

В. В. НЕДОСЕКОВ, доктор ветеринарних наук, професор
Національний університет біоресурсів і природокористування України,

А. П. НІКІТОВА

І. М. ПОЛУПАН, кандидат ветеринарних наук

С. А. НИЧИК, доктор ветеринарних наук

І. В. Галка, кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

Ж. М. ДРОЖЖЕ, науковий співробітник

М. Ю. ІВАНОВ, кандидат ветеринарних наук

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

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ АНТИРАБІЧНОГО ІМУНІТЕТУ У ВАКЦИНОВАНИХ ТВАРИН

У статті викладено результати дослідження динаміки формування специфічних антитіл у морських свинок, білих мишей, котів та собак після щеплення їх антирабічною вакциною. Встановлено рівень антитіл у кожного з виду тварин на 14 добу спостереження, а також період утворення поствакцинального імунітету.

Ключові слова: антирабічна вакцина, антирабічні антитіла, антирабічний імунітет, захисний рівень.

Сказ – летальне інфекційне захворювання, що вбиває десятки тисяч людей та сотні тисяч тварин щороку. Для подолання рабічної інфекції застосовують засоби специфічної профілактики – антирабічні вакцини. В Україні профілактичними антирабічними щеплення передбачається 100 % охоплення популяції собак, а в зонах стійкого неблагополуччя – котів. Ефективні вакцини проти сказу повинні викликати як гуморальну, так і клітинну імунну відповідь, протягом короткого часу [1-9].

Основним критерієм оцінки захисту тварин від зараження сказом є рівень специфічних антитіл в сироватках крові тварин імунованих антирабічною вакциною. Згідно вимог ВООЗ титр антитіл повинен становити не менше як 0,5 МО/см³, незалежно від того, яку вакцину використовували [6, 7].

Наявність специфічних антитіл, рівень яких відповідає міжнародним вимогам, є основою захисту проти рабічної інфекції.

Останні роки на ринку ветеринарних антирабічних препаратів України чільне місце посідає вакцина антирабічна рідка інактивована для імунізації тварин «Рабістар» виробництва ВАТ «Укрветпромстач». Лише вона закупляється Державною ветеринарною та фітосанітарною службою України за кошти Державного бюджету.

Тому, **метою** нашої роботи було дослідити в динаміці показники титрів специфічних антитіл після імунізації антирабічною вакциною Рабістар на лабораторних (морські свинки, білі миші) та векторних (собаки, коти) тваринах.

Матеріали та методи.

Антирабічна вакцина. Для постановки досліду використовували чотири серії вакцини антирабічної інактивованої рідкої «Рабістар», виготовленої зі штаму G 52 Wistar (виробник Укрветпромстач) з імуногенною активністю в межах 4,4-9,1 МО/доза.

Тварини та імунізація. Дослід проводили на:

- 4-х безпородних морських свинок, віком 6-8 місяців, масою тіла 600-700 г, яких піддали внутрішньом'язовій імунізації в об'ємі 0,25 см³.

- 60-х чотирьохтижневих безпородних білих мишей, масою тіла 13-15 г, яких імунізували інтраперитоніально, в об'ємі 0,5 см³, в розведенні 1:5 (аналогічно тесту NIH).

- 10-х собаках, масою тіла 7-10 кг та 10-х котах, масою тіла 2,7-3 кг, яких імунізували згідно інструкції щодо введення препарату.

Слід зазначити, що всі тварини раніше не були вакцинованими антирабічною вакциною.

Перед імунізацією та на 7, 14, 21, 27 та 41 добу проводили відбір проб крові, отримували сироватки, в яких визначали рівень антирабічних антитіл методом ТФ-ІФА (морські свинки, білі миші) та в реакції FAVN (собаки, коти). Результати досліджень виражали у Міжнародних одиницях (МО/см³).

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

Результати дослідження:

Відповідь гуморальної ланки імунітету до антирабічної вакцини на моделі морських свинок представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка титрів специфічних антитіл в сироватках крові імунованих антирабічною вакциною морських свинок

№ тварини	Титр антитіл, МО/см ³					
	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба	27 доба	41 доба
1	0	≤0,04	0,55	4,94	4,68	4,20
2	0	≤0,04	0,45	6,94	6,02	5,15
3	0	≤0,04	0,88	7,84	7,97	7,69
4	0	≤0,04	0,63	5,25	5,23	5,87
Середній титр	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<0,001.

Результати, наведені в таблиці, свідчать, що антирабічні антитіла у тварин були виявлені вже на сьому добу з моменту імунізації, проте їх кількість знаходилась на фоновому рівні (≤0,04 МО/см³). На 14 добу у 75 % імунованих тварин спостерігалась індуція антирабічних антитіл, що вище мінімального протективного рівня (0,5 МО/см³).

Оброблені статистично результати досліджень показали достовірну тенденцію до зростання титрів антирабічних антитіл. Встановлено, що максимальний вміст антирабічних антитіл у сироватках крові морських свинок був на 21 добу спостереження, із середнім титром

6,2±0,83 МО/см³. В подальшому (на 27 та 41 добу з моменту імунізації) титри антитіл знаходились в межах 6,0±0,74 та 5,7±0,76 МО/см³ відповідно, тобто не було встановлено достовірного зниження рівня специфічних антитіл.

Результати досліджень сироваток крові від білих мишей представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Динаміка титрів специфічних антитіл в сироватках крові імунізованих антирабічною вакциною білих мишей

Доба	Титр антитіл, МО/см ³										Середній титр, МО/см ³
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25	≤0,25
14	2,7	2,2	1,6	1,3	1,9	2,1	2,5	1,3	2,6	2,3	2,05±0,18
21	3,2	3,0	2,5	2,3	3,6	2,6	1,9	2,7	2,1	2,8	2,67±0,16
27	2,3	3,4	2,3	2,5	3,3	2,4	3,6	2,5	1,8	1,5	2,56±0,22
41	1,8	2,8	2,2	1,6	1,5	2,0	2,2	1,8	1,6	0,9	1,84±0,15*

Примітка: * - різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при P<0,001.

Аналіз отриманих результатів з визначення динаміки утворення специфічних антитіл після введення антирабічної вакцини свідчить, що на 14 добу спостереження у 100 % імунізованих тварин спостерігалось утворення антирабічних антитіл на протективному рівні.

Найбільш інтенсивне утворення антитіл у білих мишей спостерігали на 21 добу дослідження, їх рівень був – 2,67±0,16 МО/см³.

На 27 добу, з моменту імунізації, вірогідної різниці відносно 21 доби не спостерігали. Однак, на 41 добу було відмічено зниження титру антитіл, середнє значення цього показника було 1,84±0,15 МО/см³, що статистично достовірно менше за показник на 27 добу дослідження.

У результаті проведених досліджень сироваток крові імунізованих собак було встановлено, що 75 % тварин на 7 добу спостереження мали антитіла в захисному рівні із середнім значенням (1,01±0,29 МО/см³) (Табл. 3).

При дослідженні сироваток крові собак на 14 добу з моменту імунізації спостерігали 100 %-й захист тварин від зараженням сказу, оскільки титр антитіл був вище мінімально захисного рівня.

Динаміка утворення антитіл характеризувалася зростанням до 27 доби, де і набула максимуму (23,9±3,51 МО/см³). Слід відмітити, що у однієї з тварин титр антитіл становив 0,87 МО/см³, що вказує на індивідуальну сприйнятливості тварини на введення вакцини.

Таблиця 3

Динаміка титрів специфічних антитіл в сироватках крові імунізованих антирабічною вакциною собак

№ тварини	Титр антитіл, МО/см ³					
	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба	27 доба	41 доба
1	0	н/д	4,56	6,01	н/д	2,62
2	0	н/д	0,87	6,01	23,93	1,99
3	0	0,66	4,56	6,01	23,93	6,01
4	0	1,99	4,56	10,45	31,55	23,93
5	0	0,17	1,15	0,87	0,87	н/д
6	0	0,39	1,51	6,01	23,93	3,46
7	0	0,50	3,46	4,56	н/д	н/д
8	0	0,87	1,15	2,62	н/д	18,15
9	0	1,51	3,46	6,01	31,55	6,01
10	0	1,99	4,56	10,45	31,55	7,92
Середній титр	0	1,01±0,29	2,98±0,61*	5,9±0,81**	23,9±3,51	8,76±2,91

Примітки: * - різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при P<0,001;

** - різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при P<0,01;

н/д - не досліджували.

Через 41 добу після щеплення спостерігали тенденцію до зниження титрів антитіл порівняно із 27 добою дослідження, різниця була в 2,7 разів.

Результати дослідження сироваток крові, відібраних від котів, на наявність специфічних антирабічних антитіл представлені в таблиці 4.

Таблиця 4

Динаміка титрів специфічних антитіл в сироватках крові імунізованих антирабічною вакциною котів

№ тварини	Титр антитіл, МО/см ³					
	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба	27 доба	41 доба
1	0	2,7	3,6	8,2	32,4	12,5
2	0	0,9	2,6	5,8	26,5	9,2
3	0	1,3	2,6	6,2	37,3	14,2
4	0	0,8	2,2	5,8	25,5	8,4
5	0	1,4	4,2	7,6	27,5	9,3
6	0	1,2	3,2	5,3	26,4	10,5
7	0	1,5	4,6	8,2	35,6	15,3
8	0	1,3	3,5	6,8	22,1	8,3
9	0	0,9	3,2	6,2	28,4	11,2
10	0	0,7	2,8	4,8	21,9	9,3

Середній титр	0	1,27±0,15	3,25±0,24*	6,49±0,4*	28,36±1,69*	10,82±0,83*
---------------	---	-----------	------------	-----------	-------------	-------------

Примітка: * - різниця достовірна відносно результатів попередніх досліджень при $P < 0,001$.

Як свідчать результати, що наведені в таблиці 4, на 7 добу спостереження в сироватках крові середній титр антитіл знаходився вище мінімально захисного рівня ($1,27 \pm 0,15$ МО/см³). Збільшення антирабічних антитіл спостерігалась на 14 добу з моменту імунізації, їх рівень зріс в 2,6 рази, порівняно із показниками на 7 добу. На 27 добу статистично достовірно рівень специфічних антирабічних антитіл в сироватках крові котів набув максимуму – $28,36 \pm 1,69$ МО/см³. На 41-у добу поствакцинальний антирабічний імунітет у котів характеризувався стрімким зниженням титру антирабічних антитіл в 2,6 рази, однак головним критерієм оцінки було те, що титри антирабічних антитіл у всіх тварин були вищі мінімального протективного рівня.

Висновки:

1. Аналізуючи результати досліджень, можна стверджувати про велику розбіжність в титрах антитіл у межах однієї популяційної групи, що свідчить про гетерогенну чутливість тварин до антирабічної вакцини.

2. Проведені дослідження на лабораторних тваринах свідчать, що на 14 добу з моменту імунізації у 75% морських свинок рівень антитіл набув захисного рівня ($0,5$ МО/см³), у білих мишей на цю добу спостерігався 100 %-й ефект. Максимального рівня титр антитіл у обох видів тварин набув на 21 добу з моменту імунізації (морські свинки – $6,2 \pm 0,83$ МО/см³ та білі миші – $2,67 \pm 0,16$ МО/см³). Від 21 до 41 доби рівень антитіл знижувався, що свідчить про закінчення утворення поствакцинального імунітету.

3. У результаті проведених нами досліджень на собаках та котах було встановлено, що на 14 добу з моменту імунізації антирабічні антитіла набувають захисного рівня – $2,98 \pm 0,61$ та $3,25 \pm 0,24$ МО/см³ відповідно. Як у собак, так і в котів, максимальний рівень антирабічних антитіл спостерігали на 27 добу досліду ($23,9 \pm 3,51$ та $28,36 \pm 1,69$ МО/см³ відповідно). Однак, на 41 добу рівень антитіл у обох видів тварин знизився до $8,76 \pm 2,91$ та $10,82 \pm 0,83$ МО/см³, що свідчить про закінчення утворення поствакцинального імунітету.

Список використаної літератури:

1. Антирабічні вакцини в ветеринарній медицині / В. В. Недосеков [та ін.] // Бюлетень ІВМ УААН «Ветеринарна біотехнологія». – 2007. – № 11. – С. 141–150.
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. Недосеков В. В. Современные вакцины против бешенства животных / Виталий Недосеков // Ветеринария. – 2003. – № 8. – С. 23–25.
4. Шестопалов А. М. Бешенство и его распространение в мире / А. М. Шестопалов, М. И. Кисурин, К. Н. Груздев // Вопросы вирусологии. – 2001. – № 2. – С. 23–28.
5. Ertl H.C. Novel vaccines to human rabies / H.C. Ertl // PLoS Negl. Trop. Dis. - 2009. – V. 3. – № 9. – 515 p.
6. Expert Committee on Biological Standardization. Technical Report Series 924 / World Health Organization. – 2005. – 143 p.
7. Expert Consultation on Rabies. Technical Report Series 982 / World Health Organization. – 2013. – 139 p.
8. Laboratory techniques in rabies 4-ed. / Martin M. Kaplan, Hilary Koprowski. – Geneva: WHO. – 1996. – 476 p.
9. Rabies Bulletin Europe. — 2005. — V. 29. – № 3. – P. 3.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА У ВАКЦИНИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ /

В. В. Недосеков, А. П. Никитова, И. Н. Полупан, С. А. Нычк, Ж. Н. Дрожже, Н. Ю. Иванов

В статье изложены результаты исследования динамики формирования специфических антител у морских свинок, белых мышей, кошек и собак после иммунизации их антирабической вакциной. Установлен уровень антител у каждого из вида животных на 14 сутки наблюдения, а также период образования поствакцинального иммунитета.

Ключевые слова: антирабическая вакцина, антирабические антитела, антирабический иммунитет, защитный уровень.

FEATURES OF FORMATION RABIES VACCINATED IMMUNITY IN ANIMALS /

V. Nedosekov, A. Nikitova, I. Polupan, S. Nychyk, I. Galka, Zh. Drozhzhe, N. Ivanov

The article presents the results of a study of the dynamics of the formation of specific antibodies in laboratory models and vector animals after inoculation of rabies vaccine.

In experiments using porpoises (4 head), which were immunized intramuscularly rabies vaccine in a volume of 0.25 cm³; outbred white mice (60 animals), which were immunized intraperitoneally, in a volume of 0.5 cm³, at a dilution of 1:5 (same test NIH). Also used dogs (10 goals) and cats (10 goals), which were immunized according to the instructions on the drug.

Before immunization and at 7, 14, 21, 27 and 41 day spent sampling blood serum obtained, which determined the level of rabies antibodies by ELISA (porpoises, white mice) and in response FAVN (dogs, cats).

Since the animals were not previously immunized with rabies vaccine, at the beginning of the experiment in the blood serum specific antibodies were detected.

Conducted researches on porpoises showed that 14 days after immunization in 75% of animals antibody levels acquired protective level ($0,5$ IU / cm³). Established that the maximum content of rabies antibodies in the blood serum of animals was 21 days observation, with a mean titer of $6,2 \pm 0,83$ IU/cm³. Later (at 27 and 41 days after immunization) antibody titers were within $6,0 \pm 0,74$ and $5,7 \pm 0,76$ IU/cm³, respectively, that were not found significant reduction of specific antibodies.

Analysis of the results to determine the dynamics of rabies antibodies formation in the blood serum of white mice shows that the 14 day observation in 100% of immunized animals was observed the formation of rabies antibodies in protective level.

The most intensive formation of antibodies in white mice, like porpoises, observed on day 21 of the experiment, their level was - $2,67 \pm 0,16$ IU/cm³.

With 27 days, after immunization, significant difference relative to 21 days were observed. However, after 41 days was observed decrease in antibody titer; the average value of this indicator was $1,84 \pm 0,15$ IU/cm³, which was significantly less than in 27 day experiment.

As a result of studies of immunized dogs blood serum was found that 75% of the animals on day 7 of observation had rabies antibodies in protective level with a mean value ($1,01 \pm 0,29$ /cm³). At 14 days after immunization was observed 100% - and protection of animals against rabies

infection because antibody titer was above the minimum protective level ($2,98 \pm 0,61$ IU/cm³).

Dynamics of antibody formation was characterized by increasing to 27 days, where he gained a maximum ($23,9 \pm 3,51$ IU / cm³). It should be noted that one of the animals antibody titer was 0.87 IU / cm³, which indicates that the individual susceptibility of animals to the vaccine.

With 41 days after vaccination were observed downward trend in antibody titers compared to 27 days experiment, the difference was 2,7 times.

Results of the study of blood serum taken from the cats show that 7 day observation in the blood serum of secondary antibody titre was above the minimum protective level ($1,27 \pm 0,15$ IU / cm³). Increase rabies antibodies was observed on day 14 after immunization, their levels increased 2.6 times ($3,25 \pm 0,24$ IU / cm³) compared with rates on day 7. With 27 day statistically significant levels of specific rabies antibodies in the blood serum of dogs entered maximum - $28,36 \pm 1,69$ IU/cm³. After 41 days, the post-vaccination rabies immunity in cats characterized by rapid decline in titer rabies antibodies in 2.6 times ($10,82 \pm 0,83$ IU/cm³), but the main evaluation criterion was that the rabies antibody titers in all animals was higher minimum protective level.

An analysis of research results showed a large difference in antibody titers within the same population group, indicating a heterogeneous sensitivity of animals to rabies vaccine.

We believe that 41 days after immunization, there was a period of formation of post-vaccination immunity because animals of all experimental groups a decrease of specific antibodies.

Keywords: rabies vaccine, rabies antibody, rabies immunity, protective level.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук **В. А. Уховський**