

Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького
Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

<http://nvlvet.com.ua/>

УДК 619:616.981.51:615.373/.383:636.1

Визначення серопозитивності при імунізації свиней різними дозами вакцини

І.О. Рубленко
rubs@ukr.net

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

Метою досліджень було вивчення для свиней оптимальної імунізуючої дози вакцини, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак» проти сибірки тварин. Для визначення оптимальної імунізуючої дози створеної живої спорової вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 проти сибірки тварин було проведено дослідження на свинях. Для цього було сформовано чотири вікові групи: з 2 до 3 міс. з 3 до 6 міс. з 6 до 12 міс. з 12 до 24 міс. Перед дослідженням та через 14, 28 і 180 добу після вакцинації у піддослідних тварин відбирали проби крові для визначення специфічних антитіл. Застосовували вакцину живу спорову, яка містила у $1,0 \text{ см}^3$ 13,03 млн живих спор. Для цього було сформовано чотири вікові групи: з 2 до 3 міс, з 3 до 6 міс. з 6 до 12 міс. з 12 до 24 міс. При вакцинації тварин всіма варіантами доз імунологічного препарату відмічали загальну тенденцію, а саме: титри антитіл збільшувалися на 14 добу після вакцинації (у деяких тварин і на 28 добу), проте на 180-ту добу титри знижувалися. У контрольних групах тварин титри антитіл у сироватці крові не виявлялися.

Встановлено, що доза $2,61\text{--}3,26 \text{ млн/см}^3$ спор експериментальної вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 проти сибірки тварин виявилася менш сероплевалентною, а $10,42\text{--}13,03 \text{ млн/см}^3$ спор – не раціональною у віці з 3 до 6 місяців. Найбільш оптимальною та ефективною дозою застосування вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 для свиней за отриманими результатами виявилася доза $3,65\text{--}5,86 \text{ млн/см}^3$ спор. За аналізом результатів імунологічних досліджень доведено, що вакцина, використана для щеплення свиней у віці від 2 до 3 місяців забезпечує формування імунітету, що підтверджується показниками титрів антитіл на 14, 28 добу та через 6 міс. після застосування вакцини.

Ключові слова: сибірка, *Bacillus anthracis* UA–07, штам, профілактика, вакцина, імунізація, тварини, свині, дози, спори, «Антравак».

Определение серопозитивности при иммунизации свиней различными дозами вакцины

И.А. Рубленко
rubs@ukr.net

Белоцерковский национальный аграрный университет,
пл. Соборная 8/1, г. Белая Церковь, 09100, Украина

Целью исследований было изучение для свиней оптимальной иммунизирующей дозы вакцины изотомленной из штамма *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак» против сибирской язвы животных. Для определения оптимальной иммунизирующей доз созданной живой споровой вакцины из штамма *Bacillus anthracis* UA–07 против сибирской язвы животных было проведено исследование на свиньях. Для этого было сформировано четыре возрастные группы: с 2 до 3 мес., с 3 до 6 мес., с 6 до 12 мес., с 12 до 24 мес. Перед исследованием и через 14, 28 и 180 суток после вакцинации у подопытных животных отбирали пробы крови для определения специфических антител. Применяли вакцину живую споровую, которая содержала в $1,0 \text{ см}^3$ 13,03 млн живых спор. Для этого были сформированы четыре возрастные группы: с 2 до 3 мес. с 3 до 6 мес, с 6 до 12 мес. с 12 до 24 мес. При вакцинации животных всеми вариантами доз иммунологического препарата отмечали общую

Citation:

Rublenko, I. (2017). Determination of seropozivity at the immunization of a suis by various doses of vaccine. *Scientific Messenger LNUVMB*, 19(82), 196–200.

тенденцію, а іменно: титри антител збільшувались на 14 сутки після вакцинації (у деяких тваринах і на 28 сутки), однак на 180-і сутки титри знизались. В контрольних групах тварин титри антител в сировотці крові не виявлялись.

Установлено, що доза 2,61–3,26 млн/см³ спор експериментальної вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 проти сибірської язви тварин виявилася менше серопозитивною, а – 10,42–13,03 млн/см³ спор – не раціонально в віці 3 до 6 місяців. Найбільш оптимальною і ефективною дозою застосування вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 для свиней за отриманими результатами виявилася доза 3,65–5,86 млн/см³ спор. За аналізу результатів імунологічних досліджень доведено, що вакцина, що використовується для прививки свиней в віці від 2 до 3 місяців забезпечує формування імунітету, що підтверджується показателями титрів антител на 14, 28 сутки і через 6 міс. після застосування вакцини.

Ключові слова: сибірська язва, *Bacillus anthracis* UA–07 штаму, профілактика, вакцина, імунізація, тварини, дози, спори, Антравак.

Determination of seropozitivity at the immunization of a suis by various doses of vaccine

I. Rublenko
rubs@ukr.net

*Bila Tserkva National Agrarian University,
Soborna sq., 8/1, Bila Tserkva, Kievskya obl., 09117, Ukraine*

*The development of new means of specific prevention in Ukraine is one of the modern directions of research in veterinary medicine. The aim of the study was to study for optimal immunization pigs a vaccine of *Bacillus anthracis* UA–07 «Antravak» strain against anthrax of the vaccine. A pig study was conducted to determine the optimum immunization dose of a live spore vaccine from *Bacillus anthracis* UA–07 strain against anthrax. For this purpose, four age groups were formed: from 2 to 3 months, from 3 to 6 months, from 6 to 12 months, from 12 to 24 months. Before the study and after 14, 28 and 180 days after vaccination, the test animals were subjected to blood samples for the determination of specific antibodies. The live spore vaccine was used, containing 1,0 feet of 13,03 million live spores. For this purpose, four age groups were formed: from 2 to 3 months, from 3 to 6 months, from 6 to 12 months, from 12 to 24 months. In the course of vaccination of animals, all variants of doses of the immunological preparation marked the general tendency, namely: antibody titers increased at 14 days after vaccination (in some animals and at 28 days), however, by the 180th day titres declined. In the control groups of animals, titers of antibodies in serum were not detected.*

*It was established that the dose of 2,61–3,26 million/cm³ of spore of the experimental vaccine against *Bacillus anthracis* UA–07 strain against the anthrax of animals was less seropositive, and – 10,42–13,03 million/cm³ spores – not rational in ages 3 to 6 months of age. The most optimal and effective dose of vaccine from the *Bacillus anthracis* UA–07 strain for pigs was based on the results of a dose of 3,65–5,86 million/cm³ spores.*

According to the analysis of the results of immunological studies, it has been proved that the vaccine used for vaccination of pigs at the age from 2 to 3 months provides for the formation of immunity, which is confirmed by the indexes of antibody titers at 14, 28 days and 6 months after the application of the vaccine.

Key words: anthrax, anthracis UA–07, strain, prophylaxis, vaccine, immunization, animals, pigs, doses, disputes, Antravak.

Вступ

Розробка нових засобів специфічної профілактики в Україні є одним із сучасних напрямків досліджень у ветеринарній медицині. Відомо, що сибірка має значне поширення в світі та завдає значних економічних збитків у галузі скотарства. Незважаючи на наявні методи лікування, профілактику, сибірка є невирішеною проблемою, яка знижує продуктивність та якість продукції галузі тваринництва. Лише від 01 липня по 31 серпня 2017 було зареєстровано випадки захворювання тварин на сибірку в Україні, Франції, Італії та Мозамбіку.

Сибірка має епідеміологічне значення, тому що хворі тварини є джерелом ураження людей. Науковий пошук засобів специфічної профілактики сибірки розпочався ще на етапі зародження мікробіології, коли дослідженнями Л. Пастера було доведено розвиток імунітету внаслідок підшкірного щеплення тварин першою ослабленою споровою вакциною. У результаті досліджень були створені ефективні живі перша та друга вакцини Ценковського, які довгий час вико-

ристовувались у тваринництві різних країн світу (Fasanella, 2010).

Добрі результати отримали дослідники при вакцинації тварин живою вакциною СТІ, яка була подібна до другої вакцини Ценковського, але трохи ослаблена (Puhach et al., 2011).

У Китаї тварин вакцинують авірулентним штамом Langzhou A16R, у США використовують вакцину із безкапсульного штаму V770-NPIR, адсорбована вакцина проти сибірки Bio Thrax AVA (anthrax vaccine adsorbed) (Wright et al., 2009; Ushkalov et al., 2013).

Аналіз літературних даних свідчить про те що, засоби профілактики, які застосовуються у ветеринарній практиці України, неповністю забезпечують надійний захист тварин проти сибірки (Rublenko et al., 2013; Ushkalov et al., 2014). Створення засобів специфічної профілактики сибірки є перспективним та актуальним.

Метою даних досліджень було вивчення для свиней оптимальної імунізуючої дози вакцини, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак» проти сибірки тварин.

Матеріал і методи дослідження

Для визначення оптимальної імунізуючої дози створеної живої спорової вакцини зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 проти сибірки тварин було проведено дослідження на свинях. Для цього було сформовано чотири вікові групи: з 2 до 3 міс., з 3 до 6 міс., з 6

до 12 міс., з 12 до 24 міс. У кожній групі тварин розділили на 8 підгрупи, у кожній підгрупі була дослідна та контрольна група тварин. Дослідним тваринам вводили вакцину в дозах згідно з таблицею 1, а контрольним – таку ж кількість фізіологічного розчину натрію хлориду.

Таблиця 1

Групи та дози використані при дослідженні

Підгрупи тварин, n	Доза, вакцини, см ³	Кількість спор у об'ємі, млн	Розподіл вікових груп тварин, n = 224:	
			дослідні групи, n = 128:	контрольні групи, n = 96:
			1). з 2 до 3 міс. 2). з 3 до 6 міс. 3). з 6 до 12 міс. 4). з 12 до 24 міс.	1). з 2 до 3 міс. 2). з 3 до 6 міс. 3). з 6 до 12 міс. 4). з 12 до 24 міс.
перша, n = 28	0,6	7,818	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
друга, n = 28	0,8	10,424	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
третя, n = 28	0,9	11,727	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
четверта, n = 28	1,2	15,636	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
п'ята, n = 28	1,5	19,545	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
шоста, n = 28	1,6	20,848	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
сьома, n = 28	1,8	23,454	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*
восьма, n = 28	2,0	24,757	n = 16 (4;4;4;4)*	n = 12 (3;3;3,3)*

Примітка: n = 16 (4;4;4;4)* – кількість тварини до вакцинації, 14, 28 та 180 днів після вакцинації

Застосовували вакцину живу спорову, яка містила у 1,0 см³ 13,03 млн живих спор. Визначення кількості спор в 1 см³ проводили шляхом розведення вакцини (10⁻⁵ і 10⁻⁶) з подальшим посівом на середовище МПА у бактеріологічних чашках, інкубували 24 години за температури 37 °С. Із розведення 10⁻⁵ виросло на першій чашці 34 КУО, на другій – 35, на третій – 13 КУО; із розведення 10⁻⁶ виросло на першій чашці 2 КУО, на другій – 1, на третій – 1 КУО. Таким чином, кількість спор в 1 см³ становила 13,03 млн спор (34 + 35 + 13 + 2 + 1 + 1)/6/1,1 = 13,0303.

Перед дослідженням та через 14, 28 і 180 добу після вакцинації у піддослідних тварин відбирали проби крові для визначення специфічних антитіл. Рівень антитіл визначали методом РНГА (використовували «Диагностикум эритроцитарный сибирезывенный антигенный сухой» (Казахский Научный Центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, Казахстан) відповідно до інструкції зі застосування. Оцінку результатів проводили за методикою Лярські (1980) (Sjurin et al., 1984) шляхом визначення середнього геометричного (G) та log₂.

Результати та їх обговорення

Під час проведення дослідження у тварин всіх вікових груп після введення вакцини, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07, не виявляли пригнічення, підвищення температури тіла, почервоніння слизових оболонок, анафілактичного шоку, місцевих реакцій. Вакцинація телят експериментальною серією вакцини проти сибірки викликала індукцію антитіл проти збудника сибірки залежно від дози вакцини та віку тварин. Отримані результати свідчать, що у всіх дослідних тварин після введення розробленого імунологічного препарату спостерігали виражену індукцію сибіркових антитіл незалежно від введеної дози вакцини.

При вакцинації тварин всіма варіантами доз імунологічного препарату відмічали загальну тенденцію, а саме: титри антитіл збільшувалися на 14 добу після вакцинації (у деяких тварин і на 28 добу), проте на 180-ту добу титри знижувалися. У контрольних групах тварин титри антитіл у сироватці крові не виявлялися.

До введення вакцини у першій групі свиней (вакцинованих у віці з 2 до 3 місяців) показники титрів антитіл у сироватці крові були в межах 23,78–28,28 G (рис. 1).

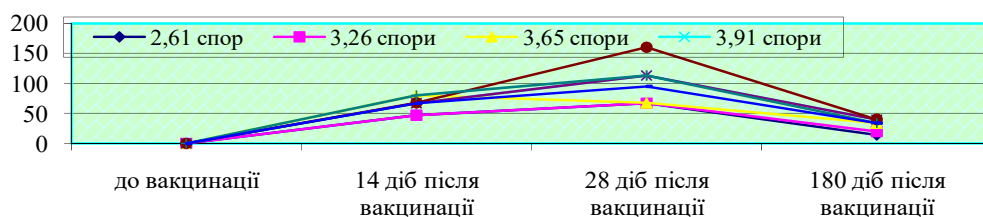


Рис. 1. Показники титрів антитіл у сироватці свиней із 2- до 3-місячного віку, G.

На 14 добу після вакцинації тварин дозою 2,61 – 13,03 млн/см³ спор титри антитіл зросли від 47,57 до 80,0 G ($\log_2 1,33 \pm 0,03 - 1,9$).

За введення кількості спор у дозі вакцини 2,61–3,26 млн спор показники титрів антитіл були в межах 47,57 G ($\log_2 1,33 \pm 0,03 - 1,67 \pm 0,1$). Найвищими показники були при введенні 10,42 млн спор – 80 G ($\log_2 1,9$).

Через 28 днів після вакцинації титри антитіл у групах тварин, при введенні 2,61, 3,26, 3,65, 10,42, 13,03 млн/см³ спор, продовжували невірогідно зростати за винятком введенням доз – 3,91, 5,86, 6,51 млн/см³ спор ($P < 0,05, 0,05$ та $0,001$). Окрім того,

показники титрів антитіл у сироватці крові свиней найвищими були через 28 днів після введення вакцини у дозі 6,51 млн/см³ спор. Показники титрів антитіл були однаковими при введенні 3,91, 5,86 та 10,42 млн/см³ спор 113,14 G ($\log_2 2,05 \pm 0,09$).

Через 180 днів показники титрів знизилися у всіх дослідних тварин, але були найвищими ($G = 40,0$) при введенні тваринам 3,91–6,51 млн/см³ спор. Найнижчими були показники титрів антитіл у сироватці крові поросят, вакцинованих дозою 2,61 млн спор.

У другій групі поросят, вакцинованих у віці з 3 до 6 міс. (рис. 2), реєстрували синтез титрів на 14 добу після вакцинації.

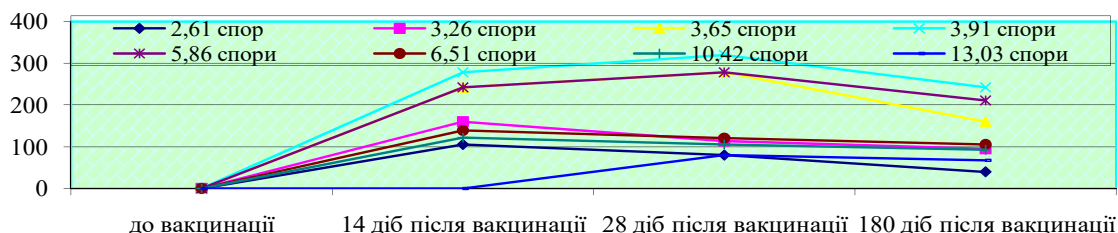


Рис.2. Показники титрів антитіл свиней, вакцинованих із 3- до 6-місячного віку, G

На 14 добу при введенні тваринам 3,91 млн/см³ спор титри вірогідно перевищували ($P < 0,01$) показники тварин, яких вакцинували у дозі 2,61 млн/см³ спор (з $\log_2 8,12 \pm 0,20$, відносно $\log_2 6,72 \pm 0,24$). Варто звернути увагу, що введення більшої кількості спор 13,03 млн/см³ тваринам даної вікової групи призвело до синтезу антитіл у кількості 95,14 G, $\log_2 6,57 \pm 0,25$. Використання 3,65–5,86 млн/см³ спор у вакцині призвело до синтезу титрів антитіл у сироватці крові свиней на рівні 242,51 G ($\log_2 7,92 \pm 0,24$).

Через 28 днів після вакцинації 3,65 та 5,86 млн/см³ спор у сироватці тварин виявляли антитіла на одному рівні: $\log_2 8,12$, G 278,58. Проте це було не вірогідно вищим за показники титрів антитіл, отриманих через 14 днів після вакцинації. При введенні доз спор у кількості 13,91 млн/см³ – \log_2 становив 8,32 а G, що було вище на 41,42 G від показників цих тварин через 14 днів після імунізації. Найнижчими були показники титрів у тварин, вакцинованих у найменшій та найбільшій дозі спор (2,61 та млн/см³).

З часом, через 6 міс. після вакцинації, показники титрів знизилися, але залишилися вірогідно високими ($P < 0,001$) у тварин, яким вводили 3,91–5,86 млн/см³ спор, ($P < 0,05$) у тварин, яким вводили 3,26, млн/см³, ($P < 0,01$) у тварин, яким вводили 3,65, 6,51 та 13,03 млн/см³ порівняно з показниками тварин, вакцинованих у дозі 2,61 млн/см³ спор.

Отже, введення тваринам 2,61–13,03 млн/см³ спор викликає синтез специфічних антитіл, особливо вищі показники були при введенні 3,91 млн/см³ спор. Введення 2,61 млн/см³ спор призводить до синтезу найвищих показників титрів антитіл у сироватці крові тварин, вакцинованих з 2- до 3-місячного віку, але показники були найнижчими, порівняно з іншими.

Введення більшої кількості (13,03 млн/см³) спор викликає синтез антитіл, але показники нижчі, ніж показники у тварин, яким вводили 3,91 млн/см³ спор.

Таким чином застосовані дози вакцини, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07, викликають синтез специфічних антитіл. У зв'язку з цим, з метою раціонального використання препарату, доцільним буде застосування для щеплення тварин з 3-місячного віку дози 3,65–5,86 млн/см³ спор.

За аналізом результатів імунологічних досліджень доведено, що вакцина, використана для щеплення свиней у віці від 2 до 3 місяців забезпечує формування імунітету, що підтверджується показниками титрів антитіл на 14, 28 добу та через 6 міс. після застосування вакцини.

Висновки

1. Доза 2,61–3,26 млн/см³ спор експериментальної вакцини зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 проти сибірки тварин виявилася менш сероплевалентною, а 10,42–13,03 млн/см³ спор – нераціональною у віці з 3 до 6 місяців.

2. Найбільш оптимальною та ефективною дозою застосування вакцини зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 для свиней за отриманими результатами виявилася доза 3,65 – 5,86 млн/см³ спор.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих результатів варто провести подальші вивчення вакцини при імунізації інших промислових тварин (коней, ВРХ) різними дозами.

Бібліографічні посилання

Fasanella, A. (2010). Anthrax. *Infectious Diseases*. 8, 111–142 doi: 10.5772/38539

- Puhach, N.B., Panchenko, M.S., Moiseienko, T.M., Zhernikova, T.M. (2011). Rol L.S. Tsenkovskoho v stavlenni ta rozvytku metodolohii stvorennia vaktsyn proty nebezpechnykh infektsii (na prykladi sybirky). XV zizd ukrainskoho naukovo-medychnoho tovarystva mikrobiolohiv, epidemiolohiv ta parazytolohiv im. D.K. Zabolotnoho. Problemy ta evoliutsiia epidemiolohichnoho protsesu i parazytarnykh system providnykh infektsii suchasnosti. Tezy dopovidei. Instytut mikrobiolohii ta imunolohii im. Mechnikova natsionalnoi akademii medychnykh nauk Ukrainy, Kharkiv, 10–11 (in Ukrainian).
- Ushkalov, V.O., Machuskyi, O.V., Babkin, M.V. (2013). Pidgruntia dlia zaprovadzhennia referent-preparatu vaktsyny proty sybirky tvaryn. Veterynarna medytsyny. 97, 555–558 (in Ukrainian).
- Wright, J.G., Quinn, C.P., Shadomy, S., Messonnier, N. (2009). Use of anthrax vaccine in the United States recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). Morbidity and mortality weekly report. Department of health and human services. Centers for Disease Control and Prevention. 59, 33.
- Ushkalov, V.O., Machus'kij, O.V., Kovtun, V.A. (2014). Vivchennja mozhlivosti vikoristannja nanomaterialiv u biotehnologii preparativ dlja profilaktiki sibirki tvarin. Veterinarna medicina. 98, 192–196 (in Ukrainian).
- Rublenko, I.O., Skripnik, V.G., Machus'kij, O.V. (2013). Eksperimental'na aprobacija pokaznikov kontrolju jakosti sporovih vakcin proti sibirki zgidno mizhnarodnih rekomendacij. Veterinarna biotehnologija. Bjuleten'. 23, 52–56 (in Ukrainian).
- Sjurin, V.N., Belousova, R.V., Fomina, N.V. (1984). Veterinarnaja virusologija. M.: Kolos, 359–361 (in Russian).

Received 13.10.2017

Received in revised form 7.11.2017

Accepted 13.11.2017