

РУБЛЕНКО І.О., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

## **ДИНАМІКА УТВОРЕННЯ ПРОТИСИБІРКОВИХ АНТИТІЛ У СІРОВАТЦІ КРОВІ ОВЕЦЬ ІМУНІЗОВАНИХ ВАКЦИНОЮ ПРОТИ СИБІРКИ ТВАРИН ІЗ ШТАМУ *BACILLUS ANTHRACIS* UA–07 «АНТРАВАК»**

У статті наведені результати вакцинації овець різного віку вакциною проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак». Встановлено, що після щеплення спостерігалось підвищення рівня протисибіркових антитіл у овець усіх вікових груп. Показники рівня антитіл після щеплення, через 21 добу, 3, 6 міс. та 1 рік, були вірогідно вищими ( $p < 0,001$ ) за показники, отримані до вакцинації. Найнижчим синтез протисибіркових антитіл був у тварин І групи, вакцинація яких проводилася у 3 – 6 місячному віці, а найвищими у старших тварин, особливо у тварин старших 1 року.

**Ключові слова:** сибірка, вакцина, антитіла, титри, профілактика, вівці.

**Постановка проблеми.** Серед інфекційних захворювань тварин одним із небезпечних є сибірка [1–6]. Незважаючи на достатню кількість засобів профілактики (вакцин), щорічно реєструється велика кількість спалахів сибірки у багатьох країнах світу [7, 8]. Що до ситуації в Україні – продовж останніх років захворювання не зареєстровано. Наявність великої кількості стаціонарно-неблагополучних пунктів несе у собі потенційну загрозу [9].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** У системі заходів профілактики хвороби основним елементом є вакцинація тварин. Процес імунізації тварин є перевіреним інструментом у боротьбі з інфекційними хворобами та навіть їх ліквідацією [10–13].

Водночас деякі автори [14] стверджують, що не дивлячись на значну кількість активно щеплених тварин, відносна кількість смертності від цього не зменшується.

На превеликий жаль, на сьогодні в Україні існуючий комплекс профілактичних заходів щодо сибірки не дозволяє позбутися даного

захворювання. У цьому аспекті слід пам'ятати про наявність великої кількості старих захоронень тварин, хворих на сибірку.

У зв'язку з цим питання розробки засобів специфічної профілактики мають надзвичайну актуальність у плані протиепізоотичного благополуччя в Україні.

**Мета дослідження** – вивчити динаміку утворення протисибіркових антитіл у сироватці крові овець імунізованих новою вітчизняною вакциною проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак».

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження виконувались на вівцях в умовах Херсонського державного підприємства-біологічна фабрика, на базі Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) та на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ).

Експериментальну серію вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак», було виготовлено Херсонським державним підприємством-біологічна фабрика.

Для дослідження тварин розділили за віковими групами: 3–6 міс. віку (1-а група), 6–12 міс. віку (2-а група) та дорослі, старші 12 міс. віку, (3-я група). Тваринам підшкірно вводили рекомендовані до вакцинації дози вакцини: від 3 до 6 міс віку – 0,3см<sup>3</sup>; старшим 6 міс. віку – 0,5см<sup>3</sup>. Вівцям контрольних груп підшкірно, замість вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак», вводили стерильний фізіологічний розчин у об'ємах, що відповідають дозам вакцини.

Вакцину вводили на внутрішній поверхні стегна, шприцом із дотриманням вимог асептики. Протягом 10 діб після щеплення тваринам проводити термометрію. Стан тварин після щеплення був в межах фізіологічної норми.

Дію вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» визначали за показниками рівню протисибіркових антитіл у

сироватці крові, які відображають інтенсивність імунної відповіді на введену вакцину.

Титри антитіл визначали методом РНГА (використовували «Диагностикум эритроцитарный сибирезвенный антигенный сухой» (Казахский Научный Центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, Казахстан), відповідно до інструкції по застосуванню) до вакцинації та через 21 день, 3, 6 та 12 місяців після щеплення. Оцінку результатів проводили за методикою Лярскі (1980) [15] шляхом визначення середньої геометричної (G).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати дослідження сироватки крові овець після введення вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак» представлено у таблиці 1.

**Таблиця 1 – Показники титрів протисибіркових антитіл у сироватці крові овець**

| Група тварин            | До вакцинації | 21 доба після вакцинації                        | 3 міс. після вакцинації                         | 6 міс. після вакцинації | 1 рік після вакцинації |
|-------------------------|---------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| У сироватці крові овець |               |                                                 |                                                 |                         |                        |
| І група, n=8            |               |                                                 |                                                 |                         |                        |
| Титри антитіл           | 1:10,0        | 1:320,0                                         | 1:320,0                                         | 1:240,0                 | 1:80,0                 |
| G                       | 10            | 320                                             | 320                                             | 226,27                  | 80                     |
| log <sub>2</sub>        | 3,32          | 8,32                                            | 8,32                                            | 7,82±0,18<br>***        | 6,32                   |
| Контрольна група, n=4   | 1:10          | протягом дослідного періоду антитіл не виявлено |                                                 |                         |                        |
| II група, n=8           |               |                                                 |                                                 |                         |                        |
| Титри антитіл           | 1:15          | 1:400,0                                         | 1:251,0                                         | 1:240,0                 | 1:120,0                |
| G                       | 14,14         | 380,55                                          | 320                                             | 190,27                  | 113,14                 |
| Lim                     | 10 – 20       | 320 – 640                                       | 160 – 320                                       | 160–640                 | 80 – 160               |
| log <sub>2</sub>        | 3,82±0,18     | 8,57±0,18<br>***                                | 8,32±0,36<br>***                                | 7,57±0,18<br>***        | 6,82±0,18<br>***       |
| Контрольна група, n=4   | 1:20          | 1:10                                            | протягом дослідного періоду антитіл не виявлено |                         |                        |
| III група, n=14         |               |                                                 |                                                 |                         |                        |
| Титри антитіл           | 1:25,0        | 1:411,43                                        | 1:377,14                                        | 1:274,29                | 1:142,86               |
| G                       | 23,20         | 390,08                                          | 353,81                                          | 249,83                  | 137,92                 |
| Lim                     | 10 – 40       | 320 – 640                                       | 160 – 640                                       | 160 – 640               | 80 – 160               |
| log <sub>2</sub>        | 4,53±0,05     | 8,61±0,02<br>***                                | 8,46±0,05<br>***                                | 7,96±0,05<br>***        | 7,11±0,02<br>***       |

|                       |           |      |                                                 |
|-----------------------|-----------|------|-------------------------------------------------|
| Контрольна група, n=4 | 1:10–1:20 | 1:10 | протягом дослідного періоду антитіл не виявлено |
|-----------------------|-----------|------|-------------------------------------------------|

**Примітки:** \*\*\* $p < 0,001$  – порівняно з показниками овець до вакцинації.

Отримані результати досліджень свідчать про те, що у сироватці крові дослідних тварин до вакцинації було виявлено низький рівень протисибіркових антитіл (1:10 у тварин I групи, 1:15 у тварин II групи та 1:25 у тварин III групи). Зокрема, слід відмітити слабо виражений колостральний імунітет у тварин першої групи ( $\log_2=3,32$ ) та залишок активного поствакцинального імунітету від попередньої вакцинації у тварин II групи ( $\log_2=3,82 \pm 0,18$ ).

Через 21 добу після вакцинації, спостерігали вірогідне підвищення ( $p < 0,001$ ) протисибіркових антитіл сироватці крові всіх вікових груп у титрах: у тварин I групи – до  $\log_2=8,32$ , II групи – до  $\log_2=8,57 \pm 0,18$ , III – до  $\log_2=8,61 \pm 0,02$ .

З часом, через 3 міс. після введення вакцини у овець I групи титри протисибіркових антитіл не змінювалися. У тварин II та III груп реєстрували тенденцію до зниження (на 0,25 та 0,15  $\log_2$ , відповідно). Показники рівню антитіл після щеплення були вірогідно вищими ( $p < 0,001$ ) за показники, отримані до вакцинації. У тварин контрольної групи протягом наступного дослідного періоду антитіла не виявлялися.

У сироватці крові овець I, II та III груп, відібраної через 6 міс. після вакцинації, титри специфічних антитіл продовжували знижуватися. Слід зазначити, що титри протисибіркових антитіл у сироватці крові овець III групи були вищими, порівняно з показниками I та II груп (на 0,06 та 0,39  $\log_2$  відповідно).

У подальшому, через 1 рік після вакцинації, рівні протисибіркових антитіл знизилися. У овець III групи титри залишалися вищими (рис.1), порівняно з показниками тварин I (на 0,79  $\log_2$ ) та II (на 0,29  $\log_2$ ) груп і були вірогідно вищими ( $p < 0,001$ ), за показники титрів антитіл, отриманих до вакцинації.

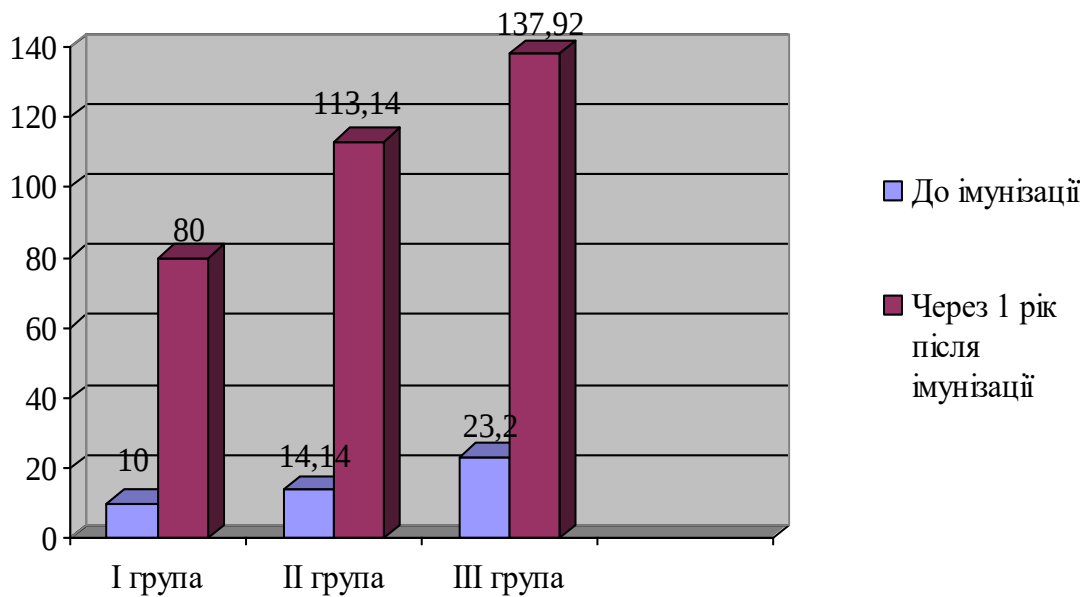


Рис.1. Середні геометричні показники титрів антитіл у сироватці крові овець після імунізації вакциною проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак»

Порівняння рівня протисибіркових антитіл у сироватці крові овець, імунізованих вакциною проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак», свідчить про те, що щеплення викликало їх вірогідно вище утворення у тварин третьої групи (старших 12 міс. віку).

**Висновки.** 1. За результатами досліджень встановлено, що вакцина проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 «Антравак», викликала підвищення рівня протисибіркових антитіл у всіх вікових групах овець, особливо у III.

2. Найнижчим синтез протисибіркових антитіл був у тварин I групи вакцинація яких проводилася у 3 – 6 місячному віці.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати свідчать про перспективність застосування вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак» для профілактики сибірки тварин.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Smith K.L. Mesoscale ecology of anthrax in southern Africa: a pilot study of diversity and clustering / K.L. Smith, V. De Vos, H.B. Bryden, M.E. Hugh-Jones, A. Klevytska, [et al.] // Journal of Applied Bacteriology – 1999. – 87. – P. 204–207.
2. Hugh-Jones M.E. Anthrax and wildlife / M. Hugh-Jones, V. De Vos // Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). – OIE. – 2002. – 21(2) – P. 359–383.
3. Лиманская О.Ю. Молекулярные технологии детекции возбудителя сибирской язвы посредством ПЦР различных форматов / О.Ю. Лиманская, Л.А. Муртазаева, S. Klee, А.П. Лиманский // Журнал Биотехнология. – 2013. – № 3. – С. 86–96.
4. Fasanella A. Anthrax undervalued zoonosis / A. Fasanella, D. Galante, M. Garofolo [et al.] // J. Veterinary microbiology. – 2010. – № 140. – P. 318–331.
5. Beyer W. Anthrax in animals / W. Beyer, P.C.B. Turnbull // J. Molecular aspects of medicine. – 2009. – № 30. – P. 481–489.
6. Маркович І.Г. Аналіз епідемічної ситуації щодо зооантропонозів в Україні за 2011–2012 роки / І.Г. Маркович, О.Й. Гриневич // Україна. Здоров'я нації. – 2013. – № 2(26). – С. 125–129.
7. Товстига В.П. Про небезпеку сибірки та причини її виникнення / В.П. Товстига // Ветеринарна медицини України. – 2012. – №12(202). – С. 40–41.
8. Woods C.W. Risk factors for human anthrax among contacts of anthrax-infected livestock in Kazakhstan // C.W. Woods, K. Ospanov, A. Myrzabekov, [et al.] // Journal The American society of tropical medicine and hygiene. – 2004. – № 71(1). – P. 48–52.

9. Небезпечні ситуації медико-біологічного характеру та заходи щодо мінімізації їх негативних наслідків. Національна доповідь про стан техногенної та природної безпеки в Україні у 2012 році. С. 65–66. [www.mns.gov.ua/files/proznos/report/2012/2.2012.pdf](http://www.mns.gov.ua/files/proznos/report/2012/2.2012.pdf).

10. Рудень В.В. Законодавче та нормативно-правове регулювання організації та проведення процесу щеплення населення в Україні: Методичні рекомендації / В.В. Рудень, Є.В. Москв'як, М.В. Банчук та ін. – 2011. – Львів. – 86 с.

11. Đurić P. Three probable cases of cutaneous anthrax in autonomous province of Vojvodina, Serbia, June 2011 / P.Đurić, G.Ćosić, S.Rajčević, M.Tomković, Ž.Subić, M.Dimitrić // *Europe's journal on infectious disease epidemiology, prevention and control*. – 2012. – Vol.17.– P. 2–7.

12. Кулиниченко А.Н. Сибирская язва в Дагестане / А.Н. Кулиниченко, Н.П. Буравцева, С.Н. Антюганов и др. // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2013. – Вып. 2. — С. 22–25.

13. Джупина С.И. Сравнительная эпизоотология сибирской язвы /С.И. Джупина // *Ветеринария*. – 1999. –№ 9. – С. 13–17.

14. Терентьев Ф.А. Современное состояние вопроса об организации мер профилактики и борьбы с сибирской язвой / Ф.А. Терентьев, А.П. Зотов // *Сибирская язва. Работы XI пленума ветеринарной секции академии*. г. Уфа 25–31 мая 1938 г. – Москва: ОГИЗ. – 1940. – С. 4–19.

15. Ветеринарная вирусология [Текст] : учеб. Пособ. / [В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина] – Москва, Колос,1984. – С. 359–361.

**Динамика образования противосибироязвенных антител в сыворотке крови овец иммунизированных вакциной против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* ua-07 «Антравак»**

**И.А. Рубленко**

В статье приведены результаты вакцинации овец разного возраста вакциной против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Установлено, что после прививки наблюдалось повышение уровня противосибироязвенных антител у

овец всех возрастов. Показатели уровня антител после прививки, через 21 дней, 3, 6 мес. и 1 год, были достоверно выше ( $p<0,001$ ) показателей, полученные до вакцинации. Низким синтез противосибироязвенных антител был у животных I группы, вакцинация которых проводилась в 3 – 6 месячном возрасте, а самыми высокими в старших животных, особенно у животных старших 1 года. В статье приведены результаты вакцинации овец разного возраста вакциной против сибирской язвы животных из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 «Антравак». Установлено, что после прививки наблюдалось повышение уровня противосибироязвенных антител у овец всех возрастов. Показатели уровня антител после прививки, через 21 дней, 3, 6 мес. и 1 год, были достоверно выше ( $p<0,001$ ) показателей, полученные до вакцинации. Низким синтез противосибироязвенных антител был у животных I группы, вакцинация которых проводилась в 3 – 6 месячном возрасте, а особенно высокими в старших животных, особенно у животных старших 1 года.

**Ключевые слова:** сибирская язва, вакцина, антитела, титры, профилактика, овцы.

## **IMMUNOREACTIVITY SHEEP BODY TO THE ACTION OF ANTHRAX VACCINE STRAIN OF ANIMALS WITH BACILLUS ANTHRACIS UA-07 "ANTRAVAK"**

### **I. Rublenko**

Among infectious animal diseases is one of the dangerous anthrax. Despite a sufficient number of prevention (vaccines), each year a large number of anthrax outbreaks in many countries. The large number of stationary points, disadvantaged bears the potential threat of epizootic and epidemiological complications.

The system of prevention of disease is a major element of vaccination of animals. The process of immunization of animals is a proven tool in the fight against infectious diseases and even their elimination. However, some authors argue that despite the significant number of actively immunized animals, the relative number of deaths did not decrease.

Unfortunately, today in Ukraine the existing range of preventive measures against anthrax cannot get rid of this disease. In this respect, it should be remembered about the large number of old graves of animals suffering from

anthrax. In this regard, the issue of developing specific prevention tools is extremely relevant in terms of epizootic prosperity in Ukraine.

The aim – to study the dynamics of formation of anthrax antibodies in the serum of sheep immunized with the new vaccine against anthrax domestic animal strain of *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak."

To study the animals were divided by age groups: 3–6 months age (group 1), 6–12 months age (2nd group) and adults (over 12 months old) animals (3rd party). The animals were injected subcutaneously recommended for vaccination vaccine doses from 3 to 6 months of age – 0,3sm<sup>3</sup>; over 6 months age – 0,5sm<sup>3</sup>. Sheep control groups subcutaneously instead of animal anthrax vaccine strain of *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" enter sterile saline in a volume corresponding doses of vaccine.

The obtained results indicate that the serum of experimental animals to vaccination was found low anthrax antibody (1:10 in animals and groups of animals in 1:15 and 1:25 of the second to the third group of animals). In particular, it should be noted weakly expressed maternal immunity in animals of the first group ( $\log_2 = 3,32$ ) and remaining active post-vaccination immunity from prior vaccination of animals in group II ( $\log_2 = 3,82 \pm 0,18$ ).

After 21 days of vaccination, observed significant increase ( $p < 0,001$ ) serum antibody anthrax all age groups in the credits: the animals of group – to  $\log_2 = 8,32$ , II group - to  $\log_2 = 8,57 \pm 0,18$ , III – to  $\log_2 = 8,61 \pm 0,02$ .

Eventually, after 3 months after administration of the vaccine in sheep and titers of antibodies anthrax not changed. Animals II and III groups recorded a downward trend (0,25 and 0,15  $\log_2$ , respectively). Indicators of antibody levels after vaccination were significantly higher ( $p < 0,001$ ) than in received the vaccination. Animals in the control group during the next period of research antibodies detected.

Serum sheep I, II and III groups, taken after 6 months after vaccination titers of specific antibodies continued to decline. It should be noted that anthrax titers of

antibodies in the serum of sheep third group were higher compared with the figures I and II groups (0,06 and 0,39 log<sub>2</sub> respectively).

Later, at 1 year after vaccination, antibody levels declined anthrax. In the third group of sheep titers were higher compared with the figures and animals (at 0,79 log<sub>2</sub>) and II (on 0,29 log<sub>2</sub>) groups were significantly higher ( $p < 0,001$ ) than in antibody titers obtained before vaccination.

Comparison anthrax level of antibodies in the serum of sheep immunized with a vaccine against anthrax strain of animals from *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" indicates that the vaccine caused their formation significantly higher in the third group of animals (over 12 months old).

The research found that the vaccine against anthrax strain of animals from *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" caused anthrax raising antibodies in sheep all age groups, especially in the third. The lowest anthrax antibody synthesis was in the group of animals and vaccination which was carried out in 3–6 months of age.

**Key words:** anthrax, vaccine, antibody, titers, prevention, sheep.

## REFERENCES

1. Smith K.L. Mesoscale ecology of anthrax in southern Africa: a pilot study of diversity and clustering / K.L. Smith, V. De Vos, H.B. Bryden, M.E. Hugh-Jones, A. Klevytska, [et al.] // *Journal of Applied Bacteriology* – 1999. – 87. – P. 204–207. [in English].
2. Hugh-Jones. M.E. Anthrax and wildlife / M. Hugh-Jones, V. De Vos // *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*. – OIE. – 2002. – 21(2) – P. 359–383. [in English].
3. Lymanskaia O.Yu. Molekuliarnye tekhnolohyy detektsyy vozbudytelia sybyrskoj iazvy posredstvom PTsR razlychnykh formatov / O.Yu. Lymanskaia, L.A. Murtazaeva, S. Klee, A.P. Lymanskyj // *Zhurnal Byotekhnolohyia*. – 2013. – № 3, S. 86–96. [in Russian].

4. Fasanella A. Anthrax undervalued zoonosis / Fasanella A., Galante D., Garofolo M. [et al.] // J. Veterinary microbiology. – 2010. – № 140. – P. 318–331. [in English].

5. Beyer W. Anthrax in animals / W.Beyer, P.C.B. Turnbull // J. Molecular aspects of medicine. – 2009. – № 30. – P. 481–489. [in English].

6. Markovych I.H. Analiz epidemichnoi sytuatsii schodo zooantroponoziv v Ukraini za 2011–2012 roky / I.H. Markovych, O.J. Hrynevych // Ukraina. Zdorov'ia natsii. – 2013. – № 2(26). – S. 125–129. [in Ukrainian].

7. Tovstyha V.P. Pro nebezpeku sybirky ta prychny ii vynyknennia / V.P. Tovstyha // Veterynarna medytsyny Ukrainy. – 2012. – №12(202). – S.40–41. [in Ukrainian].

8. Woods C.W. Risk factors for human anthrax among contacts of anthrax-infected livestock in Kazakhstan // C.W.Woods, K.Ospanov, A.Myrzabekov, [et al.] // Journal The American society of tropical medicine and hygiene. – 2004. – № 71(1). – P. 48–52. [in English].

9. Nebezpechni sytuatsii medyko-biologichnoho kharakteru ta zakhody schodo minimizatsii ikh nehatyvnykh naslidkiv. Natsional'na dopovid' pro stan tekhnohennoi ta pryrodnoi bezpeky v Ukraini u 2012 rotsi. S. 65–66. [www.mns.gov.ua/files/proznos/report/2012/2.2012.pdf](http://www.mns.gov.ua/files/proznos/report/2012/2.2012.pdf). [in Ukrainian].

10. Ruden' V.V. Zakonodavche ta normatyvno-pravove rehuliuвання orhanizatsii ta provedennia protsesu scheplennia naseleння v Ukraini: Metodychni rekomendatsii / V.V. Ruden', Ye.V. Moskv'iak, M.V. Banchuk ta in. – 2011. – L'viv. – 86 s. [in Ukrainian].

11. Durić P. Three probable cases of cutaneous anthrax in autonomous province of Vojvodina, Serbia, June 2011 / P.Duric, G.Cosic, S.Rajcevic, M.Tomkoviec, Z.Subic, M. Dimitric // Europe's journal on infectious disease epidemiology, prevention and control. – 2012. – Vol.17. – P. 2–7. [in English].

12. Kulynychenko A.N. Sybyrskaia iazva v Dahestane / A.N. Kulynychenko, N.P. Buravtseva, S.N. Antiuhanov y dr. // Problemy osobo opasnykh ynfektsiy. – 2013. – Vyp. 2. — S. 22–25. [in Russian].

13. Dzhupyna S.Y. Sravnytel'naia epyzootolohyia sybyrskoj iazvy / S.Y. Dzhupyna // Veterynaryia. – 1999. – №9. – S. 13–17. [in Russian].

[14.](#) Terent'ev F.A. Sovremennoe sostoiane voprosa ob orhanyzatsyy mer profylaktyky y bor'by s sybyrskoj iazvoj / F.A. Terent'ev, A.P. Zotov // Sybyrskaia iazva. Raboty KhI plenuma veterynarnoj sektsyy akademyy. h. Ufa 25–31 maia 1938 h. – Moskva: OHYZ. – 1940. – S. 4–19. [in Russian].

15. Veterynarnaia vyirusolohyia [Tekst] : ucheb. Posob. / [V.N. Siurn, R.V. Belousova, N.V. Fomyna] – Moskva, Kolos, 1984. – S. 359–361. [in Russian].