

УДК 619:616.9:579.852.11:615.371:001.53

Г. А. ЗАВІРЮХА, кандидат сільськогосподарських наук

В. В. СЛУПСЬКА, К. В. ЯВОРСЬКА

ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», м. Київ

## ПРОТИСИБІРКОВІ ВАКЦИНИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ УДОСКОНАЛЕННЯ

*У статті представлені дані про протисибіркові вакцини, які використовуються в різних країнах в сучасних умовах. Наведені перспективи удосконалення вакцин, які застосовуються для боротьби з цим захворюванням у людей і тварин.*

*Ключові слова: сибірка, вакцина, штам, щеплення.*

**Сибірка** (Anthrax) – гостра зооантропоозна інфекційна хвороба багатьох видів диких і свійських тварин, а також людини, яка характеризується септицемією, лихоманкою, інтоксикацією організму, серозно-геморагічним запаленням внутрішніх органів і підшкірної сполучної тканин, утворенням карбункулів та набряків.

Захворювання відоме з найдавніших часів під різними назвами: «Furia internalis», «священний вогонь», «перський вогонь», «чорна отрута», «змійний постріл», «вогневий веред», «злякисні пустули», «антракс», «злякисний карбункул» та інші.

Збудник сибірки – *Bacillus anthracis* – це аеробна нерухома спороутворююча грампозитивна паличка, яка в макроорганізмі хазяїна утворює капсулу. Капсула забезпечує захист мікроба від бактерицидної дії сироватки, фагоцитозу, а також фіксацію його на клітинах тканин.

Спори утворюються в нейтральному або слабколужному середовищі при температурі 12-42 °С, за наявності кисню недостатньої кількості поживних речовин у середовищі. На утворення спор потрібно не менше 8 год. за оптимальних умов [10, 16].

*Bacillus anthracis* виділяє складний екзотоксин. Він складається з трьох компонентів: едематогенний фактор – EF, протективний антиген – PA та летальний фактор – LF, або, відповідно, фактори I, II, III. Їх продукують безкапсульні та капсульні штами мікроорганізмів [11].

Генетичний апарат сибіркового мікроба складається з хромосоми і двох плазмід (pXO1 і pXO2) – позахромосомних елементів, відкритих на початку 80-х рр. і дуже важливих для прояву вірулентності та імуногенності. Плазміда pXO1 містить три гени екзотоксину – pag, lef і суа. Перший з них кодує синтез протективного антигену, другий – летального фактора, третій – набрякового фактора. У pXO1 є також гени регуляторів синтезу цих продуктів. Плазміда pXO2 містить найбільш важливі гени, які визначають синтез капсули. На сьогоднішній день повністю розшифрована нуклеотидна послідовність першої плазмиди та значна частина другої. Завдяки цьому істотно розширилися можливості генетичних маніпуляцій з бацилою.

Збудник *Bacillus anthracis* виявився одним з найбільш однорідних мікроорганізмів за складом генетичного апарату, що багато в чому пов'язано зі здатністю бацили утворювати спори. Відмінності між штамми зводяться до наявності або відсутності плазмід або варіабельності їх структури [13].

Вагомий внесок у вивчення сибірки, розробку засобів профілактики та боротьби з цим небезпечним захворюванням зробили С.С. Андрієвський, Л. Пастер, Л. С. Ценковський, С. Г. Колесов, А. І. Завірюха та інші [14, 11, 4].

Світовий досвід останніх років засвідчує, що це захворювання є не лише ветеринарною проблемою, а й медичною, економічною, політичною, військовою, тому що високовірулентні штами збудника сибірки можуть бути використані як біологічна зброя [5, 16].

Ситуація щодо захворювання на сибірку в Україні є досить складною, оскільки пов'язана з наявністю старих неблагополучних захоронень тварин, що створює постійну потенційну загрозу появи хвороби серед тварин і людей [10].

За даними офіційної статистики Державного департаменту ветеринарної медицини в Україні взято на облік близько 10 тис. населених пунктів, які є неблагополучними щодо сибірки, та біля 6 тис. місць захоронення сибіркових трупів (грунтови вогнища) протягом 1996-2000 рр.

У період з 1996 до 2000 рр. згідно з показниками річних звітів захворювання тварин на сибірку було зареєстровано в 78 населених пунктах України. Переважна більшість таких пунктів (61,55 %) розташована на території семи областей (Київська – 8, Вінницька – 8, Луганська – 8, Донецька – 5, Хмельницька – 5, Одеська – 5, Черкаська – 10). А в АР Крим, Житомирській та Сумській областях не виявлено захворювань на сибірку. В інших 15 областях тварини хворіли в 1-4 населених пунктах.

У цілому в Україні захворіло 192 голови сільськогосподарських тварин. Спалахи сибірки в окремих областях України характеризувались значною кількістю уражених тварин. Наприклад, в Одеській області в 2000 р. лише в одному населеному пункті захворіло 48 голів великої рогатої худоби.

Аналіз вікового складу ВРХ підтвердив, що 70-80 % захворілих на сибірку тварин складає молодняк, в середньому віком 4-12 місяців. Переважно це тварини, яким на день проведення щеплення проти сибірки ще не виповнилось трьох місяців.

Свині є менш сприйнятливими до сибірки, ніж велика рогата худоба. До 1990 року із загальної кількості продуктивних тварин в Україні на цей вид припадало близько 8 %.

Сибірку дрібної рогатої худоби зареєстровано лише в одному пункті (Одеська область). По кількості захворілих на сибірку тварин цього виду в попередні роки припадало 16,3 %. Різкому зменшенню захворюваності сприяло знищення у господарствах України дрібної рогатої худоби внаслідок труднощів, пов'язаних з енергетичною кризою.

Кількість коней, які захворіли на сибірку, становила близько 5 % із загальної кількості продуктивних хворих на антракс тварин в Україні до 1990 року (більше 2,6 тис.). За останні роки їх чисельність, особливо в приватному секторі держави, збільшилась в десятки разів, але з 1996 до 2000 рр. на сибірку захворіла лише одна тварина (Рівненська область). Зменшення захворюваності на сибірку серед коней при одночасному збільшенні поголів'я можна пояснити ретельністю

виконаних профілактичних щеплень дуже важливого в економіці приватних господарств виду тварин.

Переважає більшість тварин на сибірку хворіє у весняно-літній період. Із загальної кількості (192 гол.) захворілих сибіркою тварин 100 (55 %) були уражені саме у весняно-літній період року. В зимові місяці вищевказана хвороба була зареєстрована у Вінницькій, Запорізькій, Одеській та Луганській областях.

В осінній сезон на сибірку захворіло 28 голів, що складає 15 % від всього поголів'я враженого сибіркою в цілому за 1996-2000.

Отже, в комплексі протисибіркових заходів, профілактичні щеплення необхідно здійснювати весною, на початку пасовищного періоду (квітень), що пов'язано з особливостями екології збудника цієї небезпечної хвороби [8].

У 2012 році було відмічено 3 спалахи сибірки: у Черкаській області (2 спалахи) та в Запорізькій області (1 спалах). Захворювання виникло в осередках, що належать до стаціонарно неблагополучної щодо сибірки території. Головною причиною даного факту є нехтування імунізацією сприйнятливою до сибірки поголів'я [18].

У більшості випадків люди заражаються сибіркою при контакті з продуктами забою вимушено забитих хворих тварин. Проте відомі випадки захворювання людей при контакті з ґрунтом, який заражений спорами сибірки, та при проведенні робіт на самочинно розораних скотомогильниках [5].

У 1984-2001 рр. в Україні зареєстровано 105 випадків захворювання сибіркою людей, з яких 5 померло [7].

Захворюваність людей на сибірку значно зменшилась, останні значні підйоми захворюваності спостерігали у 1994 році (28 хворих), 1995 р. (8 випадків), 1999 р. (14 випадків), 2001 р. (9 випадків). Останній за десятиріччя випадок був зафіксований у 2008 р. Проведений аналіз захворюваності на вищевказане захворювання показав, що збудник поширений у всіх регіонах країни (так, у 1999 р. хворих виявлено у Вінницькій, Херсонській і Черкаській областях; у 2000 р. – у Рівненській та Черкаській; у 2001 р. – у Запорізькій, Рівненській і Київській; у 2003 р. – у Харківській; у 2004 р. – у Чернівецькій; у 2008 р. – у Миколаївській області) [1].

Враховуючи вищевказане, виготовлення і удосконалення протисибіркових вакцин, які використовуються для профілактичних щеплень тварин, є актуальним питанням.

**Метою роботи** було провести моніторинг протисибіркових вакцин, які застосовуються для профілактики сибірки, а також визначити перспективи їх удосконалення.

**Матеріали та методи дослідження.** Проводили теоретичний аналіз сучасних протисибіркових вакцин («Вакцина против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ живая сухая», «Вакцина живая против сибирской язвы из штамма СТИ», «Вакцина Антравак-55 против сибирской язвы животных живая жидкая», Anthrax Vaccine Adsorbed (AVA), експериментальна вакцина «Антравак», вакцина абацільярна «Антракол», «Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» концентрована», «Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму К-79Z», ДНК-вакцини) та визначали перспективи удосконалення «Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму К-79Z», ДНК-вакцин.

**Результати досліджень.** Боротьбу з сибіркою здійснюють шляхом поголовної імунізації тварин живими споровими вакцинами, які виготовлені із спеціально відселекційованих вакцинних штамів збудника сибірки, що мають незначну залишкову вірулентність. При парентеральному введенні мікробів вакцинних штамів вони викликають загибель лабораторних тварин (білих мишей) і не спричиняють захворювання у кролів, мурчаків та сільськогосподарських тварин [6].

Вакцинні штами збудника сибірки продукують екзотоксин, в складі метаболітів *Bacillus anthracis* переважає протективна фракція. Здатність вакцинного штаму продукувати екзотоксин *in vitro* залежить від багатьох факторів: генетичних задатків мікроорганізму, складу поживного середовища (його рН), терміну культивування, температури вирощування тощо.

На спеціальних поживних середовищах відселекційовані вакцинні штами продукують у декілька разів більше токсину, ніж польові чи звичайні вакцинні штами [2, 4].

у Росії протисибіркові вакцини виготовляють із спороутворюючих мікроорганізмів *Bac. anthracis 55 ВНИИВВуМ, СТИ* («Вакцина против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВуМ живая сухая», ФГУП «Орловская биофабрика», Россия; «Вакцина живая против сибирской язвы из штамма СТИ», ООО «Агровет», Россия; «Вакцина Антравак-55 против сибирской язвы животных живая жидкая», ОАО «Покровский завод биопрепаратов», Россия).

Вищезазначені штами і вакцини, виготовлені з них, володіють значною залишковою вірулентністю і після щеплення можуть спричинити захворювання на сибірку в ослаблених тварин [6].

За кордоном застосовується вакцина Anthrax Vaccine Adsorbed (AVA), торгова марка – Biothrax, виробник – BioPort Corp. AVA є ліцензованою протисибірковою вакциною для людини в США. Вона була розроблена на початку 1950-х років і отримала ліцензію від FDA (Food and Drug Administration, Управління з продовольства і медикаментів) в 1970 році. Ця вакцина виготовляється шляхом адсорбції профільтрованої культуральної надосадової рідини штаму V770-NP1-R в гідроксиді алюмінія (Alhydrogel) в якості ад'юванта. Після проведення досліджень AVA було показано, що Anthrax Vaccine Adsorbed на 92,5% ефективна для захисту від сибірки у випадку захворювання на шкірну та легеневу форми вищезгаданого захворювання [19].

В Україні протисибіркові вакцини виготовляються державними біофабриками. Херсонське державне підприємство-біологічна фабрика виготовляє експериментальну вакцину «Антравак» проти сибірки сільськогосподарських тварин [16].

Одним з перспективних напрямків вакцинопрофілактики та боротьби з сибіркою тварин є застосування вакцин абацитарного типу. Новою розробкою в цьому напрямку є вакцина абацитарна «Антракол», виготовлена з продуктів життєдіяльності мікробів роду *Bacillus* та стимулятора імунітету – автор академік НААНУ Завірюха А. І.

Вакциною «Антракол» щеплюють тварин, яких заборонено імунізувати живою споровою протисибірковою вакциною (молодняк до 3-х міс. віку, виснажені, такі, що експлуатуються в умовах важкої роботи тощо). Вакцину застосовують також для лікування тварин з клінічними ознаками сибірки та тих, які є латентнохворими.

Вакцину вводять внутрішньошкірно в безшерстних ділянках тіла (підхвостова складка, надвименне дзеркало, внутрішня сторона стегна тощо) або в середній третині шиї з дотриманням правил асептики і антисептики.

Імунітет починає формуватись через 2-4 години після ін'єкції і триває 2,5-6 місяців [3].

В останні роки в Україні проводиться випробовування дослідних серій вакцин зі штаму Sterne 34 F2 з наночастинками золота та без наночастинок золота на білих мишах, розробники – Ушкалов В. О., Мачуський О. В., Романько М. Є.

У роботі були використані біобезпечні частинки нанозолота розміром  $30,4 \pm 0,5$  нм з концентрацією  $19 \pm 2,0$  мкг/мл. За результатами досліджень встановлено, що виготовлені препарати є нешкідливими, імуногенними та відповідають міжнародним вимогам. Отримані результати дають підстави для проведення в подальшому масштабних польових випробувань виготовлених препаратів на цільових видах тварин [17].

Сумська і Херсонська державні біофабрики вже протягом десяти років забезпечують тваринництво України живими споровими вакцинами проти сибірки («Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» концентрована», Сумська державна біофабрика, м. Суми; «Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму К-79Z», автором якої є академік НААНУ Завірюха А. І., Херсонська державна біофабрика, м. Херсон) для забезпечення стійкого благополуччя відносно цієї інфекції.

Згідно з нормативною документацією концентрація живих спор у готовому препараті «Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму К-79Z» становить 20-25 млн. в  $1 \text{ см}^3$ , а дози введення знаходяться в межах від 0,5 до  $2 \text{ см}^3$ . За умови щорічного поголового щеплення всіх видів сільськогосподарських тварин і хутрових звірів обсяги виробництва препаратів сягають величини десятків тонн на рік. Великі обсяги виробництва передбачають відповідні об'єми фасування, транспортування й зберігання. Крім зазначених матеріальних і енергетичних витрат, можна назвати також закупівлю та відповідну обробку скляних флаконів і значні об'єми стабілізуючої речовини гліцерину.

Останнім часом погляд науковців спрямований на розробку концентрованих спорових вакцин проти сибірки.

Особливості виготовлення вакцин на біофабриках дають змогу скоротити витрати, оскільки на етапі накопичення живих спор їхня концентрація становить у десятки, а то й в сотні раз і в більшу величину, ніж є у готовому препараті. Тому одержаний концентрат спорової суспензії перед фасуванням розводять розчином гліцерину з масовою часткою його у кінцевому продукті 27-33%. Маючи більш концентровану вакцину, можна застосовувати й менші дози для введення за допомогою внутрішньо шкірного ін'єктора.

Розробкою подібної форми препарату протягом останніх років займається і Сумська державна біофабрика, а в 2006 р. були затверджені й технічні умови ТУУ 24.4-00483004-004:2006 на «Вакцину живу спорову проти сибірки тварин із штаму «СБ» концентровану». Вміст спор в ній вище, ніж у звичайній вакцині у п'ять разів і становить 100-125 млн. у  $1 \text{ см}^3$ .

Як зазначає Дзюба В. М., впровадження концентрованої вакцини проти сибірки дасть змогу скоротити витрати на пакування, транспортування й зберігання препарату, а також зменшить трудомісткість робіт при щепленні тварин [2].

До середини 1990-х рр. сформувався ще один напрям профілактики захворювань на сибірку – ДНК-вакцинація. Цей принципово новий підхід заснований

на здатності нуклеїнових кислот існувати кілька тижнів і навіть місяців в цитоплазмі клітин організму-господаря, не вбудовуючись в його геном, але підтримуючи синтез закодованих в них білків. Отже, якщо в профілактичних цілях імунізувати людину, наприклад, фрагментом гена *rag*, то в його клітинах буде синтезуватися протективний антиген, до складу якого входить епітоп, який і викличе імунну відповідь. З ДНК-вакцинацією, яка розвивається величезними темпами, пов'язують надії на профілактику і лікування багатьох захворювань, у тому числі й особливо небезпечних інфекцій. Сьогодні експериментально підтверджена її ефективність у створенні повноцінного імунітету не тільки до вірусів гепатиту, грипу та ін, а й до збудників сальмонельозу, туберкульозу, а також сибірки. Деякі ДНК-вакцини вже проходять клінічні випробування. Все це дозволяє стверджувати, що одним з головних напрямків розвитку медицини XXI в. стане ДНК-вакцинація.

Фахівці різного профілю продовжують пошук по створенню безпечних і високоімунних вакцин. Мабуть, вже в найближчі роки стане ясно, який з напрямів, що розвиваються, дасть кращі результати і дозволить запобігти епізоотії та розповсюдженню сибірки серед людей [13].

Масова вакцинація тварин значно знизила захворюваність на сибірку, але все ж таки повною мірою не усунула загрозу нових спалахів цієї інфекції, потенційна можливість якої існує постійно.

Не дивлячись на багаторічну історію вивчення сибірки величезну кількість наукових праць, присвячених проблемі вищевказаного захворювання, антракс продовжує знаходитися в центрі уваги дослідників різних професій. Це пов'язано як з соціально-економічними наслідками захворювання на сибірку, так і з недостатнім вивченням різних аспектів цього біологічного феномену [14].

### **Висновки:**

1. Виготовлення протисибіркових вакцин є актуальним питанням на сьогоднішній день, тому що в Україні наявні старі неблагополучні заборонення тварин, що створює постійну потенційну загрозу появи хвороби серед тварин і людей.

2. Вакцини, які застосовуються для боротьби із сибіркою людей і тварин, виготовляють в Україні, Росії, США, що сприяє створенню благополучної ситуації щодо сибірки в даних країнах.

3. Перспективи удосконалення протисибіркових вакцин полягають у впровадженні концентрованої вакцини проти сибірки у виробництво, використання ДНК-вакцин, пошуку нових штамів і створення нових вакцин.

### **Список використаної літератури**

1. Гриневиц О. Й. Роль моніторингу за інфекціями, спільними для людей і тварин, у забезпеченні біобезпеки населення України // Укр. мед. часопис / О. Й. Гриневиц, І. Г. Маркович, І. Ф. Маркович. – К., 2012. – № 5 (91). – С. 111-114.

2. Дзюба В.М. Результати випробування концентрованої вакцини проти сибірки тварин / В.М. Дзюба, Т.Ф. Кисельова, З.І. Поборська та ін. / Вет. біотехнологія: Бюл. / УААН. Ін-т вет. медицини. – К.: Аграрна наука, 2006. – № 9. – С. 65.

3. Завірюха А. І. Настанова по застосуванню вакцини абацилярної «Антракол» проти сибірки тварин / А. І. Завірюха. – К., 2002. – 3 с.

4. Завірюха А. И. Получение и некоторые свойства экзотоксина возбудителя сибирской язвы / А. И. Завірюха, А. Н. Харчук, Б. Л. Троценко и др. / Научн. основы технологи промышленности производ. ветерин. биологич. препаратов. – Владимир. – 1978. – С. 64-65.

5. Завірюха Г. А. Відбір вакцинних штамів збудника сибірки: методичні рекомендації / Г. А. Завірюха, А. І. Завірюха, В. М. Бобильов та ін. – К.:МВЦ «Медінформ», 2011. – 12 с.

6. Завірюха Г. А. Порівняльна оцінка культурально-морфологічних властивостей вакцинних штамів *Bac. anthracis K-79Z* та *Bac. anthracis СБ*, що використовуються для виготовлення живих спорових вакцин проти сибірки тварин біофабриками України / Г. А. Завірюха, Т. Б. Васильєва, М. М. Панько / *Вет. біотехнологія: Бюл. / УААН. Ін-т вет. медицини.* – К.: Дорадо-Друк, 2008. – № 12. – С. 63-67.

7. Завірюха Г. А. Розробка нової технології виготовлення антигену сибіркового стандартного // Автореф. дис. канд. с.-г. наук: 03.00.20. – Біла Церква, 2002. – 18 с.

8. Калашник О. М. Вплив сибіркового антигену на імунну систему молодняка великої рогатої худоби // Автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.03. – Х., 2002. – 18 с.

9. Каришева А. Ф. Спеціальна епізоотологія: Підручник. – К.: Вища освіта, 2002. – С. 13.

10. Козловська Г. В. Епізоотологія з мікробіологією: Підручник / Г. В. Козловська, Л. Є. Корнієнко, М. Г. Наконечна та ін.; За ред. В. П. Постоя. – К.: Вища освіта, 2006. – С. 165.

11. Колесов С. Г. Иммунитет. Сибирская язва / С. Г. Колесов, Г. В. Дунаев, Г. И. Романов. – М.: Колос, 1976. – С. 177-197.

12. Метьолькін А. І. Ценковский Л. С. Основоположник вітчизняної школи мікробіологів. – М.: 1950.

13. Пименов Е. В. Создание вакцин против сибирской язвы / Е. В. Пименов, В. В. Кожухов, Ю. И. Строчков // *Природа.* – 2000. – № 10. – С. 5-12.

14. Пугач Н. Б. Історичні та медико-соціальні аспекти становлення і розвитку вчення про сибірку // Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.02.04. – Харків, 2008. – 25 с.

15. Радчук Н. А. Ветеринарная микробиология и иммунология / Н. А. Радчук, Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев и др.; Под ред. Н. А. Радчука. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 246.

16. Рубленко І. О. Експериментальне дослідження вакцини «Антравак» проти сибірки сільськогосподарських тварин // *Науковий вісник ветеринарної медицини* / І. О. Рубленко. – Біла Церква, 2012. – Вип. 10 (99). – С. 83-86.

17. Ушкалов В. О. Результати комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis Sterne 34 F2* // *Науковий вісник ветеринарної медицини* / В. О. Ушкалов, О. В. Мачуський, М. Є. Романько та ін. – Біла Церква, 2011. – Вип. 7 (83). – С. 102-109.

18. Яненко У. М. Аналіз епізоотичної ситуації щодо сибірки в Україні за 2010-2012 роки / У. М. Яненко, Н. В. Гудзь, Н. І. Кос'янчук та ін. / *Вет. біотехнологія: Бюл. / УААН. Ін-т вет. медицини.* – К., 2013. – Вип. 23. – С. 276-277.

19. Brey R. N. Molecular basis for improved anthrax vaccines / R. N. Brey // *Advanced drug delivery reviews.* – 2005. – Jun 17; 57(9). – P. 1266-92. [PubMed: 15935874].

**ПРОТИВОСИБИРЕЯЗВЕННЫЕ ВАКЦИНЫ И ПЕРСПЕКТИВЫХ  
УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ / А. А. Завирюха, В. В. Слупская, К. В. Яворская**

*В статье представлены данные о противосибиреязвенных вакцинах, которые используются в разных странах в современных условиях. Приведены перспективы совершенствования вакцин, которые применяются для борьбы с этим заболеванием у людей и животных.*

*Ключевые слова: сибирская язва, вакцина, штамм, вакцинация.*

**VACCINES AGAINST ANTHRAX ANIMALS AND PROSPECTS OF  
THEIR IMPROVENT /A. Zaviriuha, V. Slupskaya, K. Yavorskaya**

*This paper presents data on vaccines against anthrax used in different countries in modern conditions. These prospects improving vaccines used to combat this disease in humans and animals.*

*Keywords: anthrax, vaccine, strain, vaccination.*

**Рецензент** – кандидат ветеринарных наук **О. Є. Айшпур**

Рукопис надійшов 20.02.2014 року.



