

State Research Institute for laboratory diagnostics and veterinary-sanitary expertise, Kyiv

Summary. The article provides information on the structure of the viral haemorrhagic septicemia of salmon fish, especially genotyping of the virus, a detailed description of the different types of virus isolates.

Key words: viral haemorrhagic septicemia, VHS, rainbow trout, salmon, genotyping, serotyping, isolates, genom, virions, genogroup.

УДК 636.09:615.371:578.824

## АНТИРАБИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОБЗОР

Гарагуля Г.И., к. вет. н., доцент,  
Матковская С.Г., к. вет. н., доцент,

*Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков*

Гаркавая В.В., ст. преподаватель

*Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы*

**Аннотация.** В статье проанализированы направления разработки и усовершенствования антирабических вакцин. Описаны группы вакцин в зависимости от методики их получения, дана краткая характеристика свойств живых, инаktivированных, рекомбинантных и пероральных препаратов для профилактики бешенства у животных.

**Ключевые слова:** антирабические вакцины, виды, история

**Актуальность проблемы.** По данным МЭБ и ВОЗ бешенство является одной из самых важных причин гибели людей в категории инфекционных заболеваний. Бешенство – общая проблема гуманной и ветеринарной медицины. В основе ее решения лежит, прежде всего, разработка высокоэффективных антирабических вакцин и правильная согласованная тактика их применения [19].

**Цель исследований** – изучить направления поиска при создании антирабических вакцин для животных и человека.

**Результаты исследований.** На протяжении всей истории создания антирабических вакцин наиболее важными были требования безвредности и иммунологической эффективности, которые соблюдаются при конструировании любой из них до сих пор [5, 17].

Историю создания антирабических вакцин можно условно разделить на несколько периодов [1, 4, 17, 18]:

- первый – с 1885 до 1948г., когда вакцины готовили из мозга взрослых животных (кролики, овцы, козы), инфицированных фиксированным вирусом бешенства; такие вакцины называют тканевыми (мозговыми), или вакцины на основе нервных тканей животных (НТЖ);
- второй – с 1949 до 1955гг., когда готовили живые аттенуированные вакцины, полученные на эмбрионах птицы (их называют эмбриональными, эмбрионвакцинами или авианизированными вакцинами);
- третий – с 1956 до 1982 года – живые или инаktivированные вакцины готовили из штаммов вируса бешенства, адаптированных к культурам клеток, вакцины этого типа называют культуральными антирабическими вакцинами, или КАВ;
- началом четвертого (современного) периода считают 1982 год, когда впервые была получена рекомбинантная вакцина, содержащая ген вируса бешенства, ответственный за синтез поверхностного гликопротеина G, а также созданы субъединичные и ДНК-вакцины.

На современном этапе антирабические вакцины классифицируют по принципу изготовления и механизму действия на такие группы: цельновирионные (живые и инаktivированные), субъединичные, рекомбинантные и ДНК-вакцины. По способу консервирования различают жидкие и лиофилизированные вакцины.

При иммунизации домашних и сельскохозяйственных животных предпочтение отдают **инаktivированным вакцинам**, которые характеризуются безопасностью и высокой иммуногенностью [1, 4, 5, 6, 17].

Первая инактивированная антирабическая вакцина была получена Луи Пастером из тканей мозга кролика, причем для инактивации вируса мозг высушивали над едким калием при температуре +20+24°C на протяжении 13-15 суток. В июле 1885г. ученый впервые решился испытать вакцину на человеке. Вакцинацию людей против бешенства в других странах производили на пастеровских станциях. В Украине пастеровские станции были открыты в Одессе (Н.Ф.Гамалея, 1886г.), Харькове (1887г.) и Киеве (1896г.) [18].

Изменялись технологии получения антирабических вакцин: Кальметт консервировал кусочки мозга в глицерине, а Филиппс – использовал глицерин для консервирования разведенной мозговой взвеси; Ферми и Семпл инактивировали вирус в растворе фенола, а Хемпт и Аливизатос – в эфире. Позже для инактивации стали использовать ультрафиолетовые лучи (УФЛ) или бета-пропиолактон (БПЛ).

До 1949 года вакцины из нервных тканей животных были единственными. Но за время их использования накопились сведения о побочных реакциях тканевых вакцин. В качестве животных-продуцентов использовали преимущественно кроликов, затем их во многих странах заменили овцами и козами. В результате использования тканевых вакцин выяснилось, что они содержат так называемый энцефалитогенный фактор, вызывающий у некоторых привитых людей тяжелые нейропаралитические осложнения. Оказалось, что в мозге новорожденных животных этот фактор содержится в меньших количествах, чем у взрослых. Особенно мало его оказалось у новорожденных крыс и мышей, поэтому начиная с 60-х годов молодняк этих животных использовали для получения вакцинного вируса [18].

Благодаря успешной адаптации вакцинных штаммов вируса бешенства к репродукции в эмбрионах птиц с 50-х годов стали производить авианизированные антирабические вакцины, которые были внедрены в практику здравоохранения с целью предупреждения поствакцинальных осложнений. Наиболее известны 3 типа таких вакцин: 1) вакцина из тканей эмбриона кур, зараженного в суточном возрасте (испытывали в Японии, широко не применялась); 2) вакцины из тканей развивающегося эмбриона кур (из штаммов Flury HEP, вакцина использовалась для дополнительного курса после иммунизации мозговой антирабической вакциной); 3) вакцина из тканей утиного эмбриона. Последняя вакцина изготавливалась из штамма Pitman-Moore, инактивировалась бета-пропиолактоном и широко применялась в США для лечебной и профилактической иммунизации людей. Американские авторы сообщали о снижении частоты неврологических осложнений при использовании утиной вакцины, однако балластные ткани утиного эмбриона вызывали аллергические и общие генерализованные реакции (1-1,5% случаев) вплоть до неврологических осложнений [19].

С 60-х годов вакцинный вирус бешенства был адаптирован к ряду культур клеток. При сравнении реактогенности антирабических вакцин оказалось, что частота тяжелых демиелинизирующих заболеваний у людей при использовании тканевых вакцин составляет 5:100000; при использовании эмбриональных вакцин могут развиваться энцефалиты и нейропаралитическая болезнь (частота 1:25000) и даже смерть (1:225000), в то время как культуральные вакцины, полученные на диплоидных клетках человека, вызывают аллергические реакции с частотой не более 1:625 [19].

Из-за высокой стоимости вакцин для человека, полученных на культуре клеток, ограничивается их применение. Поэтому ВОЗ рекомендовала альтернативный вариант – внутривенное введение, при котором необходимо 1-2 ампулы вакцины, что уменьшает объем и стоимость вакцинации на 60-80% по сравнению со стандартной внутримышечной вакцинацией. Такие схемы вакцинации с успехом применялись в Индии, Филиппинах, Шри-Ланке и Таиланде [7].

**Живые аттенуированные вакцины** стали производить после того, как шт. Флори вируса бешенства был адаптирован Копровским и Коксом к куриным эмбрионам [18]. Живые вакцины готовят из аттенуированных штаммов (CVS, Flury, ERA, HBR), которые культивируют в клеточных культурах. При оральном введении живые вакцины показали высокую эффективность для ряда аттенуированных штаммов: даже после 20 интрацеребральных пассажей на собаках реверсий вирулентных свойств не отмечено, а безвредность доказана в опытах на диких животных 15 видов, обитающих в Европе. К таким живым вакцинам можно отнести вакцину из штамма SAD/BHK-21 (7,3lg TCID<sub>50</sub>/мл), однократная вакцинация которой индуцирует выраженную сероконверсию у 75% собак и 71% лисиц. Живой вакциной из штамма ERA прививали крупный рогатый скот в Южной Америке, и она оказалась эффективной при оральном и парентеральном способах иммунизации [5].

Несмотря на успехи, достигнутые в создании живых вакцин, применение их в будущем может привести к необходимости защиты животных от массивной агрессии

модифицированного природой «вакцинного» вируса бешенства [1, 4]. Мы обнаружили несколько сообщений, посвященных изучению опасности применения живых антирабических вакцин.

О риске рекомбинаций вакцинного штамма вируса с полевыми при использовании живых аттенуированных вакцин пишут Faber M. с соавт. в сообщении, посвященном изучению оральной вакцинации диких плотоядных и бродячих животных [9]. Cliquet F. с соавт. изучали возможность генетических модификаций живых рабических вакцин (из аттенуированных штаммов SAD B19 и SAD Bern, а также апатогенного мутанта SAG2) и рекомбинантной вакцины V-RG которые использовали для оральной вакцинации диких плотоядных [8]. Другая группа исследователей, изучавшая геномы аттенуированных штаммов вируса бешенства, подтвердила возможность рекомбинации между используемыми в Европе вакцинными штаммами SAD [10].

Американские и канадские ученые отмечают, что в организме грызунов живые рабические вакцины реверсируют и становятся патогенными для скунсов и енотов, поэтому не пригодны для оральной вакцинации диких плотоядных в Северной Америке [12].

**Субъединичные вакцины** безопасны (не содержат вируса) и свободны от балластных белков, однако из-за низкой иммуногенности и высокой стоимости их использование в ветеринарии ограничено.

Новой вехой рабиологической вакцинологии является разработка **ДНК-вакцин**, представляющих собой плазмидную ДНК, в которую встроен ген гликопротеина вируса бешенства. Преимущества этих препаратов: стабильность, высокая степень очистки, отсутствие балластных белков и контаминации посторонними агентами и индуцирование у животных общего и местного иммунитета. Двукратная внутримышечная вакцинация собак плазмидной ДНК защищает животных от контрольного заражения вирулентным штаммом вируса бешенства. Еще одним важным преимуществом ДНК-вакцины является возможность встраивания в ДНК плазмиды гликопротеинов нескольких лиссавирусов, что позволит повысить степень защиты против нескольких серотипов вируса. Ученые США провели сравнительное исследование ДНК-вакцины и коммерческой вирус-вакцины на собаках. ДНК-вакцину вводили внутрикожно в кожу ушной раковины в дозе 50 микрограмм, а коммерческую вакцину – внутримышечно. Обе группы животных выжили после заражения летальной дозой полевого вируса бешенства, что свидетельствует о высокой эффективности ДНК-вакцины при внутрикожном ее введении в небольших дозах [13].

Эффективность иммунизации животных ДНК-вакцинами очевидна, однако потребуются еще много усилий для практической реализации нового подхода к профилактике бешенства [1, 13, 18, 20].

Успехи в области клонирования и экспрессии генов привели к созданию **рекомбинантных вакцин**, которые просты в изготовлении, устойчивы во внешней среде и индуцируют напряженный иммунитет. Применение рекомбинантного вируса исключает попадание во внешнюю среду потенциально опасного генома вакцинного вируса бешенства. Кроме того, возможно получение поливалентных вакцин на основе использования различных серотипов вируса. Рекомбинантные вакцины широко применяют для борьбы с бешенством диких плотоядных во многих странах мира как экологически наиболее безопасные [2, 3, 4, 9, 12, 14, 15, 16, 17].

В 1982г. французские ученые выделили клон вируса осповакцины, образующий поверхностный гликопротеин вируса бешенства. Была разработана вакцина, содержащая рекомбинантный вирус коровьей оспы, несущий ген основного гликопротеина оболочки вируса бешенства. В Бельгии успешно применяют рекомбинантную вакцину VVTGgRAB для пероральной иммунизации лисиц. Биомаркером (показателем поглощения вирусосодержащей приманки) является тетрациклин [16].

Для пероральной иммунизации диких животных широко используют также рекомбинантную вакцину V-RG, полученную на основе вируса осповакцины, а также рекомбинантную вакцину на основе аденовируса собак 2 типа [2, 3, 9, 15].

Из-за трудности традиционной инъекционной вакцинации собак в крупных городах и сельской местности Китая ученые этой страны исследовали возможность оральной вакцинации рекомбинантной (на основе аденовируса) вакциной. Около 87,5% иммунизированных собак имели нейтрализующие антитела на протяжении 2 лет в пределах 0,5 МЕ/мл. Эти исследования подтверждают эффективность оральной вакцинации собак [15].

Ученые Бразилии тестировали рекомбинантную вакцину (V-RG) на кровососущих летучих мышах. Серопозитивность в группах после вакцинации составила от 42,8 до 71,4%. Препарат показал иммуногенность и безопасность для летучих мышей. Не было выявлено побочных эффектов при испытании вакцины [11].

В Украине локально и в небольших дозах использовали ряд иностранных вакцин для пероральной иммунизации диких плотоядных (КАРМАК, Словения; Синраб, Россия; РАБИФОКС, Германия). Группой украинских ученых была разработана, апробирована и запущена в производство собственная пероральная живая вакцина «Рабивак ХТТ» из аттенуированного штамма НФ-2 вируса бешенства, производственные испытания которой проведены в 1994-2003 годах на территории Полтавской области. Качество иммунизации проверяли методом ИФА через 1,5-2 месяца после вакцинации. Количество положительно реагирующих составило 78,6%, а титры антител колебались от 0,06 до 4,4 МО. Применение пероральной вакцинации привело к уменьшению количества неблагополучных пунктов и количества случаев бешенства [2].

Сейчас в Украине для животных разрешены к использованию целый ряд моновалентных и ассоциированных вакцин. Для сельскохозяйственных и домашних животных чаще используют инаktivированные моновалентные (культуральные сухие из штамма «Шолковов-51», вакцины серии Рабивак, Нобивак Рабиес, Дефенсор-3, Альфарабивак, Рабикс). Антиген вируса бешенства входит в несколько ассоциированных вакцин, применяемых для профилактики заболеваний собак и кошек (Eurican DHPPI<sub>2</sub>-LR, Gexadog, Qadricat, Nobivac RL). Кроме российских вакцин на территории Украины используют достаточно много вакцин производства Франции (компания Merial), Нидерландов (фирма «Интернет Интернэшнл»), США (двух компаний – Pfizer и Fort Dodge Animal Health), Чехии (компания Bioveta) [6].

#### **Выводы**

1. С 1885 года были созданы тканевые, эмбриональные, культуральные, рекомбинантные и ДНК антирабические вакцины. Для индивидуальной парентеральной вакцинации домашних и сельскохозяйственных животных во всем мире чаще используют инаktivированные вакцины, реже – живые. Диких плотоядных до 90-х годов XX века вакцинировали орально живыми вакцинами, а позже – рекомбинантными как более безопасными.
2. Новейшие разработки антирабических вакцин связаны с повышением безопасности и иммуногенности создаваемых вакцин, а также получением поливалентных рекомбинантных и ДНК-вакцин, содержащих генетический материал различных вариантов лиссавирусов, т.е. вакцин, которые могут быть использованы для эффективной оральной вакцинации диких плотоядных животных.

#### **Литература**

1. Груздев К.А. Бешенство животных / К.А.Груздев, В.В.Недосеков. – М.: Аквариум ЛТД, 2001. – 304 с.
2. Ничик С.А. Сучасні аспекти профілактики сказу в Україні / С.А. Ничик // Ветеринарна медицина: Міжвідом. темат. наук. зб. Вип. 85. - Х., 2008.- С. 327-329.
3. Оральная вакцинация диких плотоядных животных против бешенства / А.Е. Метлин, С.С. Рыбаков, В.В.Милишин, Th.Muller // Ветеринария. –2009. – №8. – С. 18-25.
4. Проблеми специфічної профілактики сказу домашніх тварин в Україні / Л.П. Гришок, В.В. Недосеков, І.М. Полупан та ін. // Вет. медицина України. – 2009. – № 7. – С. 11-12.
5. Сергеев В.А. Вирусные вакцины / В.А.Сергеев. – К.: Урожай, 1993.- С. 104-107, 274-280.
6. Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник / За заг. ред. П.І. Вербицького, А.М. Головка. – К.: Реферат, 2004.– С. 70-75, 136-142.
7. Briggs D.J. Antibody response of patient after postexposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell or purified Vero cell rabies vaccine / D.J. Briggs // Bulletin of the World Health Organization. – V. 78. – 2000. – P. 693-698.
8. Cliquet F. et.all. Genetic strain modification of live rabies virus vaccine widely used in Europe for wildlife oral vaccination / F. Cliquet, E. Robardet, E.Picard Meyer // Antiviral Res. – Oct; 100 (1) – 2013. – P. 84-89.
9. Faber M. Immunogenicity and safety of recombinant rabies viruses used for oral vaccination of stray dogs and wildlife / M.Faber, B. Dietzschold, J.Li // Zoonoses Public Health.- 2009.- Aug; 56 (6-7).– P. 262-269.
10. Genetic characterization of attenuated SAD rabies virus strains used for oral vaccination of wildlife / L. Geue, S.Schaes, C.Schnic et al. // Vaccin. – Jun 19; 26(26). – 2008. – P. 3227-3235.
11. Indirect oral immunization of captive vampires, *Desmodus rotundus* / M.F.Almedia, L.F.Martorelli, C.C.Aires et. al. // Virus. Res. – Jul; 111(1). – 2005. – P. 77-82.
12. Large-scale eradication of rabies using recombinant vaccine-rabies vaccine / B.Brochier, M.P.Kieny, F.Costy et al. // Nature. – Dec 19-26; 354 (6354). – 1991. – P. 520-522.
13. One-time intradermal DNA vaccination in ear pinnae in year prior to infection protects dogs against rabies virus // D.L. Lodmell, L.C. Ewalt, M.J. Parnell, C.E. Ruppercht, C.A. Hanlon // Vaccine. – Jan. 23; 24 (4). – 2006. – P. 412-416.

14. Oral immunization of raccoons and skunks with a canine adenovirus recombinant rabies vaccine / H.Henderson, F.Jackson, K.Bean et al. // Vaccine. – Nov. 27; 27(51). – 2009. – P. 7194-7197.
15. Oral vaccination of dogs (Canis familiaris) with baits containing the recombinant rabies-canine adenovirus type-2 vaccine confers long-lasting immunity against rabies / S. Zhang, Y. Liu, A.R. Fooks et al. // Vaccine. – Jan 17; 26(3). – 2008. – P. 345-350.
16. Pastoret P.P. Development of a recombinant vaccinia-rabies vaccine for oral vaccination of foxes against rabies / P.P.Pastoret, B. Brochier // Dev. Biol. Stand. – 79. – 1992. – P. 105-111.
17. Vaccines / Eds. S.A.Plotkin, W.A.Orenstein, P.A.Offit. – 5th ed. – Saunders Elsevier, 2008. – P. 334-385.
18. <http://www.medical-enc.ru>
19. <http://www.who.int>

АНТИРАБІЧНІ ВАКЦИНИ: РЕТРОСПЕКТИВНИЙ ОГЛЯД

Гарагуля Г.І., к. вет. наук, доц., Матковська С.Г., к. вет. наук, доц.,

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Гаркава В.В., ст. викл.,

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

Анотація. В статті проаналізовано напрями розробки та удосконалення антирабічних вакцин. Описано групи вакцин в залежності від методів їх отримання, подано коротку характеристику властивостей живих, інактивованих, рекомбінантних та пероральних препаратів для профілактики сказу у тварин.

Ключеві слова: антирабічні вакцини, види, історія.

ANTIRABIC VACCINES: RETROSPECTIVE REVIEW

Garagulya G.I., candidate of veterinary science, reader, Matkovska S.G., candidate of veterinary science, reader

Kharkiv state zooveterinary academy, Kharkiv

Garkavaya V.V., senior teacher,

Sumy national agricultural university, Sumy

Summary. The trends of the development and improvement of antirabic vaccines have been analyzed in the article. The groups of vaccines have been described depending on the methods of their production, short characteristics of the live, inactivated, recombinant and peroral vaccines to prevent rabies in animals have been given.

Key words: antirabic vaccine, kinds, history.

УДК: 619:616.98-036.22:579.887.111:579.842.14:636.5(477)

**ПОШИРЕННЯ БАКТЕРІОЗІВ ПТИЦІ В ПТАХОГОСПОДАРСТВАХ  
УКРАЇНИ**

Глєбова К.В., к. вет.н., katerinaglebova25@gmail.com

Обуховська О.В., к.вет.н., с.н.с.

Майборода О.В., аспірант

Петренчук Е.П., к. вет. н, с.н.с.

Бобровицька І. А., м. н. с.

Близнецова Г.О., лаборант

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини, м. Харків

**Анотація.** Представлені дані епізоотологічного моніторингу щодо респіраторного мікоплазмозу та сальмонельозу в птахогосподарствах України. Встановлено, що виявлена кількість серопозитивної птиці відносно *Mycoplasma gallisepticum*, що була виявлена в СКРА, складала 27,7 %, *Salmonella Enteritidis* 13,3%, *Salmonella Typhimurium* 29,1% від загальної кількості.

**Ключові слова:** *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, продукція птахівництва, сироватка крові птиці.