

УДК 619:616.98:636.028.083:612.017

А. П. НІКІТОВА, аспірант*

В. В. НЕДОССКОВ, доктор ветеринарних наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

М. Ю. ІВАНОВ, кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

І. М. ПОЛУПАН, кандидат ветеринарних наук

С. А. НИЧИК, доктор ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини, м. Київ

НАПРУЖЕНІСТЬ АНТИРАБІЧНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПРИРОДНИХ УМОВ УТРИМАННЯ ТВАРИН

У статті представлені результати моделювання несприятливих умов утримання тварин та вивчено їх вплив на формування антирабічного імунітету. Встановлено знижений ступінь протективної активності антирабічних вакцин при імунізації морських свинок за несприятливих умов утримання. Отримані результати вказують на доцільність врахування якості умов утримання тварин при проведенні профілактичних щеплень проти сказу, а також при визначенні протективної активності антирабічних вакцин.

Ключові слова: несприятливі умови утримання, антирабічна вакцина, антирабічні антитіла, морські свинки, мінімальний захисний рівень.

Сказ – особливо небезпечна зоонозна інфекція, яка має велике як соціальне, так і економічне значення. Відповідно до оцінки ВООЗ, сказ належить до п'ятірки найнебезпечніших хвороб, спільних для людини і тварин, що завдають значних соціально-економічних збитків. Згідно даних комітету експертів ВООЗ по сказу, в світі щорічно гине до 55 тис. людей після укусів їх хворими на сказ тваринами [8]. Більшість цих фатальних випадків припадає на країни Африки та Азії, але загибель людей від сказу щорічно реєструється і в Україні [1].

Аналіз останніх досліджень. Зважаючи на те, що Україна є стаціонарно неблагополучною зі сказу, оздоровлення її території від цієї хвороби залишається актуальною проблемою. Однією з причин неблагополучної ситуації зі сказу є недоліки при організації основного заходу контролю цього захворювання – специфічної профілактики, а саме: відсутність 100 %-го охоплення вакцинацією собак, в зонах стійкого неблагополуччя – котів, а при спалахах захворювання – сільськогосподарських тварин; низький рівень співробітництва з органами житлового управління при організації виводок тварин для проведення щеплень; неконтрольований стан популяції безпритульних собак. Крім того, на напруженість епізоотичної ситуації зі сказу може впливати видозміна ізолятів цього збудника (наявність на території України різних генетичних кластерів ізолятів вірусу сказу) та вплив стресових факторів на напруженість антирабічного імунітету [2, 4, 5, 9].

Низький рівень популяційного імунітету та значний антропогенний прояв сказу в Україні, обумовлює необхідність оцінки напруженості антирабічного імунітету (як клітинної, так і гуморальної ланок) після парентеральної імунізації тварин.

Крім цього, вітчизняними і зарубіжними дослідниками показано, що стресові фактори негативно впливають на імунний статус організму, чим знижують ефективність вакцинації проти різних інфекційних хвороб [6, 7].

Однак, до цих пір не вивчений вплив різних несприятливих факторів утримання (висока чи низька температура зовнішнього середовища, токсини, нездовільна годівля, хронічні інфекційні, інвазійні та незаразні хвороби, імунодефіцити, пухлини, травми тощо) на формування антирабічного імунітету у тварин.

Мета досліджень. Обґрунтування необхідності моделювання природних умов утримання тварин при визначенні протективної активності парентеральних антирабічних вакцин.

Матеріали і методи. Для проведення мета-аналізу використовували експертизи лабораторних досліджень, звіти обласних управлінь ветеринарної медицини, Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи, Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, результати власних епізоотологічних обстежень неблагополучних на сказ територій.

Для виявлення захворювання на сказ тварин, які були вакциновані парентеральними антирабічними вакцинами, проводили аналіз супровідних листів до патологічних матеріалів від домашніх та сільськогосподарських тварин зі складу колекції вуличних ізолятів вірусу сказу лабораторії сказу Інституту ветеринарної медицини НААН.

Вивчення динаміки утворення специфічних антирабічних антитіл проводили на 16 безпородних морських свинках, віком 6–8 місяців, масою тіла 600–700 г. Усіх тварин розділили на 3 дослідні групи та 1 контрольну (по чотири тварини у кожній).

Після формування груп, морських свинок вакцинували антирабічною вакциною «Рабістар» (виробник Укрветпромпостач), шляхом внутрішньом'язового введення в заднє праве стегно тварини, у дозі 0,25 см³.

Упродовж 27 діб після вакцинації, три дослідні групи тварин знаходились в умовах негативних факторів впливу: перша – вплив зниженої температури (12 ± 2 °C), друга – вплив підвищеної температури (32 ± 2 °C), третя – аліментарний стрес, згідно методики [6]. Контрольна група тварин знаходилась в комфортних умовах утримання (температура приміщення 22 ± 2 °C, достатня кількість корму та води).

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 настанови 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 досліджень. Основним критерієм оцінки специфічного антирабічного поствакцинального імунного статусу є визначення рівня віруснейтралізуючих антитіл.

За даними Гришок Л.П. та ін. (2007) тільки 38–43 % домашніх тварин, вакцинованих парентеральними антирабічними вакцинами, мали специфічні

антитіла в протективному титрі[2]. Ці дані свідчать про недостатній рівень популяційного імунітету у собак і котів та високий ризик виникнення сказу в цих популяціях тварин.

До цього необхідно додати наукові результати, отримані співробітниками лабораторії сказу ІВМ НААН в умовах неконтрольованого експерименту із рандомізованою вибіркою сироваток крові тварин для дослідження, які свідчать про 35,9 %-й популяційний рівень захисту домашніх тварин в м. Києві після парентеральної імунізації[3]. Отримані результати демонструють перманентно низький рівень захисту 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.

При аналізі епізоотологічної характеристики патологічних матеріалів (769 зразків), які надійшли до лабораторії сказу ІВМ НААН з Державних обласних лабораторій ветеринарної медицини та були визнані позитивними на сказ, виявлено 31 випадок (13 собак, 12 котів, 2 ДРХ, 4 ВРХ) захворювання тварин після отримання антирабічної вакцинації. При чому у 20 випадках (65 %) тварини отримували профілактичні щеплення за 4–14 місяців до контакту з хворою твариною, що, теоретично, мало захистити тварин від зараження вірусом сказу. Контроль імуногенної активності використаних для вакцинації цих тварин серій вакцин, який здійснює в Україні Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, не допускає сумнівів стосовно їх активності (не менше 1 МО/доза).

Зважаючи на це, логічним буде припущення, що однією з можливих причин невдалого щеплення є зниження імунного статусу у тварин, як наслідок негативного впливу факторів навколишнього середовища (стрес-факторів). В практичних умовах стрес-фактори можуть мати походження різного характеру: фізичного, радіоактивного, інфекційного тощо. Однак всі вони викликають «негативні» зміни в організмі, які характеризуються порушенням гомеостазу, змінами показників крові, зниженням резистентності організму тощо. Можливо, саме дія одного або декількох таких факторів негативно вплинула на формування антирабічного імунітету після вакцинації тварин та стала причиною виникнення у них захворювання на сказ.

Вищенаведене піднімає питання ефективності антирабічних вакцин та рівня індукції специфічних антирабічних антитіл за несприятливих умов утримання тварин, адже мета профілактичної імунізації – забезпечити благополуччя будь-якої популяції домашніх тварин щодо сказу, що визначається рівнем імунного захисту кожного індивіду, який виражається в титрі специфічних антирабічних антитіл в сироватках крові вакцинованих тварин. Згідно вимог МЕБ та ВООЗ рівень антирабічних антитіл повинен бути не нижчим 0,5 міжнародних одиниць (МО/см³), що є єдиним критерієм оцінки захищеності тварин від інфікування вірусом сказу.

Тому нами було досліджено 96 зразків сироваток крові від морських свинок, які піддавались температурному та аліментарному стресовому впливу. Результати дослідження наведені у вигляді рисунка.

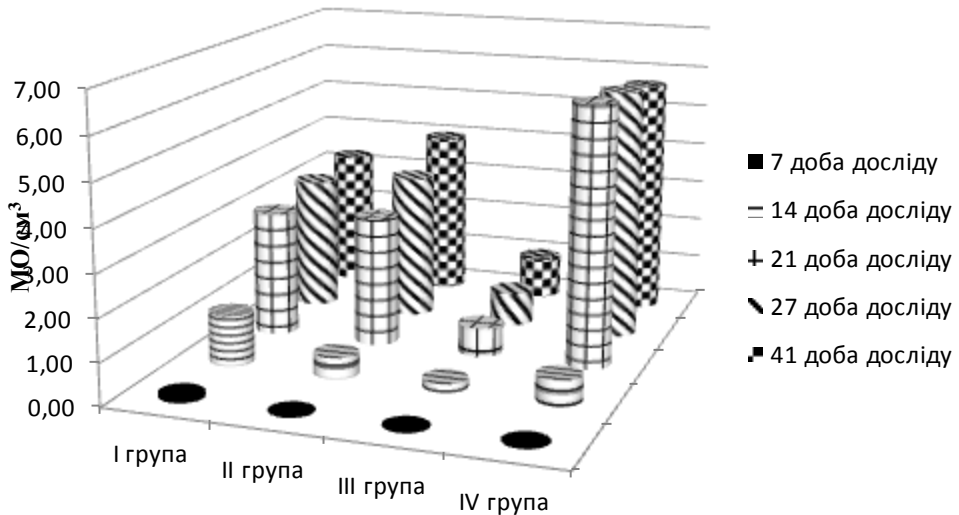


Рис. Рівень антирабічних антитіл у сироватках крові морських свинок після вакцинації, MO/cm^3 ($M \pm m$, $n=4$).

У результаті проведених досліджень встановлено, що на 7-у добу після імунізації в сироватках крові морських свинок усіх дослідних груп спостерігалась індукція антирабічних антитіл: (I – $0,1 \pm 0,05$; II – $\leq 0,04$; III – $\leq 0,04$ та IV – $\leq 0,04$ MO/cm^3).

На 14 добу досліді, у тварин I, II та IV груп титр специфічних антирабічних антитіл набув захисного рівня (більше $0,5$ MO/cm^3). Статистично достовірно встановлено, що при утриманні тварин за температури 12 ± 2 $^{\circ}\text{C}$ (I група), індукція антирабічних антитіл відбувалась у вищих титрах ніж у тварин контрольної групи ($1,2 \pm 0,07$ та $0,6 \pm 0,09$ MO/cm^3 відповідно). Однак, у тварин III групи рівень антирабічних антитіл знаходився на рівні $0,2 \pm 0,12$ MO/cm^3 , що суттєво менше мінімального захисного рівня.

Результати, наведені на рисунку, свідчать, що на 21-у добу після інюкаляції вакцини спостерігалось підвищення титру антирабічних антитіл у тварин усіх дослідних груп та контрольної. Проте їх рівень різко відрізнявся. Так, в сироватках крові тварин I групи титр антирабічних антитіл становив $3,0 \pm 0,70$ MO/cm^3 , 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 до $3,1 \pm 1,12$ MO/cm^3 , що на 520 % більше порівняно з показником на 14 добу досліді. У тварин III групи титр антитіл набув протективного рівня ($0,7 \pm 0,19$), однак він був статистично достовірно нижчим за показник контрольної групи на 786 %.

Як видно із отриманих результатів дослідження, на 27 добу досліді титр антитіл тварин всіх дослідних груп знаходився на тому ж рівні що й на 21 добу.

Одержані результати вказують на те, що максимальна антирабічна активність сироваток крові морських свинок припадала на 41 добу після імунізації (2 тижні з моменту припинення негативних факторів впливу).

Характеризуючи специфічну імунну відповідь у морських свинок, слід відмітити неоднорідність титрів антирабічних антитіл у сироватках крові дослід-

них груп, що вказує на порушення гомеостазу внаслідок впливу на тварин негативних факторів (високої та низької температур, аліментарного стресу). Так, усі сироватки крові піддослідних тварин, яких імунізували антирабічною вакциною, містили антирабічні антитіла в титрах: I група – $3,3 \pm 0,97$, II група – $4,0 \pm 0,52$ і III група – $1,0 \pm 0,37$ МО/см³, що на 73, 43 та 470 % відповідно менше порівняно з показниками рівня антитіл у сироватці крові тварин контрольної групи.

Враховуючи вищенаведене, вважаємо за необхідне:

1. розробку методики визначення імуногенної активності антирабічних вакцин (на основі методу НІН – основного методу визначення імуногенності інактивованих антирабічних вакцин), яка враховувала б несприятливі умови утримання, що впливають на тварин у природному середовищі, на відміну від лабораторних умов утримання, близьких до ідеальних;

2. проведення гострих дослідів (*in vivo*) з метою комплексної оцінки захищеності вакцинованих тварин, що перебували під впливом стрес-факторів, від зараження референтним штамом вірусу сказу CVS та вуличними ізолятами вірусу сказу.

Отримані результати відповідно запланованих досліджень будуть висвітлені в наступних публікаціях.

Висновки.

1. Встановлено низький популяційний рівень захисту тварин від сказу – тільки 38–43 % вакцинованих тварин мали специфічні антитіла до вірусу сказу в мінімальному протективному титрі ($0,5$ МО/см³).

2. Аналіз випадків захворювання домашніх тварин на сказ, які попередньо отримували щеплення ($n=31$), вказує на відсутність гарантованого захисту від зараження вуличним вірусом сказу, можливо, за рахунок впливу на цих тварин негативних факторів навколишнього середовища.

3. Вакцина «Рабістар» забезпечує утворення антирабічних антитіл у крові морських свинок з титром, не нижчим за проєктивний рівень, вже на 14-у добу досліді та максимальним рівнем на 21-у – $6,2 \pm 0,83$ МО/см³.

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

5. При утриманні тварин за зниженої ($12 \pm 2^{\circ}\text{C}$) та підвищеної ($32 \pm 2^{\circ}\text{C}$) температури спостерігалось утворення антирабічних антитіл, рівень яких на 41 добу становив $3,3 \pm 0,97$ та $4,0 \pm 0,52$ МО/см³ відповідно, що на 73 та 43 % відповідно менше порівняно з показниками контрольної групи тварин.

6. Визначені пріоритетні напрями досліджень, проведення яких дозволить науково обґрунтувати деякі аспекти системи застосування антирабічних вакцин в польових умовах, що дасть змогу забезпечити високий рівень захисту вакцинованих тварин від зараження вірусом сказу.

Список використаної літератури:

1. Антонова Л. А. Случай гидрофобии с удлиненным клиническим течением / Л. А. Антонова, А. В. Моисеева, Н. Ю. Иванов [и др.] // Профилактическая медицина. – 2010. – № 1 (9). – С. 54–57.

2. Гришок Л. П. Проблеми специфічної профілактики сказу домашніх тварин в Україні / Л. П. Гришок, В. В. Недосеков, І. М. Полупан [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2009. – № 7. – С. 11–13.

3. Гришок Л. П. Серологічний моніторинг популяційного імунітету вакцинованих проти сказу тварин та людей / Л. П. Гришок, В. В. Недосеков, О. В. Падалка [та ін.] // Бюлетень ІВМ УААН «Ветеринарна біотехнологія». – 2007. – № 10. – С. 22 – 30.

4. Иванов М. Ю. Епізоотологічна та молекулярно-біологічна характеристика вуличних ізолятів вірусу сказу в Україні: автореф. дис. ... канд. вет. наук : спец. 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія» / М. Ю. Иванов. – Київ, 2011. – 24 с.

5. Недосеков В. В. Оздоровлення території України від сказу – невідкладні завдання науки і практики / В. В. Недосеков, Л. П. Гришок, І. М. Полупан, М. Ю. Иванов // Ветеринарна медицина України. – 2009. – № 2. – С. 12–13.

6. Пьянов В. Д. Моделирование стрессовых ситуаций и влияние их на физиологический статус собак / В. Д. Пьянов, М. С. Галищкая, Е. С. Шутенков // Учёные записки Казанской гос. акад. вет. медицины: Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения Павловского Е. Н. – Казань, 2004. – Т. 179. – С. 265-271.

7. Barbour E. Quantitative assessment of humoral immunosuppression in water deprived semi nomadic sheep / E. Barbour, G. Banat, W. Itani [et al] // Intern. J. Appl. Res. Vet. Med. – 2004. – №. 4. – Vol. 2. – P. 310 – 320.

8. Expert Consultation on Rabies. Technical Report Series 931 // WHO. – 2005. – 121 p.

9. Polupan I. Molecular Epizootiology of Street Rabies Virus Isolates in Ukraine / I. Polupan, N. Ivanov, O. Deryabin, V. Skripnik // Abstracts Book 10-th ASM Bio-defens eand Emerging Diseases Research Meeting. – 2012. – P. 55.

НАПРЯЖЕННОСТЬ АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ ЖИВОТНЫХ / Никитова А. А., Недосеков В. В., Иванов Н. Ю., Полупан И. Н., Нычик С. А.

В статье представлены результаты моделирования неблагоприятных условий содержания животных и изучено их влияние на формирование антирабического иммунитета. Установлено сниженный уровень протективной активности антирабических вакцин при иммунизации морских свинок при неблагоприятных условиях содержания. Полученные результаты указывают на целесообразность учета качества условий содержания животных при проведении профилактических прививок против бешенства, а также при определении протективной активности антирабических вакцин.

Ключевые слова: неблагоприятные условия содержания, антирабическая вакцина, антирабические антитела, морские свинки, минимальный защитный уровень.

THE TENSION OF RABIES IMMUNITY IN MODELING OF NATURAL ANIMAL WELFARE/ Nikitova A., Nedosekov V., Ivanov N., Polupan I., Nychyk S.

The results of simulation of unfavorable animal welfare and their impact on the rabies immunity are presented in the article. The reduced degree of protective activity of rabies vaccine at the immunization of guinea pigs in unfavorable conditions is established. The results obtained indicate the feasibility of taking into account the quality of animal welfare during preventive vaccination against rabies and during determination the protective activity of rabies vaccines.

Keywords: unfavorable conditions of the animals, rabies vaccine, rabies antibody, guinea pigs, minimum level of protection.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук В. В. Уховський

Рукопис надійшов 18.02.2014 року