

УДК 619:616.98:579

**Бусол В.О.**, доктор ветеринарних наук, академік НААН України  
*Національний університет біоресурсів і природокористування України*  
**Бойко П.К.**, доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник  
*Інститут епізоотології НААН України*

**Бойко О.П.**, здобувач<sup>©</sup>

*Волинська регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини*

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН, ЩЕПЛЕНИХ ВАКЦИНОЮ «ЕМКАРВАК»**

Вивченням причин стаціонарності неблагополуччя України з емфізематозного карбункулу встановлено, що однією з них є недостатня імуногенність концентрованої гідроксид алюмінієвої формолвакцини проти емфізематозного карбункулу та овець. Підтвердженням цього є непоодинокі спалахи клінічного прояву емфізематозного карбункулу серед щепленого поголів'я великої рогатої худоби у ряді областей України.

Вакцина, розроблена Ф.И. Каган и А.И. Колесовой [1] у кінці 50-х років минулого століття, являє собою вирощену на печінково-казеїновому бульйоні із додаванням 0,2% глюкози 36-годинну культуру *Cl. chauvoei* (штам R-15), який був виділений від теляти Новочеркаським ветеринарно-бактеріологічним інститутом ще у 1931 році. Штам після впровадження його у виробництво жодного разу не піддавався порівняльному дослідженню на імуногенність з іншими ізолятами збудника емфізематозного карбункулу.

В умовах цеху бактерійних препаратів Сумської державної біологічної фабрики за нашою технологією із вітчизняного виробничого штаму *Clostridium chauvoei* Л-7 було виготовлено дослідно-виробничу серію інактивованої вакцини проти емфізематозного карбункулу великої рогатої худоби та овець – «Емкарвак».

Розробка нових способів виготовлення вакцин об'єктивно передбачає необхідність розробки адекватних методів оцінки їх ефективності. Так, крім традиційних біологічних тестів для оцінки нешкідливості та імуногенності вакцин, слід застосовувати і ряд інших тестів, які давали б можливість більш повно характеризувати їх біологічну безпеку, зокрема їх вплив на імунологічну перебудову організму щеплених тварин, тривалість та напруженість імунної відповіді на специфічний імуноген, вплив цих препаратів на стан лабільних систем гомеостазу імунізованих тварин [2].

Відомо, що у тварин, щеплених вакцинами проти емфізематозного карбункулу, утворюються специфічні антитіла [3, 4, 5]. Їх рівень залежить від багатьох чинників, зокрема антигенності та імуногенності вакцини, реактивності імунізованих тварин тощо [6, 7]. В літературі є поодинокі праці, що стосуються характеристики окремих показників гуморального імунітету при емфізематозному карбункулі [8, 9, 10]. Проте у доступній нам літературі ми не

© Бусол В.О., Бойко П.К., Бойко О.П., 2010

знайшли даних, які давали б комплексну оцінку поствакцинального імунітету при емфізематозному карбункулі.

**Мета роботи.** Вивчити динаміку специфічних протиемкарних антитіл на фоні основних показників гомеостазу у щеплених тварин вакциною «Емкарвак».

**Матеріали і методи.** Напруженість специфічного імунітету вивчили у телят, щеплених вакциною «Емкарвак». Для цього у трьох господарствах Волинської області, в яких спостерігалися спалахи емфізематозного карбункулу, відібрано за принципом аналогів (бугайці чорно-рябої породи віком 6-7 місяців, доброї вгодованості) по одній групі телят (по 5 голів у кожній), зокрема у СВК «Вільна Україна» (с.т. Іваничі) Іваничівського району (група № 1), у СВК ім. Л. Українки (с. Кисилін) Локачинського району (група № 2) та у СГВК «Шепель» (с. Шепель) Луцького району (група № 3). Як контрольні тварини використано групу із п'яти неімунізованих будь-якою вакциною телят такого ж віку та вгодованості із благополучного щодо емфізематозного карбункулу ПОСП «Рать» Луцького р-ну Волинської області (контроль).

У дослідних тварин вивчали напруженість імунітету за рівнем антитіл в реакції аглютинації та непрямой імунофлуоресценції через 1, 3, 6, 9 і 12 місяців після введення вакцини «Емкарвак» [11]. З метою вивчення впливу вакцини на стан лабільних систем гомеостазу організму тварин одночасно із імунологічними тестами досліджували вміст еритроцитів, лейкоцитів і гемоглобіну крові, рівень загального білка і профіль білкових фракцій сироватки крові [12], а також фагоцитарну активність та індекс фагоцитозу лейкоцитів, активність лізоциму сироватки крові [13]. За аналогічними тестами досліджували кров контрольних телят, але дослідження проводили на 1-ий, 6-ий і 12-ий місяць паралельно із дослідними тваринами.

**Результати дослідження та їх обговорення.** У табл. 1 наведені результати дослідження, що відображають динаміку титру аглютининів, а у табл. 2 – титру загальних специфічних антитіл у сироватці крові телят через різні періоди часу після щеплення їх вакциною «Емкарвак».

Таблиця 1.

**Динаміка аглютининів у сироватці крові телят протягом року після щеплення їх вакциною "Емкарвак" ( $M \pm m$ ,  $n=15$ ,  $P \geq 0,999$ )**

Група	Титр поствакцинальних аглютининів у сироватці крові телят через				
	1 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.
№1	1:2304±410	1:896±307**	1:256±77***	1:64±19***	1:24±9**
№2	1:3328±1066***	1:1536±819*	1:384±159**	1:104±45**	1:44±16**
№3	1:3072±1894*	1:1088±666*	1:256±179*	1:96±51*	1:28±10**
$M \pm m$	1:2901±398	1:1173±243	1:299±60	1:88±16	1:32±6
Контроль	1:3±2,6*		1:7±2,4**		1:9±1,6

\* –  $P < 0,95$ ; \*\* –  $P \geq 0,95$ ; \*\*\* –  $P \geq 0,99$ .

Із наведених у табл. 1 даних видно, що у вакцинованих телят усіх трьох господарств найвищі (в середньому 1:2901±398) титри аглютининів

спостерігаємо у перший місяць після щеплення, а потім йде їх постійне зниження. Так, через три місяці вони знизилися до 1:1173±243, тобто у 2,5 рази, через 6 міс. – у 9,7, через 9 міс. – у 33, а через 12 міс. – у 90,7 рази і становили 1:32±6,0. Аналізуючи динаміку аглютининів по трьохмісячних періодах, починаючи із першого місяця, можна відзначити, що темп їх зниження протягом кожного наступного періоду по відношенню до попереднього становив від 2,5 до 3,9 рази ( в середньому 3,2 рази).

Таблиця 2.

**Динаміка загальних специфічних антитіл у сироватці крові телят протягом року після щеплення їх вакциною "Емкарвак" (M±m, n=15, P ≥0,999)**

Група	Титр поствакцинальних загальних антитіл у сироватці крові телят через				
	1 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.
№1	1:922±343**	1:230±41	1:58±10	1:29±5	1:14±3
№2	1:1331±573**	1:333±143**	1:83±36**	1:45±15***	1:21±9**
№3	1:1229±655*	1:387±128***	1:77±41*	1:38±21*	1:16±8*
M±m	1:1161±159	1:310±52	1:73±10	1:37±6	1:17±3
Контроль	1:4,8±1,9**		1:5,6±1,9**		1:8±3,2**

\* – P < 0,95; \*\* – P ≥ 0,95; \*\*\* – P ≥ 0,99.

Аналізуючи дані табл. 2, можна відзначити, що рівень загальних антитіл, знижується із збільшенням поствакцинального періоду. Так, через три місяці по вакцинації їх рівень щодо такого у перший місяць знизився у 3,8 рази, а через півроку – у 15,9 рази. Після 6-ого місяця титри антитіл продовжують знижуватися, але значно повільніше. Так, на 9-му місяці титр загальних антитіл порівняно із 6-им місяцем знизився відповідно у 2 рази, а на 12-му місяці порівняно із 9-им місяцем після щеплення – у 2,2 рази.

У контрольній групі тварин благополучного господарства з віком спостерігаємо незначне зростання антитіл. Так, у 12-місячному віці титри аглютининів у контрольних тварин в середньому становили 1:3±2,6, а загальних антитіл – 1:4,8±1,9, у 18-місячному – 1:7±2,4 та 1:5,6±1,9, а у 24-місячному – 9±1,6 і 1:8±3,2 відповідно.

У той же час рівень поствакцинальних антитіл навіть через 12 місяців після уведення вакцини залишається значно вищим, ніж рівень відповідних антитіл у контрольних телят і становить 1:32±6,0 для аглютининів та 1:17,1±2,5 для загальних антитіл проти 1:11±3,6 і 1:8±3,2 відповідно у контролі.

Таким чином, вакцина володіє високою антигенністю, забезпечуючи навіть через 12 місяців після її уведення високий рівень специфічних антитіл. Ми вважаємо, що ці титри свідчать не лише високу антигенність вакцини «Емкарвак», але й про тривалий імунний захист щеплених тварин.

З метою встановлення впливу вакцини «Емкарвак» на стан лабільних систем організму нами вивчено динаміку рівня еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну, загального білка, профілю сироваткових білків, фагоцитарної активності та активності лізоциму крові телят у поствакцинальний період (табл. 3).

Аналізуючи наведені у таблиці дані, можна відзначити, що протягом періоду спостереження у дослідних тварин не виявлено закономірних змін у динаміці еритроцитів, гемоглобіну, загального білка. Водночас в динаміці інших показників крові у поствакцинальний період можна констатувати зміни вмісту лейкоцитів, фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу, активності лізоциму, рівня альбумінів і глобулінів сироватки крові та їх співвідношення.

Таблиця 3.

**Динаміка деяких показників крові телят протягом року після щеплення вакциною «Емкарвак» ( $M \pm m$ ,  $n=15$ ,  $P \geq 0,999$ )**

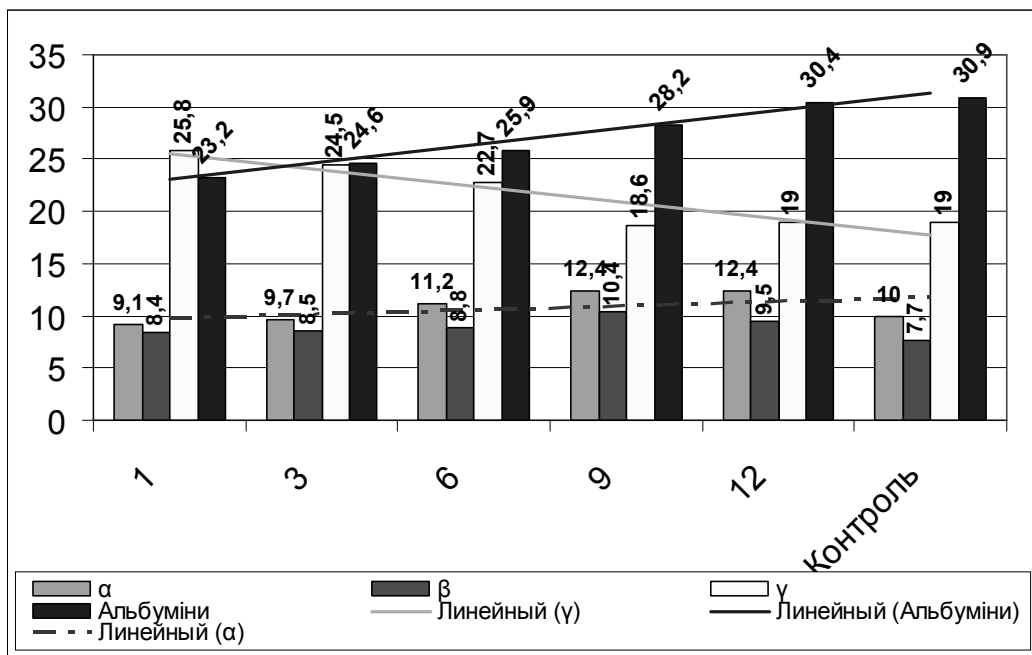
Показники	Показники крові телят після щеплення через					Конт-роль (n=5)
	1 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	
Еритроцити, Т/Л	7,1±0,1	6,7±0,3	7,0±0,3	6,7±0,2	6,4±0,2	7,0±0,2
Гемоглобін, г/Л	96±4,2	104±5,2	107±2,9	110±3,3	103±4,7	108±7,6
Лейкоцити, Г/Л	9,7±0,4	9,2±0,3	8,7±0,3	8,2±0,4	8,3±0,4	8,3±0,1
Загальний білок, г/Л	65,7±0,8	67,0±0,3	68,6±1,0	69,8±1,1	71,8±0,8	66,6±5,2
Альбуміни, г/Л	23,2±0,3	24,6±0,3	25,9±0,3	28,2±0,5	30,4±0,4	30,9±0,3
α-глобуліни, г/Л	9,1±0,5	9,7±0,4	11,2±0,1	12,4±0,4	12,4±0,3	10±2,0*
β-глобуліни, г/Л	8,4±0,5	8,5±0,2	8,8±0,4	10,4±0,2	9,5±0,4	7,7±1,4*
γ-глобуліни, г/Л	25,8±0,8	24,5±0,8	22,7±1,0	18,6±1,0	19,0±0,9	19±0,3
Σ-глобулінів, г/Л	42,5±0,7	42,8±0,7	42,7±0,6	41,3±0,6	41,2±0,5	42,5±0,7
Альбуміни/глобуліни	0,54	0,58	0,61	0,68	0,74	0,84
Фагоцитарне число, %	74,4±1,5	60,7±0,6	54,3±0,7	46,7±0,8	41,1±0,8	40,9±0,7
Фагоцитарний індекс	9,5±0,2	8,2±0,3	6,1±0,3	5,0±0,1	4,3±0,2	4,5±0,7*
Лізоцим, мкг/мл	92,9±0,8	90,1±2,8	89,3±0,5	82,8±1,6	79,5±1,8	78,4±0,8

\* -  $P \geq 0,99$ .

Так, у перший місяць після щеплення рівень лейкоцитів у дослідних тварин становив 9,7±0,4 Г/Л, що є порівняно вищим, ніж у контрольних (8,3±0,1), але не виходить за фізіологічні межі; із подовженням поствакцинального періоду спостерігається поступове ( $p < 0,5$ ) зниження їх концентрації – через три місяці – на 6,5 %, через 6 місяців – на 11,8 %, а через 9 місяців - на 17,2 %. Це свідчить про те, що у перший місяць поствакцинального періоду спостерігається достовірно на фоні контролю зростання вмісту лейкоцитів у крові дослідних тварин, що вказує на виражений імуностимулюючий вплив вакцини на організм вакцинованих тварин.

Про імунологічну перебудову в організмі вакцинованих тварин свідчить зміна білкового профілю сироваткових білків. Так, співвідношення альбумінів до глобулінів у перший місяць після щеплення є найнижчим і становить 0,54; з кожним наступним періодом воно зростає і на кінець періоду спостереження досягає значення 0,74 і наближається до цього показника у контрольних тварин – 0,81. У перший місяць після щеплення спостерігається порівняно високий рівень гамаглобулінів (25,8±0,8 г/л), який із збільшенням поствакцинального періоду поступово йде на спад і через 12 місяців після щеплення він становить 19±0,9 г/л, вирівнюючись із середньоарифметичним значенням цього показника у тварин контрольної групи (19±0,3 г/л). Це добре видно з вектора тренду гамаглобулінів (рис.1).

У той же час альбумінова фракція сироваткових білків, навпаки, у перший місяць після введення вакцини «Емкарвак» становить 23,2 г/л, а із продовженням поствакцинального періоду має тенденцію до зростання і вже на дванадцятий місяць досягає 30,4 г/л,



**Рис. 3.55. Графічне зображення динаміки сироваткових білків крові дослідних тварин на різних етапах поствакцинального періоду.**

що майже наближається до середньоарифметичного значення цього показника у контрольних тварин (30,9 г/л). Це чітко відстежується за вектором трендової лінії, яка характеризує динаміку альбумінів та фракцій глобулінів.

Поствакцинальна імунологічна перебудова проявляється не тільки змінами гуморальних показників імунітету, що добре видно при аналізі динаміки специфічних антитіл (табл. 1 і 2), але й підвищенням активності фагоцитів та лізоциму крові (табл. 3). Так, у перший місяць після щеплення активність фагоцитозу була найвищою і становила  $74,4 \pm 1,5\%$  при фагоцитарному індексі  $9,5 \pm 0,2$  од. З даних табл. 3 бачимо, що із збільшенням поствакцинального терміну фагоцитарна активність і фагоцитарний індекс поступово знижуються і на кінець періоду спостереження вони відповідно становлять  $41,1 \pm 0,8\%$  та  $4,3 \pm 0,2$  од., наближаючись за своїми параметрами до таких у тварин контрольної групи ( $40,9 \pm 0,7\%$  і  $4,5 \pm 0,7$  од.).

Аналізуючи динаміку концентрації лізоциму сироватки крові дослідної групи тварин у поствакцинальний період, відзначаємо, що вона є найвищою у перший місяць після щеплення тварин. З кожним наступним періодом спостерігаємо її поступове зниження.

**Висновки.**

Інактивована вакцина проти емфізематозного карбункулу великої рогатої худоби та овець «Емкарвак» справляє багатовекторний вплив на організм сприйнятливих тварин, що характеризується збільшенням у перший місяць після введення кількості лейкоцитів (у фізіологічних межах), зміною білкового профілю білків сироватки крові у бік зростання концентрації глобулінів та підвищенням активності лізоциму і фагоцитарної активності лейкоцитів, високими рівнями специфічних антитіл, які, не зважаючи на їх поступове зниження протягом року, забезпечують у щеплених тварин тривалий імунітет.

**Література**

1. Каган Ф.И. Концентрированная вакцина против эмфизематозного карбункула / Ф.И. Каган, А.И. Колесова // В кн.: Биологические и химиотерапевтические ветеринарные препараты. - М.: Изд-во сельхоз. литературы, 1963. - С.195-203.
2. Ушкалов В.О. Фактори патогенності та їх значення при лабораторній діагностиці захворювань, спричинених умовно-патогенними бактеріями / В.О. Ушкалов // Ветеринарна медицина. - Харків, 2001. Вип.. 79. - Т. 2. - С. 160-168.
3. Аристов Б.М. Иммунологическая эффективность ассоциированной и комплексной вакцинации против анаэробных инфекций (*Cl. chauvoei* и *Cl. septicum*): автореф. дис. на соискание ученой степени канд. вет. наук. / Аристов Б.М. - М.:ВИЭВБ, 1972. - 21с.
4. Ассоциированная живая вакцина против сибирской язвы и эмфизематозного карбункула / [Ургуев К.Р., Кириллов Л.В., Романов Г.И., Сторожев Л.И., Маничев А.А.]. // Ветеринария. - 1989. - № 4. - С.29-30.
5. Ургуев К.Р. Живая концентрированная вакцина против эмфизематозного карбункула (крупного рогатого скота). / К.Р. Ургуев, Л.В. Кириллов, Л.И. Сторожев // Ветеринария. - 1985. - № 7. - С.33-34.
6. Anbumani S.P. An electroforetic analysis of the efficacy of alum precipitated and alumina gel adsorbed vaccines against *Clostridium chauvoei* / S.P. Anbumani, J.S. Moses, R.S. Balaprakasm // Indian Vet. J. - 1975. - Vol.52. - N6. - P.462-467.
7. Award F.L. Studies on the maternal transmission of *Clostridium chauvoei* antibodies from vaccinated pregnant animals / F.L. Award, A.Z. Hussein // Assuit. Vet. Med. J., 1986; T. 18, N 36, - p. 73-82.
8. Влияние транспортировки на состояние иммунитета у крупного рогатого скота, привитого против ящура и эмкара / [Д.О. Омиржанов, М.Ф. Мададов, И.А. Пронин, В.И. Шоршнев, Н.Е. Беляев, Л.И. Сторожев]. Заразная и незаразная патология с.-х. животных, 1987. - с. 61-67.
9. Claus K.D. Characteristics and immunizing properties of culture filtrates of *Clostridium chauvoei*. / K.D. Claus, M.E. Macheak // Amer. J. Vet. Res. - 1972. - Vol.33. - N5. - P.1031-1038.

10. Crichton R. The development of enzyme-linked immunosorbent assay for measuring the potency of vaccines containing *Clostridium chauvoei* antigens. / R. Crichton, J. Solomon, A. Barton // *Biologicals*. - 1990. - Vol.18. - N 1. - P.49-54.

11. Бойко П.К. Иммунофлуоресцентная идентификация возбудителя эмфизематозного карбункула: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. вет. наук. / Бойко П.К. - М.:ВИЭВБ, 1972. – 21с.

12. Левченко В.І. Дослідження систем крові / В.І. Левченко, В.В. Сахнюк // В кн. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин. За ред. В.І. Левченка. – Біла Церква: БЦДАУ, 2004. – 608 с.

13. Методические указания по тестированию естественной резистентности телят. / [Емельяненко П.А., Грызлова О.Н., Денисенко В.Н., Мечникова Г.Н., Тулупова М.Н.] – М.: МВА, 1980. – 64 с.

### Summary

**V.O. Busol, P.K. Boyko, O.P. Boyko**

#### **THE CHARACTERISTICS OF POSTVACCINATION IMMUNITY OF ANIMALS VACCINATED WITH THE VACCINE "EMKARVAK"**

*There are the researches results of several indexes dealing with homeostasis, natural resistance, and immunological adaptation of animals' organisms, vaccinated with the antyblackleg inactivated vaccine «Emkarvak».*

*It is showed the vaccine's multi-vector impact on the susceptible animals' organisms, characterized by an increased number of leukocytes (in the physiological limits) in the first month after vaccine introduction; the serum proteins' profile changes (increasing globulins concentration); the increased lysozyme of and leukocytes phagocytic activity, the high levels of specific antibodies, providing a long-term immunity for the vaccinated animals, despite the gradual antibody decline during the year.*

*Стаття надійшла до редакції 8.03.2010*