

УДК 619:616.98:636.028.083:612.017

ВПЛИВ НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ УТРИМАННЯ ТВАРИН НА ФОРМУВАННЯ АНТИРАБІЧНОГО ІМУНІТЕТУ

В. В. Недосєков¹, А. П. Нікітова¹, І. М. Полупан²
vetmedic@ukr.net

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, вул. Полковника Потехіна 16, корпус 12, 03041, Україна

²Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Київ, вул. Донецька 30, 03151, Україна

Вивчали вплив несприятливих умов утримання на формування антирабічного імунітету у морських свинок. Після вакцинації проти сказу різні групи тварин піддавали впливу високої температури, зниженої температури та аліментарному стресу. До вакцинації, через 7, 14, 21, 27, 41 добу в усіх тварин відбирали проби крові, отримували сироватки та встановлювали титри антитіл до вірусу сказу методом ТФ-ІФА.

Дослідженнями встановлено, що найбільший вплив несприятливих умов утримання на формування антирабічного імунітету відбувався у групі морських свинок, яких піддавали аліментарному стресу. Його вплив за антирабічної імунізації тварин свідчив про низький рівень утворення специфічних антитіл, титр яких на 14-у добу був нижче мінімального захисного рівня, в той час як у тварин контрольної групи титри антитіл знаходились на даному рівні (0,5 МО/см³).

При утриманні тварин за зниженої та підвищеної температури спостерігалось утворення антирабічних антитіл, рівень яких

на 41 добу був менше порівняно з показниками сироваток крові тварин контрольної групи на 73 та 43 % відповідно. Однак, отримані результати засвідчують ефективність вакцинації на кінець дослідження, оскільки титри антирабічних антитіл в усіх сироватках крові тварин були вищими мінімального захисного рівня. Таким чином, вакцина «Рабістар» забезпечує 100 % захист усіх вакцинованих тварин від зараження летальною дозою вуличного вірусу сказу.

Отримані результати вказують на доцільність врахування несприятливих умов утримання тварин при проведенні профілактичних щеплень проти сказу.

Ключові слова: НЕСПРИЯТЛИВІ УМОВИ УТРИМАННЯ, АНТИРАБІЧНА ВАКЦИНА, АНТИРАБІЧНІ АНТИТІЛА, МОРСЬКІ СВИНКИ, ВИСОКА ТЕМПЕРАТУРА, ЗНИЖЕНА ТЕМПЕРАТУРА, АЛІМЕНТАРНИЙ СТРЕС, ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ АНАЛІЗ, МІНІМАЛЬНИЙ ЗАХИСНИЙ РІВЕНЬ

IMPACT OF UNFAVORABLE HOUSING CONDITIONS OF ANIMALS TO FORMATION OF ANTI-RABIES IMMUNITY

V. Nedosekov¹, A. Nikitova¹, I. Polupan²
vetmedic@ukr.net

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 03041, Colonel Potekhina str. 16, Building 12, Kyiv, Ukraine

²Institute of Veterinary Medicine NAAS, 03151, Donetska str. 30, Kyiv, Ukraine

It was studying the influence of adverse animal welfare on formation of rabies immunity in guinea pigs. After rabies vaccination different groups of animals were subjected to high and low temperatures and nutritional stress. Before vaccination in the term of 7, 14, 21, 27, 41 days

all the animals were taken samples of blood, serum and established antibody titers to rabies virus by the method TF-IFA.

The research has established that the highest influence of adverse animal welfare on formation of rabies immunity was in the group of

guinea pigs which were subjected to nutritional stress. Its influence due to rabies immunization of animals revealed low formation of specific antibodies which titer was below the minimum protective level while the rabies titers of control group of animal were at this level ($>0,5 \text{ MO/cm}^3$).

In keeping animals in low and high temperatures was observed the formation of rabies antibodies which level on the 41st day was lower compared with the blood serum of animals of the control group 73 and 43 % appropriately. However, the results confirm the effectiveness of vaccination at the end of the experiment, because rabies antibody titers in the blood serum of all animals was higher than the minimum protective level. So, the vaccine «Rabistar» provides 100 %

protection of all vaccinated animals against infected lethal dose of street rabies virus.

The results indicate the feasibility of incorporation of adverse animal welfare during rabies vaccination.

Keywords: UNFAVORABLE CONDITIONS OF THE ANIMALS, RABIES VACCINE, RABIES ANTIBODY, GUINEA PIGS, HIGH TEMPERATURE, REDUCED TEMPERATURE, ALIMENTARY STRESS, IMMUNOASSAY, MINIMUM LEVEL OF PROTECTION

ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ ЖИВОТНЫХ НА ФОРМИРОВАНИЕ АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА

В. В. Недосеков¹, А. П. Никитова¹, И. Н. Полупан²
vetmedic@ukr.net

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, ул. Полковника Потехина 16, корпус 12, 03041, Украина

²Институт ветеринарной медицины НААН, г. Киев, ул. Донецкая 30, 03151, Украина

Изучали влияние неблагоприятных условий содержания на формирование антирабического иммунитета у морских свинок. После вакцинации против бешенства различные группы животных подвергали воздействию высокой температуры, пониженной температуры и алиментарного стресса. До вакцинации, через 7, 14, 21, 27, 41 сутки у всех животных отбирали пробы крови, получали сыворотки и устанавливали титры антител к вирусу бешенства методом ТФ-ИФА. Исследованиями установлено, что наибольшее влияние неблагоприятных условий содержания на формирование антирабического иммунитета проходило в группе морских свинок, которых подвергали алиментарному стрессу. Его влияние при антирабической иммунизации животных свидетельствовало о низком уровне образования специфических антител, титр которых на 14-е сутки был ниже минимального защитного уровня, в то время как у животных контрольной группы титры антител находились на данном уровне ($0,5 \text{ MO/cm}^3$). При содержании животных в условиях пониженной и повышенной температур наблюдалось образование антирабических антител, уровень которых на 41 сутки был меньше по сравнению с показателями сывороток крови животных контрольной группы на 73 и 43 %

соответственно. Однако полученные результаты свидетельствуют об эффективности вакцинации на конец опыта, поскольку титры антирабических антител во всех сыворотках крови животных были выше минимального защитного уровня. Таким образом, вакцина «Рабистар» обеспечивает 100 % защиту всех вакцинированных животных от заражения летальной дозой уличного вируса бешенства

Полученные результаты указывают на целесообразность учета неблагоприятных условий содержания животных при проведении профилактических прививок против бешенства.

Ключевые слова: НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ, АНТИРАБИЧЕСКАЯ ВАКЦИНА, АНТИРАБИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, МОРСКИЕ СВИНКИ, ВЫСОКАЯ ТЕМПЕРАТУРА, Пониженная температура, алиментарный стресс, иммуноферментный анализ, минимальный защитный уровень

Зважаючи на летальність при захворюванні на сказ людей і тварин, питання профілактики інфекції набуває виняткового значення [1, 2]. Запорукою захисту імунізованих тварин від зараження вірусом сказу є напружений антирабічний імунітет із мінімальним протективним рівнем антирабічних антитіл $0,5 \text{ МО/см}^3$. Оцінка рівня антирабічних антитіл є не лише необхідним заходом при визначенні ефективності проведеної антирабічної вакцинації, а й безсумнівним фактором при оцінці індивідуального імунітету.

За даними Гришок Л. П. та ін. (2009), тільки 38–43 % домашніх тварин, вакцинованих парентеральними антирабічними вакцинами, мали специфічні антитіла в протективному титрі [3]. Ці дані свідчать про недостатній рівень популяційного імунітету у собак і котів та високий ризик виникнення сказу.

До цього необхідно додати наукові результати, отримані співробітниками лабораторії сказу ІВМ НААН в умовах неконтрольованого експерименту із рабдомізованою вибіркою сироваток крові тварин для дослідження, які свідчать про 35,9 % популяційний рівень захисту домашніх тварин у м. Києві після парентеральної імунізації [4]. Автори демонструють перманентно низький рівень протективної відповіді у домашніх тварин (собак і котів), які є головною загрозою для людей. Для виключення ролі низькоефективних вакцин було проаналізовано серії препаратів, які застосовувались, і показано, що всі вони відповідали вимогам ТУ У.

З метою визначення ефективності антирабічної парентеральної імунізації нами був проведений аналіз епізоотологічної характеристики патологічних матеріалів, які надійшли до лабораторії сказу ІВМ НААН з Державних обласних лабораторій ветеринарної медицини та були визнані позитивними на сказ. У ході цих досліджень проаналізовано дані супровідних листів до 769 патологічних матеріалів, у результаті чого виявлено 31 випадок (13 собак, 12 котів, 2 ДРХ, 4 ВРХ) захворювання

тварин після отримання антирабічної вакцинації. При цьому у 20 випадках (65 %) тварини отримували профілактичні щеплення за 4–14 місяців до контакту з хворою твариною, а 35 % протягом 4 місяців. Контроль імуногенної активності використовуваних для вакцинації цих тварин серій вакцин, який здійснює в Україні Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, не викликає сумнівів їх активності (не менше 1 МО/доза).

Тому логічним буде припущення, що однією з можливих причин невдалого щеплення було зниження імунного статусу у тварин, що є наслідком негативного впливу факторів навколишнього середовища. У практичних умовах це може бути вплив різного характеру: фізичного, радіоактивного, інфекційного тощо. Однак, усі вони викликають негативні зміни в організмі, які характеризуються порушенням гомеостазу, змінами показників крові, зниженням резистентності організму та ін. [5].

Мета роботи — з'ясувати вплив несприятливих умов утримання тварин (морські свинки) на формування антирабічного імунітету.

Матеріали і методи

Дослід проводили у 2013 р. в Інституті ветеринарної медицини НААН (м. Київ) на 16 безпородних морських свинках, віком 6–8 місяців, масою тіла 600–700 г. Усіх тварин розділили на три дослідні групи та одну контрольну (по чотири тварини у кожній).

Після формування груп, морських свинок вакцинували антирабічною вакциною «Рабістар» (виробник Укрветпромстач), шляхом внутрішньом'язового введення в заднє праве стегно тварини, у дозі $0,25 \text{ см}^3$.

Упродовж 27 діб після вакцинації три дослідні групи тварин знаходились в умовах негативних факторів впливу: перша — вплив високої температури ($32 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), друга — вплив зниженої температури ($12 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), третя — аліментарний стрес, згідно з

методикою [6]. Тварини контрольної група знаходилась у комфортних умовах утримання.

До вакцинації, через 7, 14, 21, 27 та 41 добу після неї в усіх тварин досліджували титри антитіл у сироватці крові до вірусу сказу методом ТФ-ІФА. Дослідження проводили використовуючи тест-систему для виявлення антитіл до збудника сказу BIO RAD Platelia Rabies Kit II, що рекомендована референс-лабораторією ЄС/ВООЗ/МЕБ (Франція, м. Нансі). Постановку реакції проводили згідно з настановою щодо використання тест-системи, а результати досліджень виражали у Міжнародних одиницях (МО/см³).

Отримані результати досліджень обробляли з використанням загальноприйнятих статистичних методів, використовуючи комп'ютерну програму MS Excel.

Результати й обговорення

З метою визначення рівня імунного захисту та оцінки ефективності антирабічної парентеральної імунізації нами досліджено 96 зразків сироваток крові від морських свинок, що відбирались у різний період з моменту вакцинації. Результати досліджень представлені у таблиці.

Таблиця

Рівень антирабічних антитіл у сироватках крові морських свинок після вакцинації, МО/см³ (M±m, n=4)

Групи тварин (умови утримання)	Доба					
	1	7	14	21	27	41
I група (12±2 °C)	0	0,1±0,05	1,2±0,07°*	3,0±0,70°*	3,2±0,76*	3,3±0,97
II група (32±2 °C)	0	≤0,04	0,5±0,35°	3,1±1,12°*	3,5±0,79*	4,0±0,52
III група (аліментарний стрес)	0	≤0,04	0,2±0,12°*	0,7±0,19°*	0,8±0,25*	1,0±0,37*
IV група (контроль)	0	≤0,04	0,6±0,09°	6,2±0,83°	6,0±0,74	5,7±0,76

Примітка: ° — різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при p≤0,05; * — різниця достовірна відносно контролю (IV група) при p≤0,05

У результаті проведених досліджень встановлено, що на 7 добу після імунізації в сироватках крові морських свинок усіх дослідних груп спостерігалась індукція антирабічних антитіл.

На 14 добу досліді, у тварин I, II та IV груп титр специфічних антирабічних антитіл набув захисного рівня (більше 0,5 МО/см³). Статистично достовірно встановлено, що при утриманні тварин за температури 12±2 °C (I група), індукція антирабічних антитіл відбувалась у вищих титрах, ніж у тварин контрольної групи (на 100 %). Однак, у тварин III групи рівень антирабічних антитіл знаходився на рівні, що суттєво менше мінімального захисного рівня на 150 %.

Результати, наведені в таблиці, свідчать, що на 21 добу після інокуляції вакцини спостерігалось підвищення титру антирабічних антитіл у тварин усіх

дослідних груп та контролі. Проте їх рівень різко відрізнявся. Так, в сироватках крові тварин I групи титр антирабічних антитіл знаходився на рівні, що на 150 % більше за показник на 14 добу досліді. Однак, достовірно встановлено, що в тварин I групи титр антитіл був нижчим за показник контрольної групи тварин на 107 %. У тварин II групи відбулося підвищення титру антитіл, що на 520 % більше порівняно з показником на 14 добу досліді. У тварин III групи титр антитіл набув протективного рівня, однак він був статистично достовірно нижчим за показник контрольної групи на 786 %.

Як видно із отриманих результатів дослідження, на 27 добу досліді титр антитіл у тварин всіх дослідних груп знаходився на тому ж рівні, що й на 21 добу. Максимальна антирабічна активність сироваток крові морських свинок була встановлена на 41 добу після імунізації (14

днів з моменту припинення впливу негативних факторів).

Характеризуючи специфічну імунну відповідь у морських свинок, слід відмітити неоднорідність титрів антирабічних антитіл у сироватках крові дослідних груп, що вказує на порушення гомеостазу внаслідок впливу на тварин негативних факторів (високої та низької температур, аліментарного стресу). Так, усі сироватки крові піддослідних тварин, що знаходились під впливом негативних факторів (I, II та III група), містили антирабічні антитіла в титрі, що на 73, 43 та 470 % відповідно менше показників рівня антитіл у сироватках крові тварин контрольної групи.

Однак, враховуючи те, що на 41 добу після вакцинації титри антирабічних антитіл в усіх сироватках крові були вищими мінімального захисного рівня, це свідчить про 100 % захист усіх вакцинованих тварин від зараження летальною дозою вуличного вірусу сказу.

Висновки

1. Вакцина «Рабістар» забезпечує утворення антирабічних антитіл у крові морських свинок з титром на протективному рівні вже на 14 добу досліді та максимальним титром на 21 добу — $6,2 \pm 0,83$ МО/см³.

2. Вплив аліментарного стресу за імунізації тварин свідчить про низький рівень індукції антирабічних антитіл, титр яких на 14 добу становив $0,2 \pm 0,12$ МО/см³, у той час як у тварин контрольної групи титр антитіл знаходився на рівні $0,6 \pm 0,09$ МО/см³.

3. При утриманні тварин за зниженої (12 ± 2 °С) та підвищеної (32 ± 2 °С) температури спостерігалось утворення антирабічних антитіл, рівень яких на 41 добу був $3,3 \pm 0,97$ та $4,0 \pm 0,52$ МО/см³ відповідно, що на 73 та 43 % відповідно менше порівняно з показниками контрольної групи тварин.

Перспективи подальших досліджень. Встановлений вплив негативних факторів утримання тварин на

формування антирабічного імунітету, вказує на необхідність проведення аналогічних досліджень на продуктивних тваринах та розробки уніфікованого тесту для оцінки ефективності антирабічних вакцин із врахуванням впливу природних негативних факторів утримання тварин за антирабічної вакцинації.

1. Brede H. D. Veränderungen der Tollwut-Epidemiologie. *Notabene Med.*, 1996, vol. 26, no. 5, pp. 236–239.

2. Perrin P., Versmisse P., Sureau P. Use of monoclonal antibody for quantitation of rabies vaccine glycoprotein by enzyme immunoassay. *J. Biol. Stand.*, 1985, vol. 13, pp. 295–301.

3. Grishok L. P., Nedosekov V. V., Polupan I. M., Drozhzhe Zh. M., Cvilihovskiy O. M. Problemy spetsyfichnoyi profilaktyky skazu v Ukrayini [Problems of specific prophylaxis of rabies domestic animals in Ukraine]. *Veterynarna medytsyna Ukrayiny — Veterinary medicine of Ukraine*, 2009, no. 7, pp. 11–13 (in Ukrainian).

4. Grishok L. P., Nedosekov V. V., Padalka O. V., Polupan I. M., Scherban' E. V., Sakhnyuk O. M. Serologichnuy monitoring populacijnogo imunitetu vakcunovanukh protu skazu tvarun ta lyudej [Serological monitoring of population immunity against rabies vaccinated animals and humans]. *Byuleten IVM UAAN «Veterunarna biotekhnologiya» — Bulletin of IVM UAAS «Veterinary Biotechnology»*, 2007, vol. 10, pp. 22–30 (in Ukrainian).

5. Nikitova A. P., Nedosekov V. V., Nuchuk S. A., Polupan I. M., Ivanov M. Y. Morfologichni pokaznyky krovi morskykh svynok za anturabichnoj vakcynacii v umovakh stresu [Morphological parameters of blood of rabies vaccinated guinea pigs under the exposition of stress]. *Byuleten IVM NAAN «Veterunarna biotekhnologiya» — Bulletin of IVM NAAS «Veterinary Biotechnology»*, 2013, vol. 22, pp. 395–401 (in Ukrainian).

6. Pyanov V. D., Galickaya M. S., Shutenkov E. S. Modelirovanie stressovukh situacij i vliyanie ih na fiziologicheskij status sobak [Modeling of stress and their influence on physiological status of dogs] *Materialu mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii posvayschonnoj 100-letij so dnya rozhdiniay Pavlovskogo E.N.* [Proc. international scientific-practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Pavlovsky E.N.]. Kazan, 2004, pp. 265–271 (in Russian).