

**В. В. УХОВСЬКИЙ**, кандидат ветеринарних наук  
 Інститут ветеринарної медицини НААНУ, м. Київ

## ВИВЧЕННЯ ІМУНОГЕННОСТІ КОНЦЕНТРОВАНОЇ ПОЛІВАЛЕНТНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ЛЕПТОСПІРОЗУ ТВАРИН ВАРІАНТ «BOVIS» В ВИРОБНИЧИХ УМОВАХ

У зв'язку зі змінами етіологічної структури лептоспірозу великої рогатої худоби на території України застосування наявних вакцин не може в повній мірі профілакувати дане захворювання. Науковцями лабораторії лептоспірозу Інституту ветеринарної медицини розроблена та виготовлена експериментальна серія полівалентної вакцини проти лептоспірозу для великої рогатої худоби, до складу якої входять п'ять серогруп лептоспір (*Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Sejroe*, *Grippotyphosa*), які на даний час найбільш поширені на території України. У статті представлені дані результатів вивчення експериментальної серії інактивованої полівалентної вакцини проти лептоспірозу тварин варіант «bovis» щодо імуногенної активності, у динаміці через 14, 21, 60 діб після вакцинації.

*Ключові слова:* вакцина, лептоспіра, лептоспіроз, велика рогата худоба, серогрупа, штам, антитіла, реакція мікроаглоутинції.

Одним із основних заходів боротьби з лептоспірозом є вакцинація. Вона профілакує гострий і хронічний перебіг хвороби та лептоспіроносійство [1, 2].

Лептоспірозна вакцина є високоєфективною лише в тому випадку, якщо до її складу введені серотипи лептоспір, котрі є збудниками захворювання в даній місцевості. При їх відсутності лептоспіроз буде виникати, не зважаючи на проведену вакцинацію [3–5].

На території України лептоспіроз у ВРХ викликають лептоспіри наступних серогруп: *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi* та *Grippotyphosa* [6, 7].

В теперішній час для профілактики лептоспірозу ВРХ на території України, використовують полівалентну вакцину ВДНКІ проти лептоспірозу тварин, другий варіант, яка містить антигени лептоспір серогруп *Pomona*, *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe* (серовар *hardjo*), консервант, адьювант і воду.

Вакцину застосовують одноразово внутрішньом'язово в наступних дозах: великій рогатій худобі віком від 2 до 12 місяців – 4 см<sup>3</sup>, від 1 до 2 років – 8, старше 2 років – 10 см<sup>3</sup>; дрібній рогатій худобі до 6 місячного віку – 2 см<sup>3</sup>, від 6 до 12 місяців – 2,5 та дорослим тваринам – 5 см<sup>3</sup>; 1-3 місячним порослятам в вакцину вводять двократно в дозі 2–3 см<sup>3</sup> з інтервалом 10–15 діб, від 3 до 10 місяців – 6, хрякам та свиноматкам – 10 см<sup>3</sup> [8].

Дана вакцина має суттєві недоліки:

- препарат призначений для профілактики лептоспірозу великої рогатої худоби, але при його виготовленні не враховані домінуючі серогрупи лептоспір: *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe*, *Hebdomadis* та *Icterohaemorrhagiae*;
- низька ефективність вакцини тому, що в своєму складі серогрупа *Sejroe* містить лише серовар *hardjo*, внаслідок чого вона не завжди захищає тварин від кон'юнктивального зараження;
- мала концентрація лептоспір при виробуванні обумовлює необхідність вводити вказаний препарат тваринам у великих дозах – до 10 см<sup>3</sup>;
- розфасовка, пакування, транспортування та інші виробничі процеси значно ускладнюються через великий об'єм вакцини;
- обробка бактеріальних клітин сильними хімічними реактивами (трихлорцтова концентрована кислота та аміак) відбивається на якості вакцини.

Крім того, з метою профілактики лептоспірозу ВРХ на території України використовуються моновалентні вакцини (проти серогруп *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe*, *Hebdomadis* та ін.). Суттєвим недоліком їх є те, що в умовах України перебіг лептоспірозу в господарствах не рідко ускладнюється одночасним циркулюванням декількох серогруп лептоспір. В таких випадках виникає необхідність здійснювати дворазові та триразові (в залежності від кількості циркулюючих серогруп даного збудника) щеплення проти лептоспірозу, що призводить до збільшення часу та затрат на введення препарату.

Усі перераховані вище недоліки існуючих вакцин проти лептоспірозу свідчать про необхідність подальшого вдосконалення засобів специфічної профілактики захворювання у ВРХ. Для реалізації цього завдання науковими співробітниками лабораторії лептоспірозу Інституту ветеринарної медицини НААНУ розроблено та виготовлено експериментальну серію полівалентної вакцини проти лептоспірозу, до складу яких входять п'ять серогруп лептоспір, які на даний час найбільш розповсюджені на території України, а саме: *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe*, *Hebdomadis* та *Icterohaemorrhagiae*.

В попередніх дослідженнях було вивчено наступні показники вакцини: рН, стерильність, залишкову кількість інактиванта, повноту інактивації, нешкідливість та імуногенну активність (на лабораторних тваринах – кролях) [9]. За результатами проведених досліджень встановлено, що всі три серії вакцини відповідали необхідним нормативним вимогам, і дана вакцина може бути випробувана на сільськогосподарських тваринах, тому наступним етапом наших досліджень було проведення дослідження імуногенності створеного імунобіологічного препарату у виробничих умовах на сприйнятливих тваринах – ВРХ.

Результати досліджень стануть науковим підґрунтям для розробки та впровадження нових ефективних засобів для профілактики лептоспірозу ВРХ на території України.

**Мета роботи.** Вивчити імуногенну активність нової полівалентної вакцини проти лептоспірозу сільськогосподарських тварин варіант «bovis» в виробничих умовах.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили на фермі ТОВ Агрофірми «Маяк», Полтавської області, Котелевського р-ну. Для оцінки імуногенної активності створеної полівалентної вакцини проти лептоспірозу були проведені дослідні ВРХ.

Перед проведенням дослідження у всіх піддослідних тварин були відібрані проби крові, отримана сироватка та досліджена в РМА на наявність лептоспірозних антитіл. При постановці реакції використовували вісім діагностичних штампів лептоспір, восьми серологічних груп: *Australis*, *Canicola*, *Grippotyphosae*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Sejroe* та *Tarassovi*. У всіх тварин РМА на лептоспіроз була негативною.

Антигенні властивості вакцини визначали на 30 гол. ВРХ дійного стада віком старше одного року та 30 гол. телят віком до одного року (віком від 8 до 11 місяців). Тваринам старше одного року вводили вакцину внутрішньом'язово у дозі 5 см<sup>3</sup>, тваринам до року – в дозі 3 см<sup>3</sup> також внутрішньом'язово.

Згодом, після проведення профілактичного щеплення, у піддослідних тварин відбирали проби крові (з вушної вени) та отримували

сироватку. В сироватках імунізованої ВРХ визначали титр антитіл у РМА, тричі через 14, 21 та 60 днів після щеплення. При постановці реакції використовували шість вакцинних штампів лептоспір, які використовувались при виготовленні вакцини. Титри антитіл у РМА визначали у 8-ми розведеннях від 1:25 до 1:3200 (кратність 2). Те розведення сироватки, в якому спостерігалась половинна та більша аглютинація лептоспір, вважалось за титр досліджуваного антигену.

Експериментальні дані обробляли статистично [ 7 ].

Перелік штампів які використовувались при виготовленні вакцини наведений в таблиці 1.

Таблиця 1

**Перелік виробничих штампів лептоспір, використаних для виготовлення вакцини проти лептоспірозу ВРХ**

№ п/п	Серогрупа	Серовар	Штам
1.	<i>Sejroe</i>	<i>polonica</i>	493 Poland
2.	<i>Sejroe</i>	<i>hardjo</i>	Hardjoprajtno
3.	<i>Hebdomadis</i>	<i>kabura</i>	kabura
4.	<i>Grippytyphosa</i>	<i>grippytyphosa</i>	ВГНКИ-1
5.	<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	ВГНКИ-4
6.	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	ВГНКИ-2

**Результати досліджень:**

Протягом всього терміну після проведення щеплення у всіх голів ВРХ (стад обох вікових груп) не спостерігалось пригнічення, підвищення температури, анафілактичного шоку та місцевих реакцій.

Після імунізації піддослідних тварин експериментальною серією інактивованої полівалентної вакцини проти лептоспірозу тварин варіант «bovis» ми спостерігали виражену індукцію лептоспірозних антитіл у РМА проти серогруп лептоспір, які входили до складу вакцини (таблиця 2 та 3).

Імунологічну ефективність вакцини (Е) у щеплених тварин визначали за формулою:

$$E = \frac{a \times 100}{A}, \text{ де:}$$

a – кількість щеплених в дослідній групі тварин, які відповіли позитивною імунологічною реакцією;

A – загальна кількість щеплених вакциною.

Показник імунологічної ефективності створеної лептоспірозна полівалентної вакцини для ВРХ віком понад рік становив:

$$E = 28 \times 100 / 30 = 93,3 \%$$

Для ВРХ віком до одного року даний показник становив:

$$E = 27 \times 100 / 30 = 90 \%$$

Таблиця 2

**Динаміка титрів антитіл у РМА щодо різних серогруп лептоспір у сироватці крові вакцинованої ВРХ віком до одного року (доза 3 см<sup>3</sup>), M ±m, n=27**

Серогрупа	Титр антитіл, по днях після вакцинації		
	14 доба після вакцинації	21 доба після вакцинації	60 днів після вакцинації
<i>Sejroe (polonica)</i>	322,2±63,6*	325,9±67,0	88,0±12,3*
<i>Sejroe (hardjo)</i>	218,5±33,7*	292,6±52,3	69,4±12,6*
<i>Hebdomadis</i>	359,3±68,5*	353,7±71,0	96,3±20,2*
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	411,1±72,2*	403,7±61,3	113,0±18,9*
<i>Grippytyphosa</i>	188,9±30,6*	174,1±26,0	63,9±12,0*
<i>Tarassovi</i>	177,8±34,4*	187,0±36,6	63,0±12,3*
<b>Середній титр</b>	<b>279,6±35,3*</b>	<b>289,5±30,4</b>	<b>82,3±7,0*</b>

Примітка. \* - різниця достовірна відносно попереднього дослідження при p≤0,001.

Таблиця 3

**Динаміка титрів антитіл у РМА щодо різних серогруп лептоспір у сироватці крові вакцинованої ВРХ віком понад один рік (доза 5 см<sup>3</sup>), M ±m, n=28**

Серогрупа	Титр антитіл, по днях після вакцинації		
	14 доба після вакцинації	21 доба після вакцинації	60 днів після вакцинації
<i>Sejroe (polonica)</i>	396,4±61,6*	389,3±65,2	97,3±13,5*
<i>Sejroe (hardjo)</i>	271,4±49,9*	360,7±55,8	82,1±15,9*
<i>Hebdomadis</i>	425,0±67,2*	414,3±57,6	139,3±31,9*
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	450,0±94,0*	464,3±70,2	114,3±20,5*
<i>Grippytyphosa</i>	210,7±33,9*	164,3±30,7	75,9±15,4*
<i>Tarassovi</i>	160,7±23,6*	242,9±49,5	62,5±8,9*
<b>Середній титр</b>	<b>319,0±43,7*</b>	<b>339,3±37,8</b>	<b>95,2±9,1*</b>

Примітка. \* - різниця достовірна відносно попереднього дослідження при p≤0,001.

Аналіз результатів імунологічних досліджень, які наведені в таблиці 2 та 3, свідчить про те, що полівалентна вакцина проти лептоспірозу сільськогосподарських тварин варіант «bovis» ефективна через те, що володіє вираженою імуногенністю проти лептоспірозу ВРХ. Піддослідні тварини, а саме 27 гол. ВРХ віком до одного року та 28 гол. корів дійного стада, відповідали активним формуванням імунітету проти лептоспірозу на введення досліджуваної вакцини в дозі 3 та 5 см<sup>3</sup>, відповідно.

У ВРХ обох вікових груп титр антитіл в РМА досягав максимальних показників на 21-у добу після вакцинації 1:289,5±30,4 та 1:339,3±37,8, а потім на 60-ту добу він різко знижувався до 1:82,3±7,0 та 1:95,2±9,1 у ВРХ віком до року та корів дійного стада (віком понад один рік), відповідно. На наш погляд різке зниження рівня титрів антитіл на 60-ту добу після вакцинації пов'язано з різними класами імуноглобулінів. Реакцію мікроаглютинації обумовлюють імуноглобуліни класу Ig M, а превентивну активність імуноглобуліни класу Ig G. Згідно з літературними даними, на 14-ту добу виявляються імуноглобуліни класу Ig M, а на 35-ту добу спостерігається високий рівень імуноглобулінів класу Ig G. Так у вакцинованій ВРХ титр антитіл, які виявляють в РМА, швидко наростає, досягає максимального рівня на 14-21-шу добу після вакцинації, потім так само швидко знижується [3].

Аналіз матеріалів таблиць 2 та 3 засвідчує формування напруженості імунітету до всіх серогруп лептоспір, які входили до складу експериментальної серії вакцини – *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi* та *Grippotyphosa*, тобто до основних серогруп, які викликають захворювання на лептоспіроз серед поголів'я ВРХ України на теперішній час.

За період проведення дослідів у жодній з піддослідних тварин не спостерігалось клінічних ознак та стрімкого збільшення титру антитіл в РМА, характерних для лептоспірозу, незважаючи на те, що тварини утримувались в господарстві, де спостерігалась циркуляція лептоспір серогруп *Sejroe* та *Grippotyphosa*.

Отже, ґрунтуючись на результатах проведених досліджень, ми можемо стверджувати, що створена на базі лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин Інституту ветеринарної медицини НААНУ експериментальна серія полівалентної інактивованої вакцини проти лептоспірозу тварин характеризується високою імуногенною активністю та є ефективним засобом профілактики лептоспірозу ВРХ.

Результати проведених імунологічних досліджень були подані (у складі досяє) для реєстрації даного препарату до Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ).

#### **Висновки.**

1. Створена на базі лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин Інституту ветеринарної медицини НААН експериментальна серія полівалентної вакцини проти лептоспірозу сільськогосподарських тварин варіант «bovis» характеризується високою імуногенною активністю, себто являється ефективним засобом профілактики лептоспірозу ВРХ.

2. Імунізація ВРХ створеною вакциною зумовлює виражену індукцію лептоспірозних антитіл до серогруп лептоспір, які входять до складу вакцини. У ВРХ обох вікових груп титр антитіл в РМА досягав максимальних показників на 21-у добу після вакцинації 1:289,5±30,4 та 1:339,3±37,8, а потім на 60-ту добу він різко знижувався до 1:82,3±7,0 та 1:95,2±9,1 у ВРХ віком до року та корів дійного стада (віком понад один рік), відповідно.

3. Отримана вакцина найбільш відповідає вимогам сьогоденності тому, що до її складу входять найбільш поширені серогрупи лептоспір які реєструються в останній час серед поголів'я ВРХ на території України.

Створення даної вакцини необхідне для проведення раціональної та успішної боротьби з лептоспірозою інфекцією, а також для забезпечення епізоотичного благополуччя щодо лептоспірозу ВРХ на території України.

#### **Список використаної літератури:**

1. Панин А. Н. Вакцина против лептоспироза животных лиофилизированая / А. Н. Панин, Ю. А. Малахов, Г. Л. Соболева и др. // Ветеринария. – 2002. – № 1. – С. 21 – 24.
2. Cocyte M. La leptospirose animale en Hongne frequence d'apparition, diagnostic et prophylaxie/ M. Cocyte, G. Halmos // Problemes zoosanitaires d'actuelite. – 1983. – P. 43–50.
3. Лептоспіроз животных / Ю. А. Малахов, А. Н. Панин, Г. Л. Соболева. – Я.: ДИА-пресс, 2000. – 584 с.
4. European Pharmacopoeia draft monograph; Bovine Leptospirosis vaccine (inactivated); PA/PH/Exp. T. 28. – Vol. 15. – 2001. –P. 1028–1032.
5. Ellis W. A. Leptospirosis / W. A. Ellis // Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. – In the: OIE (Office International des Epizooties). – 1996. – P.198–204.
6. Особливості етіологічної структури лептоспірозу великої рогатої худоби в Україні / В. А. Піотрович, О. О. Кучерявенко, Я. В. Мужидький // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2006. – № 86. – С. 285–289.
7. Уховський В. В. Епізоотолого-географічна характеристика лептоспірозу ВРХ на території України / В. В. Уховський // Науково-технічний бюлетень. – Львів. – 2010. – Вип. 11, № 2–3. – С. 263–268.
8. Патент № 828459. СССР. Поливалентная вакцина ВГНКИ против лептоспироза животных и способ её получения и использования / Ю. А. Малахов, А. П. Самохвалов, А. Н. Шушлико, В. С. Соловьёва, Р. М. Алёхин, В. С. Панов, Г. Ф. Денисенко, А. М. Косиков, И. Г. Серёгин, И. А. Логинов, В. В. Шорохов, А. Н. Панин, Н. М. Иванова и Г. Л. Соболева // Заяв. 02.01.79; Опубл. 23.01.83, Бюл. № 3.
9. Уховський В. В. Вивчення імуногенних властивостей експериментальних серій полівалентної вакцини проти лептоспірозу тварин «варіант BOVIS» в лабораторних умовах / В. В. Уховський // Наукові праці ПФ НУБіП України Кримський агротехнологічний університет. – Серія «Ветеринарні науки». – 2013. – Випуск № 155. – С. 270–278.

#### **ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА ЖИВОТНЫХ ВАРИАНТ «BOVIS» В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ/ В. В. Уховский**

В связи с изменениями этиологической структуры лептоспироза крупного рогатого скота на территории Украины применение имеющихся вакцин не может в полной мере профилактировать это заболевание. Учёными лабораторий лептоспироза Института ветеринарной медицины разработана и изготовлена экспериментальная серия поливалентной вакцины для крупного рогатого скота, в состав которой входят пять серогрупп лептоспир (*Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Sejroe*, *Grippotyphosa*), которые в настоящее время наиболее распространены на территории Украины. В статье представлены данные результатов изучения экспериментальной серии инактивированной поливалентной вакцины против лептоспироза животных вариант «bovis» по иммуногенной активности в динамике через 14, 21, 60 суток после вакцинации.

Ключевые слова: вакцина, лептоспира, лептоспироз, крупный рогатый скот, серогруппы, штамм, антитела, реакция микроагглютинации.

**IMMUNOGENICITY STUDY OF THE CONCENTRATED MULTIVALENT VACCINE AGAINST LEPTOSPIROSIS OF ANIMALS VARIANT «BOVIS» IN A PRODUCTION CONDITIONS / V. V. Ukhovskiy**

*Due to changes in the etiological structure of leptospirosis in cattle in Ukraine the use of available vaccines may not fully prevent the disease. A series of experimental polyvalent vaccine against leptospirosis in cattle has been developed and manufactured by scientists of the laboratory of leptospirosis of the Institute of Veterinary Medicine, which consists of five serogroups leptospira (Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Hebdomadis, Sejroe, Grippotyphosa), and are currently the most common in Ukraine. The article presents the results of an experimental study of a series of inactivated polyvalent vaccine against leptospirosis of animals variant «bovis» for immunogenic activity dynamic since 14, 21, 60 days after vaccination.*

*Antigenic properties of the vaccine were determined in 30 dairy cattle older than one year and 30 heads of calves under one year (ages 8 to 11 months). The animals older than one year vaccine was injected intramuscularly at a dose of 5 cm<sup>3</sup>, animals up to a year-at a dose of 3 cm<sup>3</sup> and intramuscularly.*

*After immunization of experimental animals experimental series inactivated polyvalent vaccine against leptospirosis in animal variant «bovis» it was observed a strong induction of leptospirosis antibodies in MAT against serogroups leptospira, which were part of the vaccine.*

*In both age groups of cattle titer antibodies in MAT reached the maximum indices for 21 days after vaccination 1: 289,5 ± 30,4 and 1: 339,3 ± 37,8, and then on the 60-th day it decreased sharply to 1: 82,3 ± 7,0 and 1: 95,2 ± 9,1 in cattle age under one year cows and dairy cattle (over one year), respectively. We believe the sharp decline in antibody titers on the 60<sup>th</sup> day after vaccination due to the different classes of immunoglobulins. The MAT is determined by immunoglobulin Ig M, and preventive activity of immunoglobulin Ig G. According to the literature, on the 14<sup>th</sup> day revealed immunoglobulin Ig M, and the 35<sup>th</sup> day there is a high level of immunoglobulin Ig G. So in vaccinated cattle titer of antibodies found in MAT rapidly increases, reaches a maximum level at 14-21<sup>st</sup> day after vaccination, then just as quickly decreases. The resulting vaccine meets most present requirements and it is composed of the most common serogroups leptospira registered in recent years among cattle in the territory of Ukraine.*

*Creation of vaccine is necessary for efficient and successful prevention against leptospirosis infection and for leptospirosis epizootic welfare for cattle in the territory of Ukraine.*

*Keywords: vaccine, leptospira, leptospirosis, cattle, serogroup, strain, antibodies, microagglutination test.*

**Рецензент – кандидат ветеринарных наук О. А. Тарасов.**