

Корисна модель відноситься до ветеринарної мікробіології і може бути використана для виготовлення вакцин проти лептоспірозу тварин, який досить поширений на тваринницьких фермах і завдає значних економічних збитків.

Основним ефективним методом боротьби з лептоспірозом є вакцинація тварин. Штами збудника лептоспірозу, що пропонуються для виробництва вакцин повинні мати виражені антигенні та стабільні морфологічні, культурально-біохімічні властивості, бути високо імуногенними.

Аналогами корисної моделі є виробничі штами *Leptospira interrogans* ВГНКИ-1 серогрупа Grippotyphosa, *Leptospira interrogans* ВГНКИ-2 серогрупа Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* ВГНКИ-3 серогрупа Canicola, *Leptospira interrogans* ВГНКИ-4 серогрупа Tarassovi, *Leptospira interrogans* ВГНКИ-5 серогрупа Hebdomadis, *Leptospira interrogans* ВГНКИ-6 серогрупа Pomona f Авторське свідоцтво №555664, 26.01.83; Авторське свідоцтво №828459, 30.01.83), *Leptospira interrogans* PSR-1 серогрупа Pomona, *Leptospira interrogans* серогрупа Sejroe сероеар hardjo (RU 2 030 915 C1, 20.03.1995), *Leptospira interrogans* "Рябухін" серогрупи Icterohaemorrhagiae сероеар copenhageni (RU 2 005 779 C1, 15.01.1994), *Leptospira interrogans* "Крыса-2" серогрупи Icterohaemorrhagiae сероеар copenhageni (RU 2 049815 C1, 10.12.95) на основі яких виготовляють інактивовану полівалентну вакцину проти лептоспірозу.

Найближчим аналогом корисної моделі є виробничий штам *Leptospira Icterohaemorrhagiae* ВГНКИ-2, який використовується для виробництва інактивованої вакцини проти лептоспірозу тварин (Авторське свідоцтво №555807, 30.01.83). Використання штаму бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava в біологічній промисловості України неможливе за його відсутністю. Для розробки засобів профілактики та діагностики лептоспірозу необхідно мати вітчизняні високо імуногенні штами.

В основу корисної моделі, що представлена, поставлено задачу отримати штам бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava, що має підвищену імуногенну активність, володіє стабільними морфологічними та культурально-біохімічними властивостями, високою потенцією росту, яка сприяє отриманню великої кількості біомаси для виготовлення вакцин та діагностиків проти лептоспірозу.

Штам бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava отриманий з Берлінського інституту захисту прав споживачів і ветеринарної медицини (м. Берлін) в 1997 році, який клоновано та селекціоновано в лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин з музеєм штамів мікроорганізмів Інституту ветеринарної медицини УААН.

Штам бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava задекларований в колекції мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів 28.11.2005 року і має реєстраційний номер 334.

Морфологічні властивості. Суворий аероб. Оптимальна температура для культивування 28-30°C. Грам негативні спірохети. У темному полі мікроскопа мають вигляд матових тонких рухомих ниточок. Погано фарбуються аніліновими барвниками. Концентрація водневих іонів середовищ для культивування 7,2-7,4.

Патогенні властивості. Патогенний для людини та тварин.

Антигенні властивості вивчали в досліді на кроликах. Для цього прямій імунізації антигеном, з накопиченням 80-100 лептоспір у полі зору мікроскопа, одноразово піддали дорослих кролів вагою 3-3,5кг внутрішньо по 0,75см<sup>3</sup>. Для проведення роботи був використаний вакцинний штам бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava відповідно 7-10 добового віку. На 7, 14, 25 добу після введення у кролів відбирали кров з метою дослідження сироваток в РМА та наростання титрів антитіл. При цьому порівнювали титр антитіл кролів, яким вводили культуру штаму. Результати досліді приведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Титри антитіл в сироватках крові кролів імунізованих дослідними антигенами, M±m, n=5

Найменування штамів	Титри антитіл в сироватках крові кролів на день після вакцинації:		
	7	14	25
<i>Leptospira interrogans</i> Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava	1:86,9±8,3	1:392,1±19,7	1:670±23

Різниця між титрами досліджуваних сероваріантів на початку та наприкінці досліді була значною з високим ступенем достовірності (P<0,005).

Генетичні особливості штаму. Стійкий до дії фурациліну, фурагіну, 5-фторурацилу.

Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму. Для культивування використовуються живильні середовища Терських, Кортгофа та дві його модифікації (рН живильних середовищ 7,2-7,4) з вмістом 10% сироватки крові овець або 7-10% сироватки крові кролів. Середовище Терських та Кортгофа готуються в лабораторних умовах за загальноприйнятою методикою, а модифіковані середовища Кортгофа згідно розроблених та затверджених нормативних документів. Сироватка крові овець попередньо інактивується 2 години при температурі 56°C, а сироватка крові кролів - 30 хв. при температурі 56°C. Адаптація штаму до середовищ з вмістом сироватки крові овець взамін середовища з вмістом сироватки крові кролів проводиться згідно розроблених способів адаптації. Також використовується середовище ЕМЖН (рН - 7,6-7,8).

Спосіб, умови та склад середовища для довгострокового зберігання штаму. Зберігається в умовах культивування шляхом періодичних пересівів на живильні середовища з вмістом сироватки крові овець чи кролів. Періодичність пересівів 10-14 днів.

Вірулентність. Вивчення вірулентності штаму проводили по загальноприйнятій методиці на морських свинках, кролятах-сисунах і золотистих ховрашках. Визначена LD<sub>50</sub> для золотистих ховрашків складає 2·10<sup>4</sup> мікробних тїл. Клінічне виявлення інфекції у експериментальних тварин характеризується жовтяницею видимих слизових

оболонок, тремтінням скелетних м'язів, пригніченим станом, відмовою від поїдання корму, гемоглобінурією.

Імуногенність. Штаму властива виражена імуногенна активність. Інактивованій 0,25% водним фенолом або 0,25% водним розчином формальдегіду, він захищає від загибелі і розвитку інфекції 100% ховрашків заражених *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava в дозі, в декілька раз перевищуючи летальну, при 100% загибелі не вакцинованих контрольних тварин.

Зі штаму *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava отримана вакцина, яка була випробувана в експерименті на тваринах.

Приклад 1.

У 7-10 денну лептоспірозу культуру (не менше 70-90 лептоспир в полі зору мікроскопа), інактивовану 0,25% водним розчином фенолу в кінцевій концентрації, додавали 65% водний розчин ПЕГ до кінцевої концентрації його 7%. Через 3 доби надосадову рідину зливали, концентруючи антиген в два рази.

Готові зразки дослідних вакцин підлягали перевірці на нешкідливість, токсичність, стерильність, імуногенність.

Готовий вакцинний препарат вводили кролям (3-3,5кг) в латеральну вену вуха в дозі 0,75см<sup>3</sup>.

В нижченаведених таблицях наведена міра імунологічної відповіді піддослідних тварин на 25 добу після застосування вакцини, що виражена в титрах антитіл.

Таблиця 2

Титри антитіл кролів у відповідь на застосування вакцини зі штаму бактерій *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava на 25 добу після застосування,  $M \pm m$ ,  $n=9$ .

Назва штаму	Титри антитіл кролів
<i>Leptospira interrogans</i> Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava (штам з яким не проводились роботи по підвищенню імуногенної активності)	1:125±19
<i>Leptospira interrogans</i> Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava (клонований та селекціонований в лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин з музеєм штамів мікроорганізмів IBM УААН)	1:370±67

Якщо проаналізувати дані таблиці, то можна зробити висновок, що вакцина, до складу якої входить антиген штаму *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava (клонований та селекціонований в лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин з музеєм штамів мікроорганізмів IBM УААН), що пройшов цикл підвищення антигенної та імуногенної активності, виявився у 2,94 рази більш імуногенним з високим ступенем достовірності ( $P<0,005$ ), ніж *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava (штам з яким не проводились роботи по підвищенню імуногенної активності (вихідний штам)).

Приклад 2.

Золотистих ховрашків вагою - 40-50г імунізували інактивованою вакциною, виготовленою зі штаму *Leptospira interrogans* Yez bratislava серогрупа Australis, серовар bratislava (клонований та селекціонований в лабораторії лептоспірозу сільськогосподарських тварин з музеєм штамів мікроорганізмів IBM УААН) в кількості 10 голів в дозі 1см<sup>3</sup> внутріочеревенно. На 25 добу проводили зараження імунізованих і контрольних ховрашків летальною дозою. Всі імунізовані тварини залишились живими, симптоми захворювання були відсутні, з органів забитих тварин при висівах на поживне середовище лептоспіри виділенні не були. Всі неімунізовані тварини загинули з ознаками характерними для лептоспірозу.