

УДК 619:616.98:579.834.115

UDC 619:616.98:579.834.115

16.00.00 Ветеринарные науки

Veterinary Sciences

**СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ  
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ  
ЛЕПТОСПИРОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО  
СКОТА**

**SEROLOGIC CONTROL OF SPECIFIC  
PROPHYLAXIS OF THE CANICOLA FEVER  
OF CATTLE**

Горковенко Наталья Евгеньевна  
д. б. н., профессор, РИНЦ SPIN-код 2648-5641

Gorkovenko Natalya Evgenyevna  
Dr.Sci.Biol., professor, RSCI SPIN-code 2648-5641

Макаров Юрий Анатольевич  
д. в. н., профессор, академик РАН, РИНЦ SPIN-код  
1713-0784

Makarov Yuri Anatolyevich  
Dr.Sci.Vet., professor, member of the Russian  
Academy of Sciences, SPIN-code 1713-0784  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia*

*Кубанский государственный аграрный  
университет, Краснодар, Россия*

В статье представлены результаты изучения иммунореактивности телочек при вакцинации против лептоспироза. Выявлена зависимость длительности циркуляции антител в крови вакцинированных телочек от степени интенсивности иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины. Изучение динамики титров антител у телочек двухмесячного возраста после иммунизации выявило слабый иммунный ответ на введение вакцины, выражающийся либо в полном отсутствии антител, либо в наличии антител в невысоких титрах к лептоспирам одной из серогрупп, входящих в состав вакцины. Предложено использование иммуномодулирующих препаратов для повышения эффективности иммунизации телочек против лептоспироза. Установлено, что применение иммуномодулятора «Риботан» при вакцинации двухмесячных телочек против лептоспироза повышает эффективность иммунизации на 55,6 %

Results of studying of the immune response of young growth of cattle to vaccination against a canicola fever are presented in article. Dependence of duration of circulation of antibodies in a blood of the vaccinated young growth of cattle from degree of intensity of an immune response on introduction of the vaccine is revealed. Studying of dynamics of antiserum capacities at cow calves of two-month age after immunization taped the weak immune response on introduction of a vaccine. It is expressed both in total absence of antibodies, or available antibodies in minute quantity to canicola fever of one of the serogroups which are a part of a vaccine. Use of immunomodulatory preparations for rising of efficiency of immunization of cow calves against a canicola fever is offered. It is established that application of "Ribotan" at vaccination of two-month calves against a canicola fever increases efficiency of immunization for 55,6 %

Ключевые слова: ЛЕПТОСПИРОЗ, КРУПНЫЙ РОГАТЫЙ СКОТ, РЕАКЦИЯ МИКРОАГГЛЮТИНАЦИИ, ИММУНИЗАЦИЯ, ИММУНОМОДУЛЯТОР

Keywords: CANICOLA FEVER, CATTLE, MICROAGGLUTINATION REACTION, IMMUNIZATION, IMMUNOMODULATOR

**Doi: 10.21515/1990-4665-126-035**

Наиболее эффективной и экономичной мерой борьбы с лептоспирозом, являющимся одним из самых распространенных зооантропонозов, считается вакцинация. В настоящее время в ветеринарной практике для профилактики лептоспироза крупного рогатого скота вакцинируют телочек, начиная с двухмесячного возраста, затем через 6 месяцев их подвергают ревакцинации. Как правило, иммунизация

осуществляется без предварительного исследования сыворотки крови животных в РМА и контроля напряженности поствакцинального иммунитета у привитых животных. К тому же достаточно противоречива картина иммунореактивности животных на фоне иммунизации против лептоспироза. По данным некоторых исследователей [1] у животных, вакцинированных против лептоспироза, специфические антитела не должны выявляться в РМА через 2-3 месяца после иммунизации. Однако есть противоположные сообщения о том, что специфические антитела у вакцинированного крупного рогатого скота в диагностических титрах сохраняются на протяжении более длительного периода времени [2]. Поэтому исследования в этом направлении представляют научный и практический интерес.

Известно, что адекватный ответ на введение антигенов возможен лишь при физиологически полном функционировании иммунной системы, а молодняк 1-2 месяцев, по мнению некоторых авторов, не способен формировать против лептоспироза активный иммунитет достаточной напряженности и продолжительности [1, 3, 4]. Кроме того, отсутствие в отечественной ветеринарной практике методов профилактики лептоспироза с учетом динамики напряженности противолептоспирозного иммунитета и иммунного фона у крупного рогатого скота предопределило проведение настоящего исследования.

**Цель** исследования состояла в изучении эффективности иммунизации молодняка крупного рогатого скота против лептоспироза и предложении мер по ее повышению.

#### **Материал и методы исследования.**

Исследования проведены в опытном производственном хозяйстве ВНИИ сои (с. Лозовое, Амурской области) на благополучном по инфекционным заболеваниям фоне. В исследованиях использовали телочек черно-пестрой породы двух возрастных категорий (2 и 8 месяцев).

Животные каждой возрастной категории для проведения экспериментов подбирались по принципу аналогов: сходные по физиологическому состоянию и массе тела. Условия содержания животных отвечали ветеринарно-санитарным правилам и зоогигиеническим требованиям. Всего было сформировано пять групп телочек: I группа – двухмесячные телочки (n=81), у которых для изучения динамики поствакцинального иммунитета брали пробы крови из яремной вены для серологических исследований перед плановой иммунизацией против лептоспироза и через 1 месяц после иммунизации. II и III группы – 8-ми месячные телочки по 12 голов в каждой, у которых для изучения иммунореактивности после ревакцинации против лептоспироза брали сыворотку крови через 1; 3,5 и 6 месяцев после ревакцинации. IV и V группы (опытная и контрольная) – двухмесячные телочки, которых планово иммунизировали против лептоспироза. Телочкам опытной группы (n=9) одновременно с вакцинацией внутримышечно инъецировали иммуномодулирующий препарат «Риботан» в дозе 2 мл. Телочек контрольной группы (n=6) только иммунизировали. У телочек IV и V групп брали пробы крови перед иммунизацией через 2,5 недели и 6 недель после вакцинации для серологического исследования.

Иммунизировали телочек поливалентной вакциной ВГНКИ, включающей 4 штамма лептоспир – *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Sejroe*.

Серологические исследования проводились методом реакции микроагглютинации (РМА). Отбор проб крови, подготовку сывороток крови для исследования и постановку реакции микроагглютинации (РМА) осуществляли общепринятыми методами в соответствии с ГОСТ 25386-91 «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики лептоспироза», Ветеринарно-санитарными правилами СП 3.1.091-96 (утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 06.1996 г.),

«Наставлением по применению сывороток групповых агглютинирующих лептоспирозных». Для исследования сывороток крови в РМА использовали 15 диагностических штаммов лептоспир.

В сыворотке крови двухмесячных телят на фоне иммунизации против лептоспироза и применения иммуномодулятора общепринятыми методами определяли общий белок, белковые фракции, иммуноглобулины.

Полученные результаты обрабатывали с использованием методов вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ Open Office.org 4.0. Для определения статистически значимых различий использовали критерий Стьюдента.

### **Результаты и обсуждение.**

Результаты исследования поствакцинального иммунитета у двухмесячных телочек (I группа) после плановой иммунизации против лептоспироза показали следующее. Предварительно перед иммунизацией были исследованы сыворотки крови этих животных в РМА, все телята оказались серонегативны. После иммунизации у животных выявлен слабый иммунный ответ на введение вакцины, выражающийся либо в полном отсутствии антител, либо в наличии антител в небольших титрах к лептоспирам одной из серогрупп, входящих в состав вакцины. Через 1 месяц после вакцинации 77,8 % сывороток телят давали положительную реакцию с серогруппой Sejroe в титре 1:50 – 44,5 %; 1:100 – 22,2 %; 1:200 – 11,1 %. Через 2,5 месяца после вакцинации антител в титре 1:50 не выявлено. Полученные результаты подтверждают выводы авторов [1, 4] о том, что молодняк крупного рогатого скота 1-2 месячного возраста не способен формировать активный иммунитет достаточной напряженности и продолжительности против лептоспироза.

Изучение иммунореактивности у 8 месячных телочек после ревакцинации против лептоспироза вакциной ВГНКИ показало следующее. Через 1 месяц после ревакцинации в сыворотках крови

телочек II группы выявлены антитела к лептоспирам серогрупп *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Tarassovi* в титрах от 1:50 до 1:3200 (табл. 1).

В сыворотках крови телочек III группы выявлены антитела к лептоспирам трех серогрупп: *Sejroe*, *Tarassovi*, *Pomona* в титрах от 1:50 до 1:1600. Через три с половиной месяца после вакцинации в сыворотках крови 83 % телочек II группы титры антител к лептоспирам серогрупп *Pomona*, *Tarassovi*, *Sejroe* составили от 1:50 до 1:200; в III группе обнаружены антитела в титрах 1:50–1:100 (*Pomona*, *Tarassovi*) у 45,5 % животных. Через 6 месяцев после ревакцинации в сыворотках крови 45,5 % телочек II группы антитела сохранились в титре 1:100, в сыворотках крови животных III группы антител не выявлено.

Таблица 1 – Титры противолептоспирозных антител в сыворотках крови 8-ми месячных телочек в разные сроки после ревакцинации

Группы животных	Срок после ревакцинации					
	1 месяц		3,5 месяца		6 месяцев	
	Титры антител	% реагирующих	Титры антител	% реагирующих	Титры антител	% реагирующих
II группа (n=12)	1:400 1:3200	100	1:100 1:200	83,3	1:100	45,5
III группа (n=12)	1:100 1:400	100	1:100	45,5	-	-

Примечание: титры антител указаны от минимальных до максимальных

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что антитела к лептоспирам в сыворотках крови ревакцинированных телочек сохраняются в течение трех месяцев и более (до 6 месяцев). Однако в наставлении по применению противолептоспирозной вакцины указано, что антитела у крупного

рогатого скота сохраняются до 3 месяцев после иммунизации [5], по истечении этого срока их уровень снижается и должен быть менее 1:100.

Анализ полученных результатов позволил установить следующие закономерности. Во-первых, если иммунный ответ после ревакцинации у 8 месячных телочек недостаточно высок и титры антител через 1 месяц не превышают 1:400, то титр антител постепенно снижается до 1:50 и полного исчезновения. Таких животных следует подвергать ревакцинации в более ранние сроки во избежание их инфицирования. Сроки ревакцинации можно определить для каждого хозяйства на основе данных РМА. Во-вторых, если после вакцинации титры антител высокие (до 1:1600–1:3200), то они сохраняются до 6 месяцев (срок исследования) у 45,5 % животных в титре 1:100 и в данном случае сокращать сроки проведения ревакцинации не следует.

Таким образом, контроль интенсивности иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины позволит скорректировать сроки проведения вакцинации и ревакцинации крупного рогатого скота в каждом хозяйстве. Что, в свою очередь, очень важно для обеспечения благополучной эпизоотической ситуации, особенно в зонах природных очагов лептоспироза.

С целью повышения эффективности иммунизации телочек против лептоспироза мы применяли Риботан – комплексный иммуномодулирующий препарат, состоящий из смеси низкомолекулярных полипептидов и фрагментов дрожжевой РНК. Препарат обладает широким спектром биологической активности: ускоряет процессы регенерации, стимулирует факторы естественной резистентности. Применяется в комплексной терапии в качестве иммуномодулирующего средства при заболеваниях сопровождающихся развитием иммунодефицита, а также для усиления эффекта вакцинации [6].

На базе молочно-товарной фермы опытного хозяйства были сформированы опытная и контрольная группы двухмесячных телят, которых планомерно иммунизировали вакциной ВГНКИ против лептоспироза. Опытной группе вводили Риботан в дозе 2 мл внутримышечно одновременно с вакцинацией. Контрольную группу только иммунизировали. Сыворотку крови телят исследовали в РМА перед иммунизацией, через 2,5 недели и 6 недель после вакцинации (таблица 2).

Перед иммунизацией все телята были серонегативны. Через 2,5 недели после иммунизации против лептоспироза в сыворотке крови 78 % телят опытной группы выявлены антитела в титрах от 1:50 до 1:200. Сыворотка крови 33 % телят контрольной группы давала положительную РМА лишь с одной серогруппой (Sejroe) в титрах до 1:100.

Таблица 2 – Эффективность иммунизации двухмесячных телят против лептоспироза

Сроки после вакцинации	Реагировало в титре				Положительно реагировало	
	1:50	1:100	1:200	1:400	голов	%
IV группа (опытная), n=9						
Через 2,5 недели	2	4	1	–	7	77,8
Через 6 недель	2	4	1	1	8	88,9
V группа (контрольная), n=6						
Через 2,5 недели	1	1	–	–	2	33,3
Через 6 недель	2	–	–	–	2	33,3

Через 6 недель после ревакцинации количество реагирующих телят в контрольной группе не изменилось. В опытной группе количество серопозитивных телят составило 88,9 %.

Таким образом, при использовании иммуномодулирующего препарата Риботан, эффективность иммунизации двухмесячных телят против лептоспироза была выше на 55,6 %.

Изучение белкового спектра сыворотки крови телят опытной и контрольной групп показало, что у телят, иммунизированных с иммуномодулятором, общий белок и уровень гамма-глобулинов был достоверно выше, чем у телят контрольной группы, за счет глобулинов фракций  $\alpha_2$  и  $\gamma_2$  (табл. 3).

Результаты, представленные в таблице 3, свидетельствуют о стимулирующем воздействии Риботана на гуморальное звено иммунной системы двухмесячных у телят в поствакцинальный период, а именно, на продукцию иммуноглобулинов, что способствует формированию более полноценного иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины. Полученные результаты согласуются с данными [3].

Таблица 3 – Белковый спектр сывороток крови двухмесячных телят, иммунизированных против лептоспироза

Показатели	V группа (контрольная), n=6	IV группа (опытная), n=9
Общий белок, г/л	62,8±1,07	67,4±1,62*
Альбумины, г/л	16,33 ±0,67	16,2 ±1,09
Глобулины, г/л:		
$\alpha_1$	8,26±1,46	8,44±0,64
$\alpha_2$	9,82±1,08	12,23±0,31*
$\beta$	10,55±0,72	10,75±0,32
$\gamma_1$	12,73±0,96	11,69±0,45
$\gamma_2$	5,13±0,78	7,89±0,69*

Примечание: \*  $p < 0,05$

Следовательно, для полноценного функционирования иммунной системы и формирования активного и продолжительного иммунитета против лептоспироза достаточной напряженности, телочкам двухмесячного возраста необходимо применять иммуномодулирующие препараты во время вакцинации.

### **Заключение.**

Показано, что антитела к лептоспирам в сыворотках крови ревакцинированных телочек сохраняются в течение трех месяцев и более (до 6 месяцев). Выявлена зависимость длительности циркуляции антител в крови вакцинированных телочек от степени интенсивности иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины. Анализ полученных результатов выявил следующую закономерность. Если иммунный ответ после ревакцинации у 8 месячных телочек недостаточно высок и титры антител через 1 месяц не превышают 1:400, то титр антител постепенно снижается до 1:50 или полного исчезновения. Если после вакцинации титры антител высокие (до 1:1600–1:3200), то они сохраняются до 6 месяцев (срок исследования) у 45,5 % животных в титре 1:100. Поэтому контроль интенсивности иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины позволит скорректировать сроки проведения вакцинации и ревакцинации крупного рогатого скота в каждом хозяйстве. Это, в свою очередь, очень важно для обеспечения благополучной эпизоотической ситуации, особенно в зонах природных очагов лептоспироза.

Изучение динамики титров антител у телочек двухмесячного возраста после иммунизации выявило слабый иммунный ответ на введение вакцины, выражающийся либо в полном отсутствии антител, либо в наличии антител в невысоких титрах к лептоспирам одной из серогрупп, входящих в состав вакцины. Установлено, что применение комплексного иммуномодулирующего препарата Риботан одновременно с вакциной повышает эффективность иммунизации двухмесячных телочек против лептоспироза на 55,6 %.

### Литература

1. Малахов, Ю.А. Лептоспироз животных / Ю.А. Малахов, А.Н. Панин, Г.Л. Соболева. – Ярославль : ДИА-пресс, 2000. – 584 с.
2. Иммуный ответ у крупного рогатого скота после вакцинации против лептоспироза / П.И. Барышников и др. // Ветеринария, 2002. – № 6. – С. 18–20.
3. Иммунореактивность у телочек при вакцинации против лептоспироза на фоне подкожного введения сукцината хитозана / Д.В. Иванов, Е.В. Крапивина, Ю.Н. Федоров, А.И. Албулов // Сельскохозяйственная биология, 2009. – № 2. – С.104–110.
4. Козин, А.И. Лептоспироз. Вопросы этиологии, диагностики, патогенеза, профилактики / А.И. Козин, А.А. Нафеев, Д.А. Васильев. Ульяновская гос. с-х. академия. – Ульяновск, 1999. – 37 с.
5. Наставление по применению поливалентной вакцины ВГНКИ против лептоспироза животных // Ветеринарное законодательство. – М. : Колос, 1988. – Т. 4. – С. 524–526.
6. Инструкция по применению лекарственного средства «Риботан» для коррекции иммунодефицитных состояний животных (Утверждено Департаментом ветеринарии 18 мая 2000 г.).

### References

1. Malahov, Ju.A. Leptospiroz zhivotnyh / Ju.A. Malahov, A.N. Panin, G.L. Soboleva. – Jaroslavl' : DIA-press, 2000. – 584 s.
2. Immunnyj otvet u krupnogo rogatogo skota posle vakcinacii protiv leptospiroza / P.I. Baryshnikov i dr. // Veterinarija, 2002. – № 6. – S. 18–20.
3. Immunoreaktivnost' u telochek pri vakcinacii protiv leptospiroza na fone podkozhnogo vvedenija sukcinata hitozana / D.V. Ivanov, E.V. Krapivina, Ju.N. Fedorov, A.I. Albulov // Sel'skohozjajstvennaja biologija, 2009. – № 2. – S.104–110.
4. Kozin, A.I. Leptospiroz. Voprosy jetiologii, diagnostiki, patogeneza, profilak-tiki / A.I. Kozin, A.A. Nafeev, D.A. Vasil'ev. Ul'janovskaja gos. s-h. akad. – Ul'janovsk, 1999. – 37 s.
5. Nastavlenie po primeneniju polivalentnoj vakciny VGNKI protiv leptospiroza zhivotnyh // Veterinarnoe zakonodatel'stvo. – M. : Kolos, 1988. – T. 4. – S. 524–526.
6. Instrukcija po primeneniju lekarstvennogo sredstva «Ribotan» dlja korrekcii immunodeficitnyh sostojanij zhivotnyh (Utverzhdeno Departamentom veterinariii 18 maja 2000 g.).