

АНАЛІЗ ДИНАМІКИ СИНТЕЗУ АНТИТІЛ У СИРОВАТЦІ КРОВІ КОНЕЙ ПІСЛЯ ЩЕПЛЕННЯ ВАКЦИНОЮ ПРОТИ СИБІРКИ ТВАРИН ЗІ ШТАМУ *BACILLUS ANTHRACIS* UA-07 «АНТРАВАК»

I. O. Рубленко¹, В.Г. Скрипник²
rubs@ukr.net

¹Білоцерківський національний аграрний університет,
вул. Ставищанська, 126, м. Біла Церква, 09100, Україна

²Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики
та ветеринарно-санітарної експертизи,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

У статті наведені результати досліджень визначення рівня титру протисибіркових антитіл у коней різного віку після щеплення вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Для дослідження було сформовано три групи коней. Всі дослідні групи тварин отримували вакцину в дозі 1,0 см³. Контрольні тварини отримували замість вакцини таку ж кількість фізіологічного розчину. Метою досліджень було вивчити динаміку утворення протисибіркових антитіл у сироватці крові коней, імунізованих новою вітчизняною вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Динаміку змін визначали методом індивідуального відбору та дослідження проб сироватки крові методом РНГА. Тварини відрізнялися за віком, що, ймовірно, призвело до отримання різних результатів синтезу антитіл.

Встановлено наявність титрів антитіл до збудника *Bacillus anthracis* у коней усіх вікових дослідних груп тварин. У результаті проведених клінічних досліджень встановлено, що вакцина проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» добре переноситься тваринами і не спричиняє побічних реакцій. При введенні рекомендованої дози та способу застосування спостерігали значне підвищення рівня антитіл у коней 3-ї групи порівняно з іншими групами та контролем.

За результатами досліджень виявлено, що вакцина проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» призводить до підвищення титрів протисибіркових антитіл, особливо у тварин старшої вікової групи. Найнижчий синтез антитіл спостерігався у тварин 1-ї, найменшої вікової групи.

Ключові слова: СИБІРКА, ВАКЦИНА, КОНІ, ТИТРИ, АНТИТІЛА, *BACILLUS ANTHRACIS*, «АНТРАВАК»

ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF ANTIBODY SYNTHESIS IN HORSE SERUM AFTER VACCINATION WITH UA-07 “ANTRAVAK” AGAINST ANTHRAX OF *BACILLUS ANTHRACIS* STRAIN

I. A. Rublenko¹, V. G. Skripnik²
rubs@ukr.net

¹Bila Tserkva National Agrarian University,
126 Stavyschanska str., Bila Tserkva 09117, Ukraine

²National Research Institute laboratory diagnostics and veterinary and sanitary examination,
30 Donetska str., Kyiv 03151, Ukraine

The results of research to determine the level of antibody titer of anthrax in horses of all ages after a vaccine against anthrax strain of animals *Bacillus anthracis* UA-07 “Antravak” are presented in the paper. For the research three groups of horses were formed. All research groups of animals received vaccine at a dose of 1.0 cm³. The animals which received saline instead of the vaccine were used as control. The aim of research was to study the dynamics of anthrax formation of antibodies in the serum of horses immunized with the new vaccine against anthrax of domestic animals with a strain of *Bacillus anthracis* UA-07 “Antravak”. Dynamics of changes was determined by individual selection and study of serum samples by indirect clumping together red blood cells. Animals differed in age, which probably led to different results in antibody synthesis.

The presence of antibody titers to the pathogen *Bacillus anthracis* horses was established in all age groups of experimental animals. As a result of clinical trials it was found that a vaccine against anthrax strain of animals *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" was well tolerated by animals without causing adverse reactions. With the introduction of the recommended dose and route of administration a significant increase of antibodies in horses of 3rd group compared to other groups and control was noted.

According to the research it was found that the vaccine strain of anthrax animals *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" leads to higher antibody titers of anthrax, especially in older animals. The lowest level of antibody synthesis was noted in the 1st group with the least age of animals.

Keywords: ANTHRAX, DISTRIBUTION, VACCINES, EQUINE, CREDITS, ANTIBODIES, *BACILLUS ANTHRACIS*, "ANTRAVAK"

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ СИНТЕЗА АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЛОШАДЕЙ ПОСЛЕ ПРИВИВКИ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ ИЗ ШТАММА *BACILLUS ANTHRACIS* UA-07 «АНТРАВАК»

И. А. Рубленко¹, В. Г. Скрипник²
rubs@ukr.net

¹Белоцерковский национальный аграрный университет,
ул. Ставищанская, 126, г. Белая Церковь, 09100, Украина

²Государственный научно-исследовательский институт
лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы,
ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

В статье приведены результаты исследований определения уровня титра противосибиреязвенных антител у лошадей разного возраста после прививки вакциной против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Для исследования было сформировано три группы лошадей. Все исследовательские группы животных получали вакцину в дозе 1,0 см³. Контрольные животные вместо вакцины получали такое же количество физиологического раствора. Целью исследований было изучить динамику образования противосибиреязвенных антител в сыворотке крови лошадей, иммунизированных новой отечественной вакциной против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Динамику изменения определяли путем индивидуального отбора и исследования проб сыворотки крови методом РНГА. Животные отличались по возрасту, что, вероятно, привело к получению различных результатов синтеза антител.

Установлено наличие титров антител к возбудителю *Bacillus anthracis* у лошадей всех возрастных исследовательских групп животных. В результате проведенных клинических исследований установлено, что вакцина против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» хорошо переносится животными и не вызывает побочных реакций. При введении рекомендуемой дозы и способа применения отмечали значительное повышение уровня антител у лошадей 3-й группы по сравнению с остальными группами и контролем.

По результатам исследований выявлено, что вакцина против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» приводит к повышению титров противосибиреязвенных антител, особенно у животных старшей возрастной группы. Самый низкий синтез антител отмечали у животных 1-ой, самой маленькой возрастной группы.

Ключевые слова: СИБИРСКАЯ ЯЗВА, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ВАКЦИНА, ЛОШАДИ, ТИТРЫ, АНТИТЕЛА, *BACILLUS ANTHRACIS*, «АНТРАВАК»

Одне з вагомих досягнень людства — це відкриття, пов'язані із вакцинопрофілактикою, завдяки чому були ліквідовані або зведені до мінімуму виникнення більшості антропозоонозів. Серед інфекцій, що становлять небезпеку для тварин і людей, залишається сибірка, збудник якої може зберігатися у вогнищі захво-

рювання більше 100 років. *Bacillus anthracis* належить до родини *Bacillaceae* роду *Bacillus* (рід *Bacillus* об'єднує 48 видів аеробних та факультативно-анаеробних бацил, розділених на дві групи: до першої входять 22 види, до другої — 26 видів), підроду *Bacillus*, в якому нараховують більше 100 видів. Збудник *Bac. anthra-*

cis є представником так званої групи бацил *Bac. cereus sensu lato* [1, 5, 11, 14].

Історія зберегла дані лише великих епізоотій сибірки серед тварин у XIV–XV ст.: у 1309 р. («был мор на люди и кони и на всякий скот»), 1375 («на люди и кони и на скот был мор в Твери»), 1433, 1448 рр. («мор на коней и люди мерли») [10].

Особливою подією у світовій історії сибірки стало заборона використання її збудника як біологічної зброї після підписання Женевського протоколу [3]. Проте це не зупинило поширення збудника сибірки.

Актуальність проблеми зумовлена тим, що, враховуючи літературні дані, в Україні є від 9 до 11 тис стаціонарно-неблагополучних пунктів, тому забезпечення біологічної безпеки тварин, населення, збереження природного середовища України залишається одним із важливих завдань у другому тисячолітті [8].

Захворювання на сибірку є актуальним не лише для України, а й для більшості країн Європи та світу. Оскільки захворюваність залишається на високому рівні, щорічно реєструються летальні випадки, на лікування хворих витрачають великі кошти, а виробники тваринницької продукції зазнають значних економічних збитків через загибель тварин та проведення проти-епізоотичних і профілактичних заходів.

Попри достатню кількість вакцин проти сибірки тварин, учені всього світу продовжують пошук оптимальної вакцини, яка б задовольнила їх вимоги [13]. Ситуація в Україні щодо виникнення сибірки має певні ризики, оскільки наявність великої кількості стаціонарно-неблагополучних пунктів становить потенційну загрозу [2, 4, 6, 7].

Низка дослідників встановила, що тварини, які переохворіли на сибірку і одужали, не хворіють вдруге — вони набувають імунітет, тобто стають несприйнятливими до збудника [12]. Тенденція стійкого зниження джерел сибірки за останні 10 років, вочевидь, спричинена ефективною вакцинопрофілактикою тварин.

Метою дослідження було вивчити динаміку утворення протисибіркових антитіл у сироватці крові коней, імунізованих новою вітчизняною вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак».

Матеріали і методи

Дослідження виконували на конях в умовах Херсонського державного підприємства — біологічна фабрика, на базі Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) і на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ).

Експериментальну серію вакцини проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» було виготовлено Херсонським державним підприємством — біологічна фабрика.

Для дослідження тварин розділили за віковими групами: 3–6-місячного віку (1-а група), 6–12-місячного віку (2-а група) та дорослі віком понад 12 місяців (3-я група). Тваринам дослідних груп підшкірно вводили рекомендовані до вакцинації дози вакцини: з 3-місячного віку і старшим — 1,0 см³. Після щеплення вакциною робочих коней кондиційної вгодованості використовувати на легких роботах, а на важких роботах — не раніше, ніж через 5 діб. Для профілактики ускладнень вакцину вводили стерильними шприцями та стерильними голками (для кожної тварини використовували окрему голку). Вакцину вводили в області середньої третини шиї, шприцом із дотриманням вимог асептики. Протягом 10 діб після щеплення тваринам проводити термометрію. За конями вели спостереження протягом 12 місяців. Стан тварин після щеплення був в межах фізіологічної норми. Щеплених особин оберігали від перегрівання, переохолодження, перевтоми.

Коням контрольних груп замість вакцини проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» підшкірно вводили стерильний фізіологічний розчин в об'ємі 1,0 см³, що відповідає дозам вакцини.

Вплив вакцини «Антравак» на формування імунної відповіді організму коней визначали за показниками рівня протисибіркових антитіл у сироватці крові. Рівень антитіл визначали методом РНГА (використовували «Діагностикум эритроцитарный сибирезвенный антигенный сухой», Казахский Научный Центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Ай-

кимбаева, Казахстан) відповідно до інструкції з застосування. Сироватки крові дослідних тварин відбирали до вакцинації та через 21 день, 3, 6 і 12 місяців після щеплення. Оцінку результатів здійснювали за методикою Лярські (1980) [9] визначенням середньої геометричної (G).

Результати й обговорення

За серологічного дослідження сироватки крові клінічно обстеженого поголів'я ко-

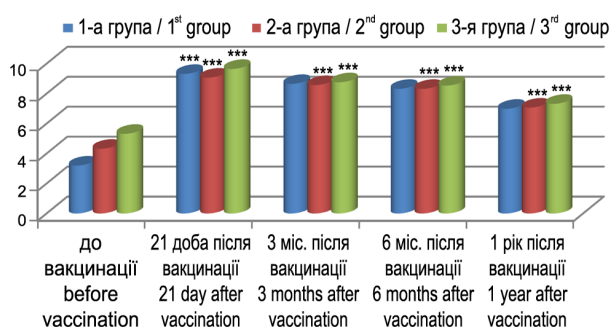


Рис. 1. Середні показники титрів антитіл у сироватці крові коней дослідних груп після імунізації вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак»

Fig. 1. Average figures of antibody titers in serum of horses after vaccination against anthrax strain of animal *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak"



Рис. 2. Середні показники титрів антитіл у сироватці крові коней різних вікових груп до вакцинації та через 1 рік після вакцинації вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак»

Fig. 2. Average figures of antibody titers in serum of horses in different age groups before vaccination and 1 year after vaccination against animal anthrax strain *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak"

Примітка: *** — $P < 0,001$ порівняно з показниками до імунізації.

Note: *** — $P < 0.001$ compared to immunization rates.

ней контрольних та дослідних 1-ої, 2-ої і 3-ої дослідних груп встановлено, що до щеплення вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» виявили титри антитіл 1:10 ($G=3,32$); 1:20 ($G=4,32$) та 1:40 ($G=5,32$) (рис. 1).

Рівень антитіл у сироватці крові дослідних коней через 21 добу після вакцинації вірогідно не відрізнявся у різних груп тварин (у 1-ій групі — $G=9,32$, у 2-ій — $G=9,07 \pm 0,18$, у 3-ій — $G=9,65 \pm 0,05$), а їх підвищення відображає імунну реакцію організму на введення вакцини. У контрольних тварин 1-ої та 2-ої груп антитіл не виявляли.

Встановлено, що через 3 місяці після щеплень у дослідних тварин були достатньо високі титри антитіл (1:320–1:640; $G=8,32$ – $9,32$). Середні геометричні показники рівня антитіл у тварин 1-ї, 2-ї і 3-ї груп були вірогідно вищими ($P < 0,001$) порівняно з висхідними даними. При цьому слід зазначити, що показники були найвищими у тварин 3-ої групи (1:320–1:640; $G=8,76 \pm 0,05$). У тварин контрольної групи антитіла не виявлялися й надалі.

Зміни концентрації протисибіркових антитіл у сироватці крові коней через 6 місяців вірогідно не відрізнялися між всіма віковими групами (1:320; $G=8,32$ у тварин 1-ої та 2-ої груп, 1:320–1:640; $G=8,32$ – $8,54$ у тварин 3-ої групи). Спостерігали незначне зниження титрів. У тварин 1-ої групи середні геометричні показники знизилися на 0,33, 2-ої — на 0,25, 3-ої — на 0,22 (G), що було вірогідно вищим від показників, отриманих до вакцинації.

У подальшому, через 1 рік після вакцинації коней вакциною проти сибірки, титри антитіл значно знизилися: у тварин 1-ї групи — на 1,66 та 1,33 показника середнього геометричного; у тварин 2-ї групи — на 1,5 та 1,25; у тварин 3-ї групи — на 1,44 та 1,22 порівняно з середніми геометричними показниками протисибіркових антитіл через 3 та 6 місяців після вакцинації. Проте середні геометричні показники залишалися вірогідними відносно середньгеометричних показників, отриманих до вакцинації ($P < 0,001$). Показники титрів синтезованих антитіл залишалися найвищими у тварин 3-ї групи — 1:160; $G=7,32$ (рис. 2) порівняно з показниками 1-ї та 2-ї груп.

Результати порівняння титрів протисибіркових антитіл у сироватці крові дослідних коней, імунізованих вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак», свідчать про те, що щеплення викликало вищу імунореактивність у тварин 3-ої групи (віком понад 12 місяців), на що вказують середні геометричні показники титрів антитіл (1:160; $G=7,32$). У коней 1-ї групи через 1 рік після вакцинації показники середнього геометричного були найнижчими ($G=6,99\pm 0,33$).

Отже, результати досліджень свідчать, що при щепленні коней у віці 3 місяці синтез антитіл триває протягом одного року в межах 1:80–1:160; $G=6,99$. За вакцинації тварин 6–12-місячного віку антитіла синтезуються у дещо вищих титрах: 1:80–1:160; $G=7,07$, а дорослих тварин — 1:160; $G=7,32$. Для профілактики захворювання дорослих коней необхідно щеплювати вакциною зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» один раз на рік, у період найкращого фізіологічного стану організму.

Висновки

Щеплення вакциною проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» призводить до імунологічної відповіді організму коней з підвищенням титрів протисибіркових антитіл, особливо у тварин старшої вікової групи. Найнижчий синтез антитіл спостерігали у тварин 1-ої, найменшої вікової групи, що пояснюється, ймовірно, несформованою імунною системою. Виявлення антитіл у тварин різних груп до вакцинації підтверджує проведення щорічного обов'язкового щеплення, але титри антитіл виявляли в низьких концентраціях (1:10–1:40; $G=3,32$ – $5,32$), тоді як вакцина проти сибірки тварин зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» через рік після вакцинації викликає синтез специфічних антитіл у межах 1:80–1:160; $G=6,99$ – $7,32$.

Перспективи подальших досліджень.

Визначення динаміки протисибіркових антитіл у свиней, у зв'язку з тим, що серед цих тварин трапляється захворювання сибіркою як в Україні, так і за її межами. Об'єктом нашого дослідження будуть тварини різних вікових груп, а предметом досліджень — сироватка крові цих тварин.

1. Bahl I. M., Rosenberg K. High abundance and diversity of *Bacillus anthracis* plasmid pXO1-like replicons in municipal wastewater. *Journal of Microbiol Ecol.*, 2010, no. 74. pp. 241–247.

2. Dangerous situation medico-biological nature and measures to minimize their negative consequences. National Report on the State of Techno and Natural Safety in Ukraine in 2012. 2013, pp. 65–66. Available at: www.mns.gov.ua/files/proznos/report/2012/2.2012.pdf.

3. Grinevich O. Y., Markovic I. G., Markovic I. F. Role of monitoring infections common to humans and animals, to ensure biosafety population of Ukraine. *Ukrainian Medical Journal*, 2012, no. 5. pp. 111–114.

4. Kobiler D., Gozes Y., Rosenberg H., Marcus D., Reuveny S. Efficiency of protection of guinea pigs against infection with *Bacillus anthracis* spore by passive immunization. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 2, pp. 544–560.

5. Liman O. Yu., Murtazayeva L. A., Klee S., Liman A. P. Molecular technologies anthrax detection by PCR of different formats. *Journal of Biotechnology*, 2013, no. 3, pp. 86–96.

6. Ruden V. V., Moskvayak E. V., Banchuk N. V. Legislative and regulatory adjustment process of organizing and conducting vaccination of the population in Ukraine. The guidelines. Kyiv, 2011, 105 p.

7. Schmitt K. K., Meysik K. S., O'Braen A. D. Bacterial Toxins: Friends or Foes? *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, vol. 2, no. 1, pp. 4–15.

8. Skrypnyk V., Golovko A., Skrypnyk A., Rublenko I. Dynamics of anthrax cases in Ukraine during 1970–2013 years. *International journal of infectious diseases*, 2014, no. 21, pp. 181. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.03.798.

9. Syurin V. N., Belousov R. V., Fomina N. V. *Veterinary Virology: a textbook. Accomplice*. Moscow, Kolos, 1984, pp. 359–361.

10. Tarasov V. V. Transmissible zoonoses. *Journal of RAB-info*. Available at: <https://does.google.com/document/d/1x0z7xq1TZR%JR7dxFO>.

11. Toby I. T., Widmer J., Dyer D. W. Divergence of protein-coding capacity and regulation in the *Bacillus cereus sensu lato* group. *The BMC Bioinformatics*, 2014, vol. 15, no. 11. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/15/S11/S8>. DOI: 10.1186/1471-2105-15-S11-S8.

12. Terentev F. A. *Anthrax and animals struggle with neu*. Moscow, OGIZ — Selkhozhyz State Publishing of agricultural literature, 1946, 63 p.

13. Woods C. W., Ospanov K., Myrzabekov A. Risk factors for human anthrax among contacts of anthrax-infected livestock in Kazakhstan. *Journal of the American society of tropical medicine and hygiene*, 2004, vol. 71, no. 1, pp. 48–52.

14. Zwick M. E., Joseph S. J., Didelot X. Genomic characterization of *Bacillus cereus sensu lato* species: backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis*. *The Genome Res.*, 2012, vol. 3, no. 29, pp. 1512–1524.