

5. Inada, R. (1916). The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). *J Exp Med*, 23, 377-402 [in English].
6. Nykol'skyj, S.N., Desiatov, F.M., Marchenko, H.F. (1935). Materyaly po yzucheniyu zabolevaniya krupnogo rohatoho skota na Severnom Kavkaze, pryivleniya khkrovavoj mochy y zheltukhy [Materials of the study of diseases in cattle in the North Caucasus, the manifestations of bloody urine and jaundice]. *I Sovetskaia veterinaryaria – I Sovetskaya veterinaryaria*, 10, 18-23 [in Russian].
7. Mandyhra, M. (2004). Etiolohichna struktura ta poshyrennia leptospirozu sil's'kohospodars'kykh tvaryn u gospodarstvakh Ukrainy [Etiological structure and spreading of leptospirosis at livestock farms in Ukraine]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy – Veterinary Medicine Ukraine*, 6, 12-13 [in Ukrainian].
8. Ellis, W. A. (1994). Leptospirosis. *OIE manual of recommended diagnostic techniques and requirements for biological products for List A and B diseases*, 2, 7, 1 [in English].
9. Instrukciya pro zahody z profilaktiki ta ozdorovlennya tvaryn vid leptospirozu. Ministerstvo sil's'kogo gospodarstva i prodovolstva Ukrainy, № 5 vid 15.03.94[in Ukrainian].
10. Terrestrial animal health code. OIE, 2010.

УДК 636.09 – 615.371.981.55.49

**АНДРІЯЩУК В.О., ГОРБАТЮК О.І.**, канд. вет. наук,  
**ЖОВНІР О.М.**, e-mail: Zhovnir73@ukr.net  
**РИЖЕНКО Г.Ф.**, канд. вет. наук,  
**ТЮТЮН С.М., КАМЕНЧУК П.П.**, e-mail: anaerob12@ukr.net  
*Інститут ветеринарної медицини НААН*

## **ВПЛИВ АСОЦІЙОВАНИХ ВАКЦИН ПРОТИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ ТВАРИН НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ**

*Висвітлені результати досліджень з вивчення показників клітинної ланки імунітету в реакціях спонтанного та комплементарного розткоутворення (Е–РУК, ЕАС–РУК) і міграції лейкоцитів (РЗМЛ) за щеплення тварин асоційованою вакциною «Некросан» проти некробактеріозу, некротичного гепатиту, злоякісного набряку та інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії й експериментальним зразком вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин. Встановлено високу функціональну активність імункомпетентних клітин за щеплення овець вакциною «Некросан» та експериментальним зразком вакцини «Некросальм».*

**Ключові слова:** асоційована вакцина, клітинний імунітет, Е–РУК, ЕАС–РУК, РЗМЛ, ІМЛ.

**Вступ.** Застосування вакцинних препаратів дає змогу тримати під контролем епізоотичну ситуацію в Україні [1, 2]. На імунну систему тварин вакцини можуть впливати позитивно, активізуючи клітинну та гуморальну ланки імунітету чи супресивно, спричиняючи імунодефіцити [3–5]. Нині вчені приділяють значну увагу вивченню імунобіологічної перебудови в організмі тварин за дії асоційованих вакцин [6–8]. Цього вимагають і сучасні вимоги Європейського Союзу щодо застосування ветеринарних імунологічних засобів, за якими передбачено вивчення імунного статусу у тварин, дослідження впливу

препаратів на клітинну та гуморальну ланки імунітету, показники природної резистентності організму тощо [9, 10].

Клітинні імунні реакції тісно пов'язані з гуморальною відповіддю організму на антиген. Визначення стану клітинної ланки імунітету за щеплення тварин має важливе значення, оскільки дозволяє дати оцінку імунному статусу організму. Повноцінна імунна відповідь забезпечується кооперативною взаємодією Т- і В-лімфоцитів та макрофагів. Тест спонтанного і комплементарного розеткоутворення, характерний для Е-РУК і ЕАС-РУК, дає можливість визначити їхню функціональну активність в організмі щеплених тварин [11].

**Мета роботи.** Вивчити вплив деяких асоційованих вакцин проти бактеріальних хвороб тварин, розроблених і виготовлених науковцями лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН під керівництвом доктора ветеринарних наук, професора В.П. Риженка, на показники клітинної ланки імунітету в щеплених тварин.

**Матеріал і методи досліджень.** Експериментальні дослідження проведені на базі лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН, експериментальній базі «Пилиповичі», фермі з відгодівлі великої рогатої худоби АФ «Матюші» с. Матюші, Білоцерківського р-ну, Київської обл.

Функціональну активність імунокомпетентних клітин вивчали в овець, щеплених асоційованими вакцинами «Некросан» проти некробактеріозу, некротичного гепатиту, злоякісного набряку та інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії тварин, серія № 18, контроль № 18 і експериментальним зразком вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин, серія № 1, контроль № 1. Для проведення експерименту за принципом пар-аналогів були сформовані дослідні і контрольні групи овець по 6 тварин у кожній, віком до 3 років, масою 35,0–40,0 кг. Щеплення овець кожною із вакцин проводили дворазово з інтервалом 14 діб, в об'ємі по 3 см<sup>3</sup>, підшкірно, у середню третину ший.

За вивчення стану показників клітинної ланки імунітету у великої рогатої худоби за застосування асоційованої вакцини «Некросан» серія № 1, контроль № 1, за методом пар-аналогів були сформовані дві групи корів, дослідна і контрольна, по 10 гол. у кожній, відповідних за генотипом, конституцією, продуктивністю, віком 3–4 роки. Послідовність постановки експериментів показана в таблиці 1.

У підготовчий період, тривалістю 14 діб, тварин дослідних і контрольних груп, відповідно до видів, годували згідно розроблених у господарствах раціонів, утримували в ідентичних умовах, клінічно обстежували та оцінювали їхній фізіологічний стан. Оскільки упродовж підготовчого періоду будь-яких змін в організмі овець, корів і свиней не виявлено, всі тварини були використані в експерименті.

Для проведення досліджень у тварин дослідних і контрольних груп відбирали зразки крові зі стабілізатором (гепарин із розрахунку кінцевої

концентрації 30 ОД/см<sup>3</sup>) до вакцинації, через 7 і 14 після першого та через 7, 14, 21, 28 днів після повторного щеплення.

Таблиця 1

**Схема організації дослідів за методом пар-аналогів**

Призначення групи тварин	Вид тварин	Кількість тварин, гол	Періоди постановки експерименту:		
			підготовчий	обліковий	
				підперіод I	підперіод II
контрольна	вівці	6	основний раціон	основний раціон	основний раціон
дослідна		6	основний раціон	основний раціон + перше щеплення вакциною «Некросан» серія № 18, контроль № 18	основний раціон + повторне щеплення вакциною «Некросан» серія № 18, контроль № 18
контрольна	вівці	6	основний раціон	основний раціон	основний раціон
дослідна		6	основний раціон	основний раціон + перше щеплення вакциною «Некросальм» серія № 1, контроль № 1	основний раціон + повторне щеплення вакциною «Некросальм» серія № 1, контроль № 1
контрольна	корови	10	основний раціон	основний раціон	основний раціон
дослідна		10	основний раціон	основний раціон + перше щеплення вакциною «Некросан» серія № 1, контроль № 1	основний раціон + повторне щеплення вакциною «Некросан» серія № 1, контроль № 1
тривалість експерименту			14 днів	14 днів	28 днів

Загальну кількість лейкоцитів у зразках крові, диференціацію клітин крові та визначення абсолютної кількості лімфоцитів проводили за загальноприйнятими методиками за описом В.І. Левченка [12] та В.М. Івченка [13]. Визначення Е-РУК і ЕАС-РУК у зразках крові від щеплених тварин проводили за методом Jondal зі співав. у модифікації А.С. Козлюка [14] та В.М. Івченка [13]. Визначення індексу міграції лейкоцитів (ІМЛ), сенсibiliзованих специфічним антигеном *F. necrophorum* проводили за постановки реакції затримки міграції лейкоцитів (РЗМЛ) за загальноприйнятою методикою за описом В.М. Івченка [13].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за використання програми «Excel 97» для Windows із обчисленням середніх значень (M), середньоквадратичних відхилень (m) і порівняльних середніх значень із

використанням параметричного t-критерію Стьюдента з урахуванням порогу вірогідності  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$  [15].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Нами проведені дослідження з вивчення функціональної активності імунокомпетентних клітин у овець за застосування асоційованої вакцини «Некросан» (табл. 2). У щеплених овець спостерігалась тенденція до постійного зростання показників вмісту абсолютної кількості Е–РУК, показники яких на кінець досліду в 2,0 та у 1,6 разів вірогідно перевищували початкові та дані у нещеплених овець. Оскільки активна субпопуляція Е–РУК представлена, в основному, хелперами, результати досліджень показали зростання їхнього кількісного вмісту уже через 7 діб після першого щеплення тварин. Тенденція до зростання спостерігалась упродовж усього терміну експерименту, а за його закінчення кількість активних Т-лімфоцитів була вірогідно вищою у 2,1 та у 2,4 рази відповідно, порівняно із початковими та показниками тварин контрольної групи, що засвідчувало зростання функціональної активності Т-клітинної ланки імунітету.

Вивчені нами показники кількісного вмісту ЕАС–РУК, які відповідають за гуморальний імунітет і є попередниками антитілосинтезуючих плазматичних клітин. Результати експериментальних досліджень показали, що за дворазового щеплення овець вакциною «Некросан» спостерігалось стійке зростання відносної кількості ЕАС–РУК, оскільки вони в кінці експерименту вірогідно перевищували початкові показники на 35,4 % ( $p < 0,001$ ).

Підтвердженням імунобіологічної перебудови у організмі щеплених овець і формування гуморального специфічного захисту у тварин були показники абсолютної кількості ЕАС–РУК, які за закінчення досліду перевищувала вірогідно показники у тварин контрольної групи в 1,7 рази ( $p < 0,001$ ) та на початку досліду – у 2,7 рази.

Дослідження стану клітинного імунітету в овець, щеплених експериментальним зразком асоційованої вакцини “Некросальм” показали, що окрім зростання показників абсолютної кількості лімфоцитів у 1,8 рази, порівняно з показниками тварин контрольної групи ( $p < 0,01$ ), у вакцинованих овець спостерігали тенденцію до постійного зростання показників вмісту абсолютної кількості Е–РУК, які в кінці експерименту у 2,0 рази ( $p < 0,001$ ) вірогідно перевищували початкові та в 1,6 разів показники у овець контрольної групи.

**Результати досліджень кількісного популяційного вмісту імунокомпетентних клітин в крові овець і корів щеплених асоційованими вакцинами «Некросан» і «Некросальм»,  $M \pm m$ ,  $n_{об} = 12$ ,  $n_{кор} = 20$**

№ п/п	Група тварин	Гематологічні показники			Вміст імунокомпетентних клітин:							
		загальна кількість лейкоцитів, Г/л	вміст лімфоцитів:		Е-РУК та субпопуляції				ЕАС-РУК		Вміст 0-клітин	
			%	абсолютна кількість, Т/л	%	абсолютна кількість, Г/л	в т.ч. Еа-РУК		%	абсолютна кількість, Г/л	%	абсолютна кількість, Г/л
							%	абсолютна кількість, Г/л				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>Асоційована вакцина «Некросан» проти некробактеріозу, некротичного гепатиту, злоякісного набряку та інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії тварин</b>												
<b>початкові дані</b>												
1	контрольна	7,050±0,400	74,70±0,30	5,266±0,281	35,60±2,00	1,375±0,165	26,00±2,67	0,358±0,025	21,50±2,50	1,132±0,117	42,90±2,00	2,259±0,115
2	дослідна	6,530±0,600	44,00±1,20	2,873±0,259	36,40±3,17	1,046±0,139	25,70±3,17	0,269±0,065	29,40±2,00	0,844±0,089	34,20±2,00	0,983±0,046
<b>через 7 дів за першого щеплення</b>												
3	контрольна	6,600±0,290	59,30±1,20	3,914±0,180	35,0±2,17	1,370±0,146	26,60±2,00	0,364±0,035	33,00±2,33	1,292±0,099	32,00±3,17	1,252±0,121
4	дослідна	5,600±0,458	39,00±1,50	2,204±0,110	43,40±1,50	0,957±0,052	32,80±1,67	0,314±0,019	33,50±2,33	0,738±0,080	23,1±3,33	0,509±0,084
<b>через 14 дів за першого щеплення</b>												
5	контрольна	6,850±0,400	60,30±3,33	4,131±0,450	31,00±2,83	1,281±0,230	25,80±3,00	0,330±0,100	32,800±4,50	1,355±0,189	36,20±4,50	1,495±0,266
6	дослідна	7,000±0,108	46,00±0,83	3,220±0,080	44,30±1,83	1,426±0,050	32,70±2,33	0,466±0,036	37,00±2,83	1,191±0,110	18,70±2,83	0,602±0,085
<b>через 7 дів за повторного щеплення</b>												
7	контрольна	6,780±0,390	63,700±1,33	4,319±0,167	26,30±1,00	1,136±0,090	30,800±1,67	0,350±0,030	33,00±1,17	1,425±0,071	40,70±1,83	1,758±0,067
8	дослідна	7,000±0,258	46,00±0,66	3,220±0,114	45,00±1,6	1,449±0,079 *	33,30±1,00	0,483±0,039 *	42,40±1,33	1,365±0,081 *	12,60±2,33	0,406±0,070

(продовження табл. 2)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>через 14 дів за повторного щеплення</b>												
9	контрольна	6,100±0,2 2	59,70±1,67	3,642±0,160	27,50±1,00	1,002±0,0 73	29,20±1,50	0,293±0,028	31,20±0,67	1,136±0,076	41,30±1,50	1,504±0,06 3
10	дослідна	7,200±0,2 3	51,00±1,17	3,670±0,070	45,00±1,33	1,653±0,0 35 **	33,50±0,50	0,553±0,016 **	45,30±1,67	1,663±0,037 **	9,70±2,830	0,356±0,11 2
<b>через 21 добу за повторного щеплення</b>												
11	контрольна	6,880±0,3 6	65,00±0,500	4,472±0,225	27,50±1,00	1,229±0,0 70	29,20±0,50	0,359±0,026	30,00±1,00	1,342±0,093	42,50±1,66	1,901±0,11 8
12	дослідна	7,200±0,1 9	52,00±1,00	3,744±0,149	45,30±1,50	1,696±0,0 57 **	34,60±4,00	0,587±0,069 **	45,50±0,33	1,704±0,061 **	9,20±1,50	0,344±0,06 1
<b>через 28 дів за повторного щеплення</b>												
13	контрольна	8,100±0,2 50	61,00±0,500	4,941±0,125	26,50±0,83	1,309±0,0 70	17,30±0,33	0,226±0,011	27,00±1,17	1,334±0,078	46,50±1,67	2,298±0,03 3
14	дослідна	8,330±0,2 70	51,00±1,170	4,248±0,119	45,30±1,17	1,924±0,0 94 **	34,00±1,00	0,654±0,035 **	45,50±1,17	1,933±0,105 **	9,20±2,33	0,391±0,10 6
<b>Асоційована вакцина «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин</b>												
<b>Вихідні дані</b>												
1	контрольна	7,050±1,3 50	74,70±1,70	5,266±0,170	35,60±2,40	1,875±0,21 0	26,00±3,00	0,488±0,040	21,50±1,75	1,132±0,070	42,90±2,75	2,259±0,04 0
2	дослідна	5,250±0,1 70	53,00±0,40	2,783±0,380	38,40±1,60	1,069±0,07 0	24,20±1,50	0,259±0,030	27,70±1,70	0,827±0,100	33,90±1,00	0,943±0,09 0
<b>Через 7 днів після першого щеплення</b>												
3	контрольна	6,600±0,9 50	59,30±2,30	3,914±0,100	35,00±1,70	1,370±0,12 0	26,60±2,40	0,364±0,070	33,00±2,00	1,292±0,200	32,00±3,00	1,252±0,13 0
4	дослідна	5,530±0,2 03	49,00±3,00	2,710±0,120	43,70±1,30	1,184±0,06 0	27,70±1,00	0,328±0,010 *	28,50±1,80	0,772±0,0700	27,80±4,60	0,754±0,14 0
<b>Через 14 днів після першого щеплення</b>												
5	контрольна	6,850±0,7 20	60,30±2,70	4,131±0,100	31,00±2,50	1,281±0,30 0	25,80±3,80	0,330±0,050	32,80±2,00	1,355±0,120	36,20±1,30	1,495±0,11 0
6	дослідна	6,920±0,1 30	46,00±1,50	3,186±0,060	43,00±0,01	1,370±0,01 0	31,50±2,00	0,431±0,050 **	37,30±1,30	1,118±0,030 **	19,70±2,00	0,628±0,03 0

(продовження табл. 2)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>Через 7 днів після повторного щеплення</b>												
7	Контроль на	6,780±0,7 80	63,70±2,70	4,319±0,06	26,30±1,50	1,136±0,11	30,80±1,70	0,350±0,040	33,00±0,80	1,425±0,100	40,70±1,30	1,758±0,05 0
8	Дослідна	6,000±0,1 30	57,00±2,50	3,420±0,12	47,20±0,89	1,614±0,07 * / •	35,30±2,00	0,570±0,050 **	40,30±1,20	1,378±0,040 **	12,50±1,70	0,428±0,05 0 **
<b>Через 14 днів після повторного щеплення</b>												
9	Контроль на	6,100±0,0 30	59,70±3,30	3,642±0,07	27,50±1,00	1,002±0,02	29,20±1,30	0,293±0,010	31,20±0,33	1,136±0,030	41,30±0,70	1,504±0,06 0
10	Дослідна	7,280±0,4 80	54,00±0,50	3,931±0,14	47,70±1,00	1,875±0,09 *	39,30±2,30	0,737±0,080 **	40,70±0,80	1,600±0,100 ***	11,60±1,50	0,456±0,01 0 **
<b>Через 21 днів після повторного щеплення</b>												
11	Контроль на	6,880±0,5 30	65,00±3,00	4,472±0,11	27,50±1,00	1,229±0,07	29,20±0,60	0,359±0,030	30,00±1,00	1,342±0,120	42,50±0,83	1,901±0,12 0
12	Дослідна	7,470±0,8 30	57,00±0,90	4,258±0,04 *	44,30±2,70	1,886±0,19 **	29,25±2,00	0,552±0,150 **	43,70±1,20	1,861±0,090 ***	12,00±2,30	0,511±0,05 0 **
<b>Через 28 днів після повторного щеплення</b>												
13	Контроль на	8,100±0,0 30	61,00±1,00	4,941±0,04	26,50±0,70	1,309±0,04	17,30±0,01	0,226±0,010	27,00±0,80	1,334±0,040	46,50±1,20	2,298±0,03 0
14	Дослідна	8,700±0,7 30	59,00±2,00	5,133±0,06 **	41,00±1,75	2,105±0,05 *** / •••	24,80±0,83	0,552±0,020 **	43,50±0,50	2,233±0,100 ***	15,50±1,00	0,796±0,10 0

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ , порівняно із початковими; • –  $p < 0,05$ ; ••• –  $p < 0,001$ , порівняно із показниками контрольної групи.

Абсолютна кількість Е–РУК також вірогідно зросла у 1,5 та 1,8 разів ( $p < 0,001$ ), порівняно із показниками у нещеплених тварин та початковими, відповідно. Дослідження відносних показників Т-активного розеткоутворення після щеплення дослідним зразком вакцини «Некросальм», показали, що через 14 діб за повторних щеплень спостерігалася їхня найбільша концентрація, що підтверджено зростанням показників вірогідно у 1,6 та 1,4 рази ( $p < 0,01$ ), порівняно із початковими та показниками в нещеплених тварин. За закінчення досліджень показники активних Е–РУК вірогідно зростали у 2,4 і 2,9 разів ( $p < 0,001$ ), порівняно з початковими та показниками у тварин контрольної групи, що підтверджувало високу функціональну активність імунокомпетентних клітин, відповідальних за клітинний імунітет. Показники абсолютної кількості ЕАС – РУК в овець, щеплених експериментальним зразком вакцини «Некросальм», засвідчував їхнє постійне зростання упродовж усього терміну експерименту та в кінці дослідження вони були вірогідно більші, ніж у тварин контрольної групи у 2,3 та початковими результатами в 1,5 рази ( $p < 0,001$ ), що підтверджувало активацію гуморальної ланки імунітету, оскільки В-лімфоцити, трансформуючись у плазматичні клітини, синтезують специфічні антитіла.

Імунологічні реакції в організмі проходять під впливом антигену через спеціалізовані, специфічно сенсibiliзовані до нього, клітини лімфоїдного ряду. Нами досліджена функціональна активність Т-клітинного фактора імунітету за дворазового щеплення корів асоційованою вакциною «Некросан» із вивченням рівня ІМЛ за постановки РЗМЛ (табл. 3).

Оскільки гуморальний імунітет обумовлений спільною взаємодією імунокомпетентних клітин – Е–РУК і ЕАС–РУК, а сенсibiliзовані лімфоцити стимулюють процеси розмноження, дозрівання та диференціації ЕАС–РУК у плазматичні клітини, які продукують специфічні антитіла, свідченням активізації клітинних факторів імунітету і формування нормальної гуморальної відповіді за щеплення корів вакциною «Некросан» були позитивні значення ІМЛ. Аналіз одержаних результатів допоміг з'ясувати, що на початку експерименту в зразках крові корів дослідної групи лімфокінів виявлено не було, оскільки ІМЛ був негативним –  $1,25 \pm 0,06$  ум. од. Проте, вже через 7 діб після першого щеплення корів величина показників ІМЛ свідчила про активізацію клітинної ланки імунітету, оскільки спостерігалася затримка міграції лімфоцитів, а значення були позитивними –  $0,54 \pm 0,016$  ум. од. Затримка міграції лімфоцитів у присутності специфічного антигену пояснюється тим, що в організмі імунізованих тварин Т-лімфоцити, сенсibiliзовані до *F. necrophorum*. У результаті взаємодії зі специфічним антигеном *F. necrophorum in vitro* активізувалися та вивільнювали фактори інгібіції лімфоцитів – лімфокіни, що є медіаторами клітинного імунітету, тому й спричиняли затримку міграції лейкоцитів.



Таблиця 3

**Показники ІМЛ у зразках крові корів, імунізованих вакциною «Некросан»,  
M±m, n=10**

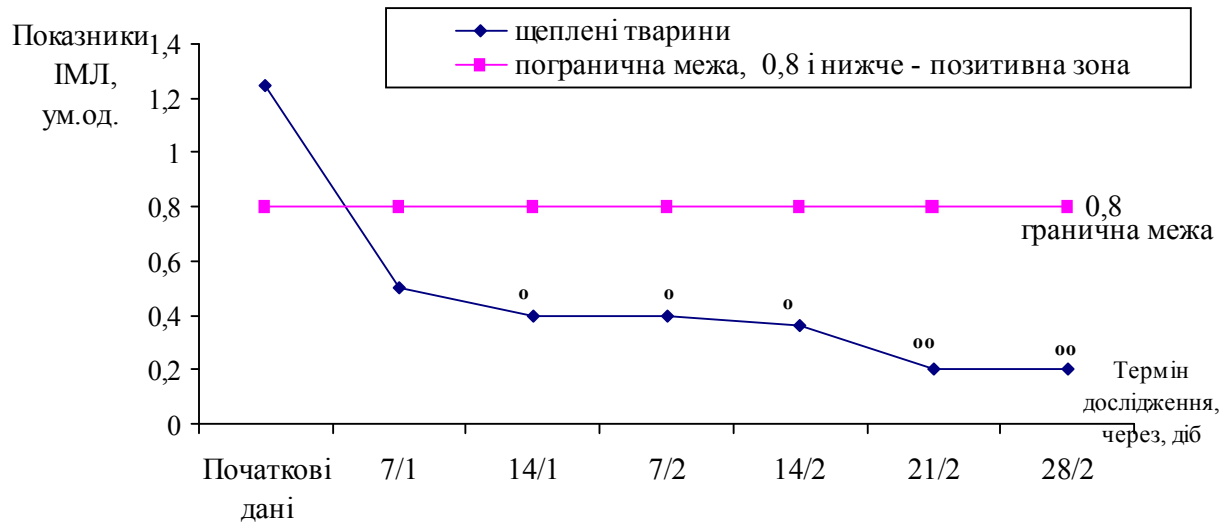
Показник и у капілярах	Вид операцій		Початко ві дані	Відбір зразків крові через, діб:					
				першого		повторного			
				7	14	7(21)	14(28)	21(35)	28(42)
Контрольні зразки середовище.199	Інкубува н-ня – 37°C 24 год	до	0,685 ± 0,060	0,721 ± 0,040	0,760 ± 0,020	0,744 ± 0,023	0,704 ± 0,027	0,728 ± 0,018	0,677 ± 0,015
		після	1,148 ± 0,080	1,070 ± 0,052	1,721 ± 0,040	1,813 ± 0,096	2,462 ± 0,110	2,146 ± 0,075	1,645 ± 0,093
	різниця показників		0,463 ± 0,005	0,349 ± 0,009	0,961 ± 0,006	1,069 ± 0,012	1,758 ± 0,023	1,418 ± 0,011	0,968 ± 0,015
Дослідні зразки антигеном <i>Fusobacterium necrophorum</i>	Інкубува н-ня – 37°C 24 год	до	0,367 ± 0,032	0,603 ± 0,029	0,781 ± 0,013	0,728 ± 0,020	0,712 ± 0,022	0,722 ± 0,009	0,680 ± 0,012
		після	0,945 ± 0,034	0,768 ± 0,020	1,125 ± 0,029	1,158 ± 0,026	1,352 ± 0,044	0,951 ± 0,026	0,850 ± 0,010
	різниця показників		0,578 ± 0,013	0,167 ± 0,003	0,344 ± 0,008	0,430 ± 0,012	0,640 ± 0,017	0,229 ± 0,012	0,171 ± 0,006
ІМЛ (індекс міграції лімфоцитів), ум. од.			1,25 ± 0,044	0,50 ± 0,038	0,40 ± 0,011	0,40 ± 0,011	0,36 ± 0,018	0,20 ± 0,028	0,20 ± 0,011

Примітки: 1. ІМЛ є позитивним, якщо його величина менша від 0,8;

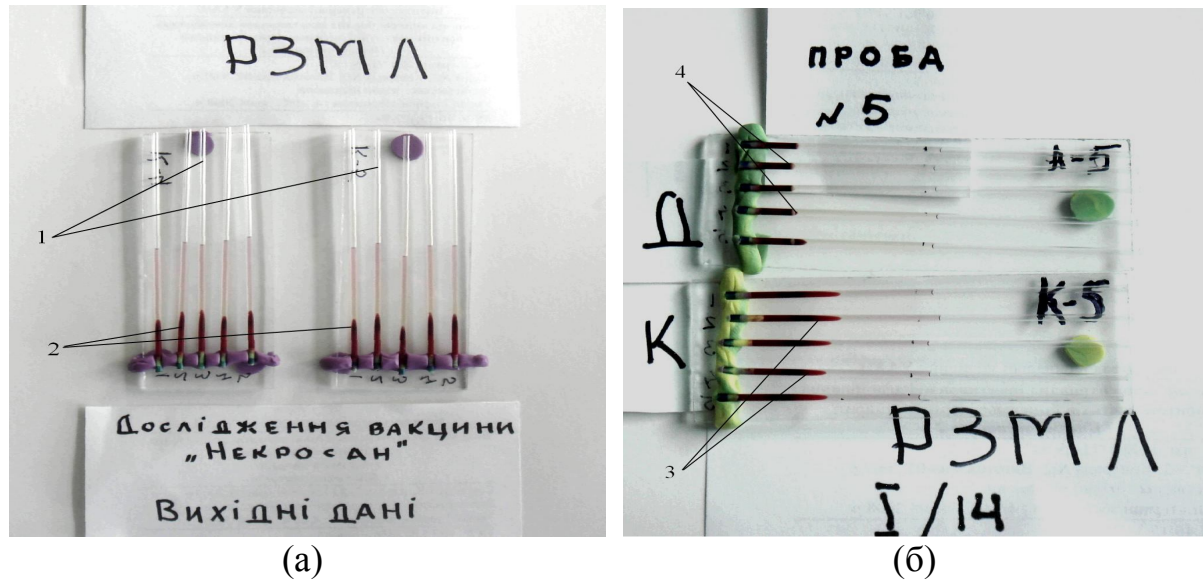
2. \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01, порівняно із початковими показниками.

Одержані результати досліджень показали, що надалі, через 14 діб за першої імунізації корів, показники ІМЛ вірогідно знижувалися у сторону позитивних значень і були меншими, порівняно з початковими даними у 2,5 рази, що засвідчувало сенсibilізацію Т-лімфоцитів до специфічного антигену *F. necrophorum* (рис. 1).

За повторного щеплення результати подальших досліджень засвідчили тенденцію до постійного вірогідного зниження показників ІМЛ у сторону позитивних значень, що свідчило про посилену сенсibilізацію лімфоцитів до *F. necrophorum*, яка здійснювалася в результаті їхнього контакту. За закінчення експерименту міграція лейкоцитів була значно загальмована, а показник ІМЛ відповідав позитивним значенням та складав  $0,20 \pm 0,06$  (рис. 2).



**Рис. 1. Показники ІМЛ у зразках крові імунізованих корів за постановки РЗМЛ: 0 –  $p < 0,05$ ; 00 –  $p < 0,01$ , порівняно з початковими показниками.**



**Рис. 2. Облік РЗМЛ зі зразками крові від корів, імунізованих вакциною «Некросан»:** а) на початку експерименту; б) через 14 дб за першого щеплення; 1 – капіляри для постановки реакції; 2 – ступінь міграції лейкоцитів у дослідних та контрольних зразках крові на початку експерименту; 3 – ступінь міграції лейкоцитів у контролі; 4 – затримка міграції лейкоцитів у дослідній пробі крові зі специфічним антигеном *Fusobacterium necrophorum*.

### Висновки та перспективи подальших наукових досліджень:

1. Встановлено високу функціональну активність імунокомпетентних клітин за щеплення овець вакциною «Некросан» та експериментальним зразком вакцини «Некросальм», оскільки через 28 дб після повторного щеплення вакциною «Некросан» показники Е-РУК зростали в 1,4 та 1,5 разів; активні Е-РУК – у 1,8 і 2,9 разів та ЕАС-РУК – у 2,0 і 1,6 разів, порівняно з початковими та показниками у тварин контрольної групи ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ). За щеплення овець експериментальним зразком вакцини «Некросальм» було встановлено вірогідне зростання популяції Т-лімфоцитів у 1,8 та 1,5 разів; субпопуляції

активних Т-лімфоцитів – у 2,4 і 2,9 разів; показників абсолютної кількості ЕАС–РУК – у 2,3 і 1,5 разів ( $p < 0,001$ ), порівняно з початковими та показниками у тварин контрольної групи, що є свідченням імунобіологічної перебудови в організмі імунізованих тварин і нормальної модуляції імунної відповіді після щеплень, проведених асоційованими вакцинами.

2. Встановлено, що застосування асоційованої вакцини «Некросан» для корів сприяло підвищенню функціональної активності Т-клітинних факторів імунітету, оскільки взаємодія сенсibiliзованих Т-лімфоцитів зі специфічним антигеном *F. necrophorum in vitro* через накопичення лімфокінів, затримувала їхню міграцію, в наслідок чого, в кінці експерименту ІМЛ був позитивним і складав  $0,20 \pm 0,06$  ум. од.

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення показників специфічного гуморального імунітету у тварин після застосування асоційованих вакцин проти бактеріозів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Бюлетень «Ветеринарна біотехнологія». – № 13 (1). – 2008. – С. 51–62.
2. Кириллов Л.В. Предупреждение инфекционных болезней анаэробной этиологии / Л.В. Кириллов // Ветеринария. – № 1. – 2001. – С. 16–19.
3. Молоканов В.А. Стимуляция иммунного ответа при некробактериозе крупного рогатого скота / В.А. Молоканов, Д.В. Малов // Ветеринария. – № 2. – 2009. – С. 22–23.
4. Tan Z.L. Selective enumeration of *Fusobacterium necrophorum* from the bovine Rummen / Z.L. Tan, T.G. Nagaraya, M.M. Chengappa // Applied and Environmental Microbiology. – 1994. – 60:4. – P. 1387–1389.
5. Чумаченко В.Ю. Хвороби імунної системи у тварин. Імунітет. Механізми та фактори, що зумовлюють його стан / В.Ю. Чумаченко, В.В. Чумаченко // Ветеринарна медицина України. – № 9. – 2008. – С. 16–19.
6. Риженко В.П. Особливості імуногенезу при застосуванні асоційованих вакцин / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, В.В. Риженко // Проблемы и перспективы паразитологии. – Харьков – Луганск, 2007. – С. 149–150.
7. Комплексна оцінка впливу ветеринарних препаратів на морфофункціональний стан імунної системи: Методичні рекомендації / І.Я. Коцюмбас, І.І. Коцюмбас, Є.М. Голубій та ін. – Львів, 2009. – 64 с.
8. Солодчук В.Л. Виробництво ветеринарних препаратів – на сучасний рівень / В.Л. Солодчук // Ветеринарна медицина України. – № 5. – 2004. – С. 46–47.
9. Контроль впливу ветеринарних лікарських засобів на стан імунітету тварин / М. Косенко, І. Коцюмбас, Ю. Косенко та ін. // Ветеринарна медицина України. – № 1. – 2004. – С. 43–44.
10. Волинець Л. Виробництво ветеринарних препаратів згідно з вимогами GMP / Л. Волинець, Ю. Балицький // Ветеринарна медицина України. – № 4. – 2002. – С. 12–13.
11. Brando R J.F. Renal damage and death in weaned mice after oral infection with shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* strains / R J. F. Brando [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2008. – Vol. 153(2). – P. 297–306.
12. Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів: Методичні рекомендації / В.І. Левченко, В.М. Соколюк, В.М. Безух та ін. – Біла Церква, 2002. – С. 27–31.

13. Методи імунологічних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини: Методичні рекомендації / В.М. Івченко, М.С. Павленко, О.І. Горбатюк та ін. – БДАУ, 2003. – С. 16–20.

14. Козлюк А.С. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях / А.С. Козлюк, Л.А. Анисимова, И.Г. Шройт.– Кишинев: Штиинца, 1987. – 115 с.

15. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И.А. Ойвин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1960. – № 4. – С. 396–401.

**ВЛИЯНИЕ АССОЦИИРОВАННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА** / Андрияшук В.А., Горбатюк О.И., Жовнир А.М., Рыженко Г.Ф., Тютюн С.Н., Каменчук П.П.

*Освещены результаты исследований по изучению показателей клеточного звена иммунитета в реакциях спонтанного и комплементарного розеткообразования (E–РУК, EAC–РУК) а также задержки миграции лейкоцитов после прививок животных ассоциированной вакциной «Некросан» против некробактериоза, некротического гепатита, злокачественного отека и инфекционной (анаэробной) энтеротоксемии, а также экспериментальным образцом вакцины «Некросальм» против некробактериоза и сальмонеллеза животных.*

**Ключевые слова:** ассоциированная вакцина, клеточный иммунитет, E–РУК, EAC–РУК, РЗМЛ, ИМЛ.

**THE IMPACT OF ASSOCIATED VACCINES AGAINST BACTERIAL DISEASES OF ANIMALS ON PARAMETERS OF CELLULAR IMMUNITY** / Andriyashchuk V.A., Gorbatiuk O.I., Zhovnir O.M., Ryzhenko G.F., Tiutiun S.M., Kamenchuk P.P.

**Introduction.** Cellular immune response is closely connected with humoral response of the body to the antigen. Determining status of the cellular immunity at animal's vaccination is important because it enables to evaluate organism's immune system.

**The goal of the work.** To study the impact of associated vaccines against bacterial diseases of animals on parameters of cellular immunity.

**Materials and methods of research.** The studies were conducted in the laboratory of anaerobic infections at IVM NAAS, experimental base "Pylypovychi", farm firm "Matiushi" in Belotserkovsky rayon of Kiev oblast. Control and test groups of animals were formed. The test animals were inoculated with vaccine "Nekrosan" and experimental sample of vaccine "Nekrosalm". Parameters of cellular immunity in reactions of spontaneous and complementary rosette formation (E rosette-forming cells (RFC), EAC-RFC) and leukocyte migration inhibition (LMI) have been studied by Standard Practice described by V.I. Levchenko (2002), V.M. Ivchenko (2003), A.S. Kozliuk (1987).

**Results of research and discussion.** After sheep vaccination with vaccine "Nekrosan" for the duration of the experiment there was an increase of E-RFC absolute number, and at the end of the study their quantitatively contents were higher in 2.0 and 1.6 times, active T cells – in 2.1 and 2.4 times and EAC-RFC absolute number – in 1.7 and 2.7 times ( $p < 0,001$ ) compared to unvaccinated animals and initial parameters.

When vaccinating sheep with experimental vaccine "Nekrosalm" there was an increase of absolute amount of E-RFC content in 1.8 and 1.5 times, active T cells – in 2.4 and 2.9 times and EAC-RFC absolute number – in 2.3 and 1.5 times ( $p < 0,001$ ) compared to initial parameters and parameters of control group of sheep which is confirming cellular immunity activation when applying associated vaccines to animals.

*It was confirmed functional activity of T-cell immunity factor at cows' immunization with associated vaccine "Nekrosan" by certain level of LMI in tests.*

*At the end of the experiment migration of leukocytes was significantly inhibited, and the rate of LMI corresponded to a positive value and was  $0.20 \pm 0.06$  c.u.*

**Conclusions and prospects for further research:**

*1. It is set high functional activity of immune cells upon immunization of sheep with vaccine "Nekrosan" and experimental sample of the vaccine "Nekrosalm" as E-RFC and EAC-RFC parameters increased significantly in several times compared with the initial parameters and parameters of unvaccinated animals ( $p < 0,001$ ).*

*2. Application of the associated vaccine "Nekrosan" for cows confirmed high functional activity of T-cell immunity factors, since the interaction of sensitized T-lymphocytes with *F. necrophorum* specific antigen in vitro promoted accumulation of lymphokines and at the end of the experiment positive LMI was  $0.20 \pm 0.06$  c.u.*

*Prospects for further research aimed to study parameters of specific humoral immunity in animals under applying associated vaccines against bacteriosis*

**Keywords:** *associated vaccine, cellular immunity, E-RFC, EAC-RFC, LMI test, LMI.*

**REFERENCES**

1. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, G.F., Gorbatiuk, O.I. et al. (2008). Teoretychne ta eksperymental'ne obgruntuvannja rozrobky novyh vakcyn [Theoretical and experimental study development of new vaccines]. *Bjuleten' «Veterynarna biotekhnologija» – Bulletin "Veterinary Biotechnology"*, 13 (1), 51-62 [in Ukrainian].

2. Kyryllov, L.V. (2001) Preduprezhdenye ynfekcyonnyh boleznej anaerobnoj etyologyy [Prevention of infectious diseases anaerobic etiology]. *Veterynaryja – Veterinary science 1*, 16-19 [in Russian].

3. Molokanov, V.A. & Malov, D.V. (2009). Stymuljacyja ymmunnogo otveta pry nekrobakteryoze krupnogo rogatogo skota [Stimulation of the immune response in nekrobacteriosis cattle]. *Veterynaryja – Veterinary science 2*, 22-23 [in Russian].

4. Tan, Z.L., Nagaraya, T.G. & Chengappa, M.M. (1994). Selective enumeration of *Fusobacterium necrophorum* from the bovine Rummen. *Applied. Enviromental Microbiology*, Vol. 60, 4, 1387-1389.

5. Chumachenko, V.J. & Chumachenko, V.V. (2008). Hvoroby imunnoi' systemy u tvaryn. Imunitet. Mehanizmy ta faktory, shho zumovljujut' jogo stan [Disorders of the immune system in animals. Immunity. The mechanisms and factors that determine its condition]. *Veterynarna medycyna Ukrai'ny – Veterinary Medicine Ukraine. 9*, 16-19 [in Ukrainian].

6. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, G.F. & Ryzhenko, V.V. (2007). Osoblyvosti imunogenezu pry zastosuvanni asocijovanyh vakcyn [Features of the application associated immune vaccines]. *Problemy y perspektyvy parazytosenologyy – Problems and prospects parazytosenolohiyi*, 149-150 [in Ukrainian].

7. Kocjumbas, I.J., Kocjumbas, G.I., Golubij, E.M. et al. (2009). *Kompleksna ocinka vplyvu veterynarnih preparativ na morfofunkcional'nij stan imunnoi' sistemi: Metodichni rekomendacii [Comprehensive assessment of the impact of veterinary products on morphofunctional immune system: Guidelines]*. L'viv [in Ukrainian].

8. Solodchuk, V.L. (2004). Vyrobnycтво veterynarnyh preparativ – na suchasnyj riven' [Production of veterinary drugs - at the current level]. *Veterynarna medycyna Ukrai'ny – Veterinary Medicine Ukraine, 5*, 46-47 [in Ukrainian].

9. Kosenko, M., Kocjumbas, I., Kosenko, J. et al. (2004). Kontrol' vplyvu veterynarnyh likars'kyh zasobiv na stan imunitetu tvaryn [Monitoring the impact of veterinary drugs on the immune status of animals]. *Veterynarna medycyna Ukrai'ny – Veterinary Medicine Ukraine, 1*, 43-44 [in Ukrainian].

10. Voly nec, L. & Balyc'kyj Ju. (2002). Vyrobnycтво veterynarnyh preparativ zgidno z vymogamy GMP [Production of veterinary products in accordance with GMP]. *Veterynarna medycyna Ukrai'ny – Veterinary Medicine Ukraine, 4*, 12-13 [in Ukrainian].

11. Brando, R J. F. (2008). Renal damage and death in weaned mice after oral infection with shiga toxin 2-producing Escherichia coli strains. *Clin. Exp. Immunol.*, Vol. 153(2), 297-306.
12. Levchenko, V.I., Sokoljuk, V.M., Bezuh, V.M. et al. (2002). *Doslidzhennja krovi tvarin ta klinichna interpretacija otrimanih rezul'tativ: Metodichni rekomendacii [Studies of animal blood and clinical interpretation of the results: Guidelines]*. Bila Cerkva [in Ukrainian].
13. Ivchenko, V.M., Pavlenko, M.S., Gorbatjuk, O.I. et al. (2002). *Metody imunologichnyh doslidzen' u laboratorijah veterynarnoi' medycyny: Metodychni rekomendacii' [Methods immunological research in laboratories of Veterinary Medicine: Guidelines]*. BDAU [in Ukrainian].
14. Kozljuk, A.S., Anisimova, L.A. & Shrojt I.G. (1987). *Immunologicheskie metody v gigienicheskikh issledovanijah [Immunological methods in hygienic studies]*. Kishinev: Shtiinca [in Russian].
15. Ojvin, I.A. (1960). Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov jeksperimental'nyh issledovanij [Statistical analysis of experimental results]. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija – Pathological Physiology and Experimental Therapy*, 4, 396-401 [in Russian].

**УДК 619:[616.98+579.834]**

**БИНДА А.В.\***,  
**НИЧИК С.А.**, д-р вет. наук, проф.,  
**КУЛИКОВА В.В.**, канд. вет. наук, ст. наук. сп.  
*Інститут ветеринарної медицини НААН*

## **ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПОТОЧНОГО РЕАКТОРНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ЛЕПТОСПІР**

*У статті проведений аналіз літературних джерел стосовно біореакторів для поточного реакторного культивування мікроорганізмів та визначено перспективи його застосування для виробництва вакцин. Наведені дані щодо культивування *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штам *Moskva V*) за поточного реакторного культивування. Проведений порівняльний аналіз методу культивуванням лептоспір на рідких поживних середовищах із поточним реакторним культивуванням. Схематично показано прототип біореактори, та наведені переваги істотного та поточного реакторного культивування лептоспір в лабораторії лептоспірозу з музеєм мікроорганізмів ІВМ НААН.*

**Ключові слова:** біореактор, культивування, мікроорганізми, ферментер, лептоспіра.

**Вступ.** Біореактор (прилад, який здійснює перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу) застосовується в біотехнологічній промисловості при виробництві лікарських і ветеринарних препаратів, вакцин, продуктів харчової промисловості (ферменти, харчові добавки, глюкозні сиропи), а також при біоконверсії крохмалю та виробництві полісахаридів і нафто деструкторів.

Культуру лептоспір у виробничих умовах на біологічних фабриках вирощують за температури 28°C протягом 72–90 годин і парціального тиску розчиненого кисню в межах 15–20% від насичення киснем повітря. Для

---

\* Аспірант, науковий керівник, д-р вет. наук, проф. **Ничик С.А.**