

# ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ «МІКРОСТИМУЛІН» (ТОВ «БРОВАФАРМА», УКРАЇНА) НА ФОРМУВАННЯ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ДО ЛЕПТОСПІРОЗУ У СОБАК

О. М. Турченко, аспірант

Сумський національний аграрний університет

Проведення планової вакцинації собак проти лептоспірозу є важливим, і досі – єдиним дієвим засобом профілактики та попередження захворюваності собак на лептоспіроз. Для якісного проведення вакцинації з метою підвищення імунного статусу тварин, у ході проведеного наукового експерименту було, поряд із загальними етапами підготовки собак до вакцинації, включено також задавання тваринам дослідної групи імуностимулятора «Мікростимулін» вітчизняного виробника (ТОВ «Бровафарма», м. Бровари, Україна). Титри поствакцинальних антитіл у тварин дослідної групи виявилися вищими (1:100-1:200), ніж у тварин контрольної групи, які не отримували «Мікростимулін» перед вакцинацією проти лептоспірозу (1:50-1:100). Застосування імуностимулятора «Мікростимулін» тваринам перед вакцинацією проти лептоспірозу дозволяє збільшити її ефективність за рахунок підвищення імунного статусу тварин, і, відповідно, збільшення кількості протективних антитіл, що утворюються організмом в результаті щеплення.

**Ключові слова:** Мікростимулін, лептоспіроз, імунітет, антитіла, собаки.

## Постановка проблеми в загальному вигляді.

Проблема лептоспірозу в Україні набуває все більшого значення. Ензоотичні та епізоотичні території з лептоспірозу розташовані практично в усіх областях. Ця інфекція має виражену тенденцію до росту захворюваності. За показником летальності та ступенем тяжкості лептоспіроз займає одне з перших місць в інфекційній патології.

Сумська область є стаціонарно неблагополучною щодо цього захворювання, яке часто перебігає на тлі низького імунного статусу тварин. Актуальність проблеми підвищує той факт, що лептоспірозом від хворої собаки може заразитися людина - проблема має як епізоотологічне, так і епідеміологічне значення. Лептоспіроз є загрозою для життя собак, патогенно впливаючи на їх життєво важливі органи. Низький рівень імунітету собак викликає більш важкий перебіг захворювання і необхідність більш тривалого лікування хворих та їх реабілітації.

**Зв'язок проблеми з важливими науковими та практичними задачами.** Робота виконувалась в рамках дисертаційного дослідження, що є складовою НДР кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці («Розробити систему контролю епізоотичного благополуччя щодо інфекційних хвороб тварин на підставі моніторингу, діагностики, прогнозування та оцінки безпечності продукції тваринництва і птахівництва в Північно-Східній Україні (номер державної реєстрації 01114U001261)»), спільно з Чеським університетом природничих наук (CULS), Прага.

Важливим науковим завданням було вирішення проблеми значного рівня захворюваності собак Сумського регіону на лептоспіроз шляхом формування високого рівня напруженого поствакцинального протилептоспірного імунітету у собак і, відповідно, зниження небезпеки зараження населення цією інфекцією, яка є важким зооантропонозним захворюванням.

**Аналіз досліджень та публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми.** Аналізуючи дані публікацій з досліджуваного питання було виявлено, що заражені лептоспірозом собаки можуть бути джерелами інфікування людини серологічними варіантами *L. canicola* і *L. icterohaemorrhagiae*, які викликають найбільш важкий перебіг цього захворювання у людини – геморагічний та жовтяничний. В останній час у деяких хворих на лептоспіроз собак і людини почали діагностувати геморагічний легеневий синдром (LPSH), який характеризується важким ураженням легень за типом гострого геморагічного набряку.

Випадки лептоспірозу часто закінчуються летально [1, 5, 6].

Превентивною мірою профілактики захворюваності собак лептоспірозом є вакцинація. Але суттєвою окремою проблемою є той факт, що у випадку зниження імунного статусу тварини на введену вакцину в організмі собаки не формується тривалий напружений імунітет, що значно підвищує ймовірність зараження такої тварини лептоспірозом та знижує ефективність вакцинації. Вирішення цієї проблеми полягає у підвищенні імунітету тварини шляхом проведення курсу імуностимулюючої терапії перед плановою вакцинацією проти лептоспірозу [2, 3, 4].

**Метою** даного наукового дослідження було вирішення проблеми підвищення ефективності вакцинації собак проти лептоспірозу. Для досягнення мети було поставлено наступне завдання: дослідити ефективність нового вітчизняного препарату ТОВ «Бровафарма» «Мікростимулін» для профілактики лептоспірозу шляхом формування напруженого поствакцинального імунітету у собак. В ході дослідження планувалося з'ясувати, чи дозволить застосування «Мікростимуліну» перед вакцинацією підвищити її ефективність за рахунок посилення імунного статусу тварин і, таким чином, збільшення кількості вироблених організмом захисних антитіл до лептоспір. Передбачалося, що проект допоможе підвищити стійкість собак до зараження лептоспірами і ефективність планової вакцинації проти лептоспірозу у собак.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проводились протягом трьох місяців – з вересня по листопад 2017 року в Сумському центрі перетримки безпритульних тварин «Притулок», в серологічному відділі Сумської філії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та на базі приватної клініки ветеринарної медицини «Ветсервіс» м. Суми. Використовували епізоотологічний, клінічний, серологічний (РМА), гематологічний, мікроскопічний методи. Об'єктами досліджень були цуценята, яким проводилася вакцинація проти лептоспірозу, а також проби крові цих тварин.

У відповідності з метою дослідження та перевіркою основної робочої гіпотези, експериментальна робота проводилася за напрямом вивчення ефективності імуностимулятора «Мікростимулін» щодо формування поствакцинального протилептоспірного імунітету у собак.

Етапи роботи:

1. У Сумському центрі перетримки безпритульних тварин «Притулок» було відібрано 14 однакових за віком цуценят (2,5-3 місяці) без клінічних ознак хвороб, розподіл їх по 3-х вольєрах, привласнення їм індивідуальних номерів і надягання на них ідентифікуючих нашійників.

2. Забір крові у цуценят для проведення двох типів клініко-дослідних робіт:

2.1. дослідження сироватки крові в РМА в серологічному відділі Сумської філії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи з метою контролю відсутності в ній антитіл до лептоспір;

2.2. аналіз клітинного складу крові, оцінка морфології елементів крові та рівня гемоглобіну.

3. За результатами РМА-дослідження цуценя № 10 було вибракowane з експерименту, оскільки в його крові були виявлені антитіла до *Lictero haemorrhagiae* в титрі 1:100.

4. Детальна перевірка стану здоров'я 13 цуценят - їх огляд, зважування, збір даних, мікроскопічний аналіз збірної проби калу на яйця гельмінтів та проведення дворазової дегельмінтизації.

5. Виявлення у цуценят критичного рівня кровотворення, зниженого рівня гемоглобіну та наявності сильної інтоксикації організму (дані, отримані в клінічному аналізі клітинного складу крові та шляхом кількісної та якісної оцінки морфології елементів крові). Також у всіх експериментальних цуценят був гострий коліт внаслідок масивної елімінації гельмінтів та загальна слабкість організму, що було неприйнятно для проведення вакцинації.

6. Проведення піддослідним цуценят тижневого курсу відновлювально-детоксикаційної терапії та оздоровлюючих заходів. Лікування складалося з антибіотикотерапії (антибіотик Цефтріфорт, в/м), вітамінізації (вітамін В12, п/ш, як імуностимулятор та активатор гемопоезу), в/в та п/ш введення суміші 0,9 % NaCl з 40 % глюкозою і 5 % аскорбіновою кислотою та 5 % глюкози з 5 % аскорбіновою кислотою. Дані заходи не планувалося проводити в ході цього наукового проекту, їх необхідність виникла в ході експериментальної роботи.

7. Застосування інсектицидних нашійників всім цуценят для знищення ектопаразитів та профілактикування їх нападу (блохи, воші, кліщі).

8. Виявлення мікроскопічним методом у 5 цуценят (№ 4, 11, 12, 13, 14) внутрішньокірних кліщів *Sarcoptes canis* та виключення цих собак з числа піддослідних тварин внаслідок унеможливлення проведення їм вакцинації до моменту їх повного видужання.

9. Поділ 8 здорових цуценят (№ 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9) на 2 групи по 4 собаки в кожній: контрольну (№ 1, 2, 3, 5) та експериментальну (№ 6, 7, 8, 9).

10. Застосування імуностимулятору «Мікростимулін» в експериментальній групі собак (№ 6, 7, 8, 9) протягом 5

днів згідно з інструкцією даного препарату.

11. Вакцинація цуценят обох груп комбінованою вакциною BiocanDHPPi+Lepto (28.09.2017).

12. Ревакцинація цуценят обох груп комбінованою вакциною BiocanDHPPi+Lepto+Rabies (16.10.2017).

13. Перший поствакцинальний відбір проб крові у цуценят для проведення РМА з метою визначення рівнів антитіл до лептоспірозу та оцінки якості поствакцинального імунітету (31.10.2017).

14. Другий поствакцинальний відбір проб крові у цуценят для проведення РМА з метою визначення рівнів антитіл до лептоспірозу та стану стабільного поствакцинального імунітету у собак через місяць після останньої вакцинації (17.11.2017).

**Результати власних досліджень.** Після отримання результатів кожного відбору проб крові їх аналізували, на підставі чого робили висновки і вносили необхідні корективи у хід експерименту. Отримані результати повністю підтвердили оригінальну наукову гіпотезу, що застосування імуностимулятору «Мікростимулін» ТОВ «Бровафарма», Україна, покращує якість і стабільність імунітету після вакцинації проти лептоспірозу у собак. Так, у цуценят експериментальної групи (№ 6, 7, 8, 9) титри поствакцинальних протилептоспірозних антитіл були вищими (1:100-1:200), ніж у цуценят контрольної групи (№ 1, 2, 3, 5) - (1:50-1:100). Результати дослідження відображено в таблиці 1.

При першому РМА-аналізі сироватки крові цуценят було виявлено антитіла до лептоспір у 1 собаки з 14 (№ 10), тому подальші дослідження були проведені з іншими 13 собаками дослідної групи. Також визначали рівень гемоглобіну крові та проводили аналіз тонких мазків крові, забарвлених за Романовським, для визначення морфології клітин крові, їх кількісного та якісного складу. За даними лабораторних досліджень у собак було виявлено зрушення лейкоцитарної формули вліво, лейкопенію, вакуолізацію гранулоцитів, збільшення кількості еозинофілів у кілька разів понад норму, часткову деструкцію еритроцитів. Все це свідчило про наявність в організмі тварин масивної гельмінтозної інвазії, запальних процесів та інтоксикації.

Дані лабораторних досліджень показали порушення морфології еритроцитів, зміну їх хроматографічних показників, а також зниження кількості гемоглобіну в них. Тому не можна було вакцинувати собак без попереднього курсу антибіотикотерапії та введення ціанокобаламіну як стимулятору гемопоезу. Застосування розчинів глюкози, 0,9 % NaCl і 5 % вітаміну С здійснювалося з загальнозміцнюючою метою, а також з метою детоксикації організму після гельмінтозу, дегельмінтизації та масової загибелі гельмінтів. Після цього цуценят було поділено на 2 групи – контрольну та експериментальну, в якій протягом 5 днів застосовувався препарат «Мікростимулін».

Таблиця 1

**Рівні поствакцинальних протилептоспірозних антитіл у цуценят експериментальної та контрольної груп після 1-го та 2-го відбору крові**

| Група      | Номер собаки | Поствакцинальний відбір крові | Сероваріанти лептоспір |          |        |            |
|------------|--------------|-------------------------------|------------------------|----------|--------|------------|
|            |              |                               | Icterohaemor.          | Canicola | Gripp. | Bratislava |
| Контрольна | 1            | 1                             | 1:50                   | 1:50     | 1:100  | 1:50       |
|            |              | 2                             | 1:100                  | 1:50     | 1:200  | —          |
|            | 2            | 1                             | —                      | 1:50     | 1:100  | 1:50       |

|          |   |   |       |       |       |       |
|----------|---|---|-------|-------|-------|-------|
|          | 3 | 2 | 1:100 | 1:50  | 1:200 | —     |
|          |   | 1 | —     | 1:<50 | 1:100 | 1:<50 |
|          | 5 | 2 | 1:100 | 1:50  | 1:200 | —     |
|          |   | 1 | —     | 1:<50 | 1:50  | 1:50  |
| Дослідна | 6 | 2 | 1:100 | 1:50  | 1:100 | —     |
|          |   | 1 | 1:50  | 1:100 | 1:50  | 1:50  |
|          | 7 | 2 | 1:200 | 1:100 | 1:200 | —     |
|          |   | 1 | 1:100 | 1:<50 | 1:50  | 1:<50 |
|          | 8 | 2 | 1:200 | 1:50  | 1:200 | —     |
|          |   | 1 | 1:50  | 1:50  | 1:50  | 1:<50 |
|          | 9 | 2 | 1:100 | 1:50  | 1:100 | —     |
|          |   | 1 | 1:50  | 1:50  | 1:100 | 1:<50 |

Після оздоровлення цуценят їх було дворазово щеплено полівалентною вакциною BiocanDHPi+Lepto, яка містить антигени лептоспір 3-х сероварів, що найбільш часто реєструються у собак: *L. canicola* та *L. grippotyphosa*. Ця вакцина також містить антигени основних вірусних інфекцій собак. Для ревакцинації цуценят застосовували вакцину BiocanDHPi+Lepto+Rabies, яка, окрім вищеперерахованого, індукувала у тварин вироблення протективних антитіл проти сказу. Обираючи з самого початку комплексну вакцину керувалися тим, що піддослідні цуценята знаходилися в «Притулку», де склалася неблагополучна епізоотична ситуація щодо парвовірусу внаслідок концентрації великої кількості тварин з різних місць, в тому числі хворих. Варто відзначити, що неблагополучна епізоотична ситуація склалася і за межами «Притулку» для безпритульних тварин, оскільки весь Сумський регіон є неблагополучним щодо парво- та коронавірусу, чуми м'ясоїдних, лептоспірозу та сказу.

В експериментальній групі собак вакцинацію проводили після застосування імуностимулятора «Мікростимулін», в той час як собаки контрольної групи даного препарату не отримували. Результати РМА-аналізу крові тварин після вакцинації показали, що антитіла у собак контрольної групи сформувалися в меншій кількості (1:50-1:100), ніж у тварин експериментальної групи (1:100-1:200). Утрюх собак контрольної групи (№ 2, 3, 5) після першого відбору крові антитіл до *L. canicola* не було виявлено взагалі.

Другий РМА-аналіз крові собак після ревакцинації показав, що у крові собак обох груп значно зросли титри поствакцинальних антитіл у порівнянні з даними отриманими під час які були отримані під час попереднього РМА-аналізу крові (першого після вакцинації). Але, як і раніше, збереглася першопочаткова тенденція: у собак дослідної групи, які отримували препарат «Мікростимулін» до вакцинації, титри антитіл до лептоспір були вищими, ніж у собак контрольної групи, які не отримували даний препарат.

Слід зазначити, що після вакцинації антитіла утворилися не тільки до трьох вакцинних сероварів лептоспір, але і до четвертого серовару, який не входив до складу вакцини – *L. bratislava*. Це можна пояснити тим, що серовар *L. bratislava* за своєю антигенною структурою є гомологічним одному з вакцинних сероварів, тому спостерігається перехресна імунна відповідь.

Таким чином, можна впевнено стверджувати, що рівень і стабільність поствакцинального імунітету у собак

даного експериментального дослідження безпосередньо залежала від застосування імуностимулятора «Мікростимулін» перед вакцинацією.

**Висновки.** Проведення планової вакцинації собак проти лептоспірозу є важливим, і досі – єдиним дієвим засобом профілактики та попередження захворюваності собак на лептоспіроз. Використання імуностимулятора «Мікростимулін» у передвакцинальний період дозволяє підвищити імунний статус тварин. У собак цього експериментального дослідження, яким застосовували даний імуностимулятор, поствакцинальні титри антитіл були вищими, ніж у тих, які не отримували імуностимулятор до вакцинації.

Для оцінки стану здоров'я тварин перед вакцинацією бажано зробити клінічний аналіз крові. Також важливо проводити необхідну лікувальну і загальнозміцнюючу терапію тваринам, якщо стан їх здоров'я не дозволяє проводити вакцинацію.

Кров щеплених тварин необхідно повторно досліджувати в РМА через місяць після ревакцинації, оскільки дані, отримані після першого РМА-аналізу недостатньо об'єктивно відображають динаміку формування імунітету.

На підставі підтверджених нами даних, отриманих в результаті проведених експериментальних наукових досліджень, можна зробити висновок, що препарат нового покоління – імуностимулятор «Мікростимулін» ТОВ «Бровафарма», Україна, може бути рекомендовано для широкого застосування як в Україні, так і в усьому світі. Передбачається, що це знизить захворюваність собак такою інфекцією, як лептоспіроз, що також є небезпечним для людини.

**Перспективи подальших досліджень.** На основі проведених досліджень і отриманих даних планується розробити рекомендації щодо ефективності та особливостей застосування препарату «Мікростимулін» у передвакцинальний період для профілактики лептоспірозу у собак Сумського регіону та інших регіонів України.

В майбутньому планується впровадити результати дослідження в практику роботи лікувальних установ ветеринарної медицини м. Суми та Сумського регіону, а в перспективі – і в інших регіонах України та інших країнах.

#### Список використаної літератури:

1. Бадра Б. М. Лептоспироз как зооантропоноз в мегаполисе: Этиологическая структура, эпизоотологические и эпидемиологические особенности, диагностика, профилактика: дис. канд. вет. наук: 16.00.03. СПб., 2008. 174 с.
2. Abdoel T. H., Houwers D. J., van Dongen A. M. Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 2011. Vol. 150. P. 211-213.
3. Adamus C., Buggin-Daubie M., Izembart A. Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles. *Journal of Comparative Pathology*. 2012. Vol. 117. P. 311-328.
4. Barr S. C., McDonough P. L., Scipioni-Ball R. L. Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa. *American Journal of Veterinary Research*. 2005. Vol. 66. P. 1780-1784.
5. Buchwald U. K., Pirofski L. Immune therapy for infectious diseases at the dawn of the 21<sup>st</sup> century: The past, present and future role of antibody therapy, therapeutic vaccination and biological response modifiers. *Curr. Pharm. Des.* 2003. Vol. 9. P. 945-968.
6. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. World Health Organization: International Leptospirosis Society. N.-Y., 2003. 109 p.

#### References:

1. Badra B. M. (2008), «Leptospirosis as a zoonosis in a megacity: Etiological structure, epizootic and epidemiological features, diagnostics, prevention» [Leptospiroz kak zoonoz v megapolise: Etiologicheskaya struktura, epizootologicheskie i epidemiologicheskie osobennosti, diagnostika, profilaktika], [dissertatsiya], SPb., 174 p. (in Russian)
2. Abdoel T. H., Houwers D. J. and van Dongen A. M. (2011), «Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis». *Veterinary Microbiology*, Issue. 150, pp. 211-213.
3. Adamus C., Buggin-Daubie M. and Izembart A. (2012), «Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles». *Journal of Comparative Pathology*. Issue. 117. pp. 311-328.
4. Barr S. C., McDonough P. L. and Scipioni-Ball R. L. (2005), «Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa». *American Journal of Veterinary Research*. Issue. 66. pp. 1780-1784.
5. Buchwald U. K. and Pirofski L. (2003), «Immune therapy for infectious diseases at the dawn of the 21<sup>st</sup> century: The past, present and future role of antibody therapy, therapeutic vaccination and biological response modifiers». *Curr. Pharm. Des.* Issue. 9. pp. 945-968.
6. «Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control» (2003), World Health Organization: International Leptospirosis Society. N.-Y. 109 p.

#### **Турченко О. Н. Исследование эффективности влияния препарата «Микростимулин» (ТОВ «Бровафарма», Украина) на формирование поствакцинального иммунитета против лептоспироза у собак.**

Проведение плановой вакцинации собак против лептоспироза является важным, и до сих пор единственным действенным средством профилактики и предупреждения заболеваемости собак лептоспирозом. Для качественного проведения вакцинации с целью повышения иммунного статуса животных, в ходе проведенного научного эксперимента, наряду с общими этапами подготовки собак к вакцинации, включено также задавание животным опытной группы иммуностимулятора «Микростимулин» отечественного производителя (ТОВ «Бровафарма», г. Бровары, Украина). Титры поствакцинальных антител у животных опытной группы оказались выше (1:100-1:200), чем у животных контрольной группы, которые не получали «Микростимулин» перед вакцинацией против лептоспироза (1:50-1:100). Применение иммуностимулятора «Микростимулин» животным перед вакцинацией против лептоспироза позволяет увеличить её эффективность за счет повышения иммунного статуса животных, и, соответственно, увеличения количества протективных антител, которые образуются организмом в результате прививки.

**Ключевые слова:** Микростимулин, лептоспироз, иммунитет, антитела, собаки.

#### **Turchenko O. N. Investigation of the effectiveness of efficiency of the "Microstimulin" ("Brovafarma" LTD, Ukraine) on the formation of postvaccination immunity to leptospirosis in dogs.**

Planned vaccination of dogs against leptospirosis is an important and still the only effective method of prevention leptospirosis in dogs. For qualitative vaccination for improving the immune status of animals in the course of the conducted scientific experiment, in conjunction with the general stages of preparation of dogs for vaccination, the animals of the experimental group were treated by the immunostimulator «Microstimulin» of the domestic producer («Brovafarma», Ltd., Brovary, Ukraine). Titres of post-vaccine antibodies in animals in the experimental group were higher (1:100-1:200) than in control animals that did not receive «Microstimulin» before vaccination against leptospirosis (1:50-1:100). The use of the immunostimulator «Microstimulin» to animals before vaccination against leptospirosis can increase its effectiveness by increasing the immune status of animals, and accordingly, increasing the amount of protective antibodies that are generated by the body as a result of the vaccination.

**Keywords:** Microstimulin, leptospirosis, immunity, antibodies, dogs.