.

15. Tertiary lymphoid structures in the pancreas promote selection of B lymphocytes in autoimmune diabetes / Kendall P.L., Yu G., Woodward E.J., et al. // *J Immunol.*, 2007, vol. 178(9), pp. 5643–5651.

References

1. Gerasimchik V.A. Infectious and non-infectious diseases of fur animals and rabbits: studies. Method. allowance VA Gerasimchik, Vitebsk: VGAVM, 2011, pp. 142-145. (in Belarus)
2. Infectious and invasive diseases of rabbits / L. E. Kornienko, O. B. Dombrovsky, S. I. Ponomar, A. A. Antipov, Belaya Tserkov, 2003, pp. 209-213. (in Ukrainian).
3. Treponemoz rabbits [Electronic resource]: Veterinary service of the Vladimir region [Web site]. - Mode of access: <https://vetvo.ru/treponemoz-krolikov.html> (date of beast 01.06.2019). - Name of the screen. (in Russian).
4. Duda Y. V., Kuneva L. V., Shevchik R. S. Effect of *Treponema cuniculi* on protein metabolism of rabbits. *1st International gap agriculture and livestock congress, abstract*, 2018, P. 439. (in Turkey)
5. Saito K., Tagawa M., Hasegawa A. RPR Test for Serological Survey of Rabbit Syphilis in Companion Rabbits. *J. Vet. Med. Sci.*, 2003, vol. 65(7), pp. 797-799.
6. Saito K., Tagawa M., Mimura M., et al. Clinical Features and Rapid Plasma Reagin Antibody Titers in Spontaneous and Experimental Rabbit Syphilis. *J. Vet. Med. Sci.*, 2005, vol. 67(7), P. 739.
7. Nordhoff M. L., Wieler L.H. Incidence and significance of treponemes in animals. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* Jan-Feb, 2005, vol.118(1-2), pp. 24-36.
8. Lymphocytes: methods. A reference book, ed. by. Dzh. Klaus. M.: Mir, 1990, 393 p. (in Russian).
9. Sitaylo S.G., Elchaninova T.I., Vasilenko Yu.I. Modern methods of assessing the immune status, Krivoy Rog, 2000, 40 p. (in Ukrainian).
10. Cheredeev A.N. Quantitative and functional assessment of T-and B-systems of human immunity // *General questions pathologists*. M.: VINITI, 1976, vol.4, pp. 126–160. (in Russian).
11. Kazmirchuk V.Ye., Kovalchuk L.V. Clinical immunology and allergy. - Vinnitsa: New Book, 2006. 526 p. (in Ukrainian).
12. Yuseff M.I., Pierobon P., Reversat A., Lennon-Dumenil A.M. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. *Nat Rev Immunol.* 2013, vol.13(7), pp. 475-478.
13. Kearney J.F. Innate-like B cells. *Springer Semin Immunopathol.* 2005, vol. 26(4), pp. 377–383.
14. Cantaert T., Kolln J., Timmer T., et al. B lymphocyte autoimmunity in rheumatoid synovitis is independent of ectopic lymphoid neogenesis. *J Immunol.*, 2008, vol. 181(1), pp. 785–794.
15. Kendall P.L., Yu G., Woodward E.J., et al. Tertiary lymphoid structures in the pancreas promote selection of B lymphocytes in autoimmune diabetes. *J Immunol.*, 2007, vol. 178(9), pp. 5643–5651.

Рецензент – П. М. Склярів, д. вет. н., професор, Дніпровський державний аграрно-економічний університет.