

УДК 619:616.98:579.852.11

**ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВАКЦИННИХ ПРЕПАРАТІВ ПРОТИ
СИБІРКИ**

В. В. СЛУПСКА, здобувачка**

У. М. ЯНЕНКО, кандидат ветеринарних наук

*Державна наукова установа "Державний центр інноваційних
біотехнологій"*

Н. І. КОС'ЯНЧУК, Н. Г. СОРОКІНА, кандидати ветеринарних наук

*Національний університет біоресурсів і природокористування
України*

А. В. ВОРОБІЙОВА, лікар ветеринарної медицини

Клініка ветеринарної медицини "Зоовет"

Тотальна вакцинація сприйнятливого поголів'я є ефективним заходом у боротьбі проти сибірки. На початку 20-х років минулого століття в Україні почали застосовувати вакцинопрофілактику цього захворювання, що призвело до зменшення спалахів сибірської виразки. Наведено порівняльну оцінку існуючих вакцин проти сибірки, а саме: Вакцина проти сибірки тварин «Антравак», Вакцина проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2, Херсон, Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z».

Ключові слова: Bacillus anthracis, вакцини, селекція, лабораторні тварини

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

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, академік НААН А. І. Завірюха

Захворювання на антракс тварин і людей залишається серйозною проблемою і сьогодні в багатьох країнах світу, незалежно від рівня їх розвитку. Сибірка століттями була стихійним лихом, знищуючи величезну кількість сільськогосподарських тварин. [17].

За даними Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) і Всесвітньої організації охорони здоров'я за останні 15 років у світі зареєстровано понад 150 тисяч спалахів сибірки, щорічно гине понад 2 млн. тварин, хворіють більше 40 тисяч людей [3].

З появою ефективних засобів специфічної профілактики з'явилась можливість запобігати масовим захворюванням тварин та людей. Організація планових державних заходів з вакцинації худоби проти сибірки сприяла тому, що вже у 1924-1925 рр. в Україні було вакциновано 2 млн. 448 тис. 600 голів. Якщо у 1923-1924 рр. в Україні захворіло на сибірку 21 246 тварин, то у 1927-1928 рр. – вже 16 823 [14]. За 10 років ХХІ століття було зареєстровано лише 39 випадків захворювання, при цьому кількість спалахів продовжує зменшуватись, в 2011 році захворювання тварин на сибірку не реєстрували, в 2012-му виявлено два випадки (приватний сектор) і за останні 2 роки (2013-2014 рр.) спалахів сибірки не було.

Захворювання на сибірку реєструвалось в усіх регіонах нашої країни. З 1920 до 2012 року загальна кількість стаціонарно неблагополучних пунктів становила – 24948. На території України існує понад 4,5 тисяч сибіркових захоронень, з них 60 % старих, які найбільш небезпечні. Під час захоронень трупів загиблих тварин відбувається контамінація ґрунту спорами збудника сибірки, внаслідок чого формується інфекційний осередок, який становить серйозну небезпеку для навколишнього середовища.

Збудник сибірки – *Bacillus anthracis* – виділяє складний екзотоксин, який складається з трьох компонентів: едематогенного фактора – EF, протективного антигену – PA та летального фактора – LF, або, відповідно,

фактори I, II, III. Їх продукують безкапсульні і капсульні штами мікроорганізмів [8].

B. anthracis виявився одним із найбільш однорідних мікроорганізмів за складом генетичного апарату, що багато в чому пов'язано зі здатністю бацили утворювати спори. Відмінності між штамми полягають у наявності або відсутності плазмід або варіабельності їх структури [9].

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 ін. [10, 8,6].

Мета дослідження полягала у порівняльному вивченні вакцин, які застосовуються для профілактики сибірки, а також визначенні перспективи їх удосконалення.

Матеріали та методи дослідження. Для аналізу використали сучасні протисибіркові вакцини: проти сибірки тварин з штаму 55-ВНИИВВиМ живу суху, проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2*, живу проти сибірки зі штаму СТИ, Антравак-55 проти сибірки тварин живу рідку, Anthrax Vaccine Adsorbed (AVA), експериментальну вакцину «Антравак», вакцину абацилярну «Антракол», живу спорову проти сибірки тварин зі штаму «СБ» концентровану, живу проти сибірки тварин зі штаму К-79Z, ДНК-вакцини. Робота проводилася відповідно до затвердженої «Методики порівняльних комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин».

Результати досліджень. Основним протиєпізоотичним заходом проти сибірки є тотальна імунізація тварин живими споровими вакцинами, які виготовлені зі спеціально відселекційованих вакцинних штамів збудника, що мають незначну залишкову вірулентність. За парентерального введення мікроби вакцинних штамів призводять до загибелі лабораторних тварин (білих мишей) і не спричиняють захворювання у кролів, мурчаків та сільськогосподарських тварин [7].

На спеціальних живильних середовищах вакцинні штами, відібрані у результаті копіткої селекції, продукують у декілька разів більше токсину, ніж епізоотичні чи звичайні вакцинні культури [11, 6].

У Росії протисибіркові вакцини виготовляють із спороутворювальних мікроорганізмів *B. anthracis* 55 ВНИИВВиМ, СТИ («Вакцина против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ 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).

Ці штами і вакцини, виготовлені з них, володіють значною залишковою вірулентністю і після щеплення можуть призводити до захворювання на сибірку в ослаблених тварин [7].

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 50-х років ХХ століття 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 гелі гідроксидію алюмінію (Alhydrogel) як 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 [1].

Біофабрики України вже протягом десяти років забезпечують тваринництво живими споровими вакцинами проти сибірки, а саме такими препаратами: «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

А. І. Завірюха та новою вакциною «Антравак», виробництва Херсонського державного підприємства – біологічної фабрики, м. Херсон [13].

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 см^3 , а дози введення знаходяться в межах від 0,5 до 2 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.

В останні роки в Україні налагоджено виробництво вакцин зі штаму *Sterne 34 F2* з наночастинками золота, розробники – В. О. Ушкалов, О. В. Мачуський, М. Є. Романько.

У роботі були використані біобезпечні частинки нанозолота розміром $30,4 \pm 0,5 \text{ нм}$ з концентрацією $19 \pm 2,0 \text{ мкг/мл}$. 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 [12].

Останнім часом розробляються концентровані спорові вакцини проти сибірки.

Розробкою подібної форми препарату нині займається Сумська біофабрика, результатом цієї роботи є технічні умови ТУУ 24.4-00483004-004:2006 на «Вакцину живу спорову проти сибірки тварин із штаму «СБ» концентровану». Вміст спор у ній вищий, ніж у звичайній вакцині у п'ять разів і становить 100-125 млн. у 1 см^3 .

Як зазначає В. М. Дзюба, впровадження концентрованої вакцини проти сибірки дасть змогу скоротити витрати на пакування, транспортування й зберігання препарату, а також зменшить трудомісткість робіт під час щеплення тварин [11].

До середини 90-х років ХХ століття сформувався ще один напрям профілактики сибірки – ДНК-вакцинація. Цей принципово новий підхід заснований на здатності нуклеїнових кислот існувати кілька тижнів і навіть місяців у цитоплазмі клітин організму-господаря, не вбудовуючись в його геном, але підтримуючи синтез закодованих у 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 швидкими темпами, пов'язують надії на профілактику і лікування багатьох захворювань, у тому числі й особливо небезпечних інфекцій. Наразі 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 напрямів розвитку медицини ХХІ ст. стане ДНК-вакцинація.

Одним з перспективних напрямів вакцинопрофілактики та боротьби з сибіркою тварин є застосування вакцин абациллярного типу.

На базі ДНУ «Державного центру інноваційних біотехнологій» розроблено експериментальну серію абациллярної вакцини «Антракол», розробником якої є академік НААН А. І. Завірюха.

Основною складовою даного препарату є екзотоксин – протективний антиген штаму *B. anthracis* K-79Z (депонований ДНКІБШМ № 069).

Вакцина «Антракол» пройшла успішну апробацію у дослідних господарствах і має високі показники. Ряд експериментів показав, що у дослідних групах сільськогосподарських тварин (великої рогатої худоби,

вівцях) та хутрових звірів формування імунітету починається через три години після щеплення, і триває 8 місяців, стимулюється клітинний і гуморальний імунітет, індукується ендogenous інтерферон та створюється специфічна нечутливість до зараження. Дослідні серії вакцини показали високо превентивні властивості. В експерименті використовували штам *Bac. anthracis K-79Z* $LD_{100} = 4 \times 10^9$ спор. Контрольних тварин щеплювали вакциною ШтернаF₂ з 4×10^9 живих спор (табл. 1). Усі тварини заражали стандартною сибірковою капсульною культурою штаму *Ценковського II*, яку вводили підшкірно в ділянку черева в дозі по $1 \pm 0,2$ млн. живих спор в об'ємі $0,5 \text{ см}^3$. Спостереження велось упродовж 10 діб.

1. Результати випробовування вакцини Антракол з превентивною метою на мурчаках, (n=10, масою 350-400 г), $M \pm m$

Контрольна група			Дослідні групи									
Заражено, гол.	Вижило, гол.	%	Заражено, гол.	Щеплено вакциною Антракол через	5 год. з моменту зараження, гол.	Вижило, гол.	%	Заражено, гол.	Щеплено вакциною Антракол через	10 год. з моменту зараження, гол.	Вижило, гол.	%
10	$5,8 \pm 0,2$	58,0	10	10		8,3	83,0	10	10		$6,0 \pm 0,3$	60,0
$P \geq 0,001$												

Аналізуючи дані таблиці 1, слід відзначити, що за щеплення вакциною Антракол через 5 год. з моменту зараження вижило 83 %

піддослідних тварин ($8,3 \pm 0,3$ гол.), за щеплення вакциною Антракол через 10 год. з моменту зараження – 60 % ($6,0 \pm 0,3$ гол.), причому $P \geq 0,001$.

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

Дану вакцину рекомендовано застосовувати для профілактики сибірки серед сприйнятливих тварин, а також з лікувальною метою для тварин і людей [4, 15. 16].

За щеплення цим препаратом імунітет починає формуватися через 2-4 години після ін'єкції й триває 2,5-6 місяців [5].

Головком А. М., Ушкаловим В. О., Бабкіним М. В. та ін. дослідниками була проведена апробація удосконалених вимог до процедури контролю якості спорових вакцин проти сибірки тварин («Вакцина проти сибірки тварин «АНТРАВАК», «Вакцина проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2*», «Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» (рідка)). Робота проводилася відповідно до затвердженої «Методики порівняльних комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин». Визначення показників якості проводили з урахуванням вимог Європейської фармакопеї 5.0. (European Pharmacopoeia 5.0).

Результати проведених досліджень свідчать про те, що Вакцина проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2*, ДНКІБШМ містить 269 тис. спор, Вакцина проти сибірки тварин «Антравак», ДНКІБШМ – 363 тис. спор, Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», серія 4 – 3,3 млн. спор, Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка, серія 16 – 10,2 млн. спор.

2. Результати визначення ІмД₅₀ шляхом контрольного зараження

Препарат	Розведення							
	1:2		1:10		1:50		1:250	
	Вакциновано	Вижило	Вакциновано	Вижило	Вакциновано	Вижило	Вакциновано	Вижило
Вакцина проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2, ДНКІБШМ	7	7	7	6	7	1	7	0
Експериментальна Вакцина проти сибірки тварин «Антравак»	7	7	7	6	7	1	7	0
Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», серія 4	7	6	7	5	7	1	7	0
Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка, серія 16	7	5	7	2	7	0	7	0

Як видно з таблиці 2, після проведення вакцинації Вакциною проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2, ДНКІБШМ, експериментальною Вакциною проти сибірки тварин «Антравак» вижило більше тварин, ніж після щеплення Вакциною живою проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», Вакциною живою споровою проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідкою.

ІмД₅₀ «Вакцини проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2*» складає 269 тис. спор і є найменшою серед досліджених препаратів, що демонструє високу імуногенність штаму *Sterne 34F2*; ІмД₅₀ Вакцини «Антравак» складає 363 тис. спор.

Усі досліджені вакцини відповідали вимогам НД за показником імуногенність [2].

Наші дослідження спрямовані на визначення токсигенних властивостей вакцинних штамів збудника сибірки. Подальші наукові дослідження будуть використані нами у статтях.

Висновки

1. Абациллярна вакцина «Антрокол» є кращою у порівнянні з перерахованими вище споровими вакцинами, оскільки вона рекомендована для щеплення тварин, які заборонено імунізувати живою споровою протисибірковою вакциною (виснажені тварини, такі, що експлуатуються в умовах важкої роботи, молодняк до 3-х міс. віку тощо).

2. ІмД₅₀ «Вакцини проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2*» складає 269 тис. спор і є найменшою серед досліджених препаратів, що демонструє високу імуногенність штаму *Sterne 34F2*; ІмД₅₀ Вакцини «Антравак» складає 363 тис. спор.

3. Перспективи удосконалення протисибіркових препаратів полягають у розробці та впровадженні концентрованої спорової вакцини проти сибірки, пошуку культур збудника сибірки з найкращими імуногенними властивостями і виготовленні з них нових препаратів для профілактики цього захворювання.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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].

2. Головка А. М. Експериментальна апробація показників контролю якості спорових вакцин проти сибірки згідно міжнародних рекомендацій / А. М. Головка, В. О. Ушкалов, І. В. Бабкін, О. В. Мачуський, В. Г. Скрипник, І. О. Рубленко // *Ветеринарна біотехнологія*. – К, 2013. – № 23. – С. 95 –103.

3. Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України (2012) Епізоотична ситуація в світі: інформація Міжнародного епізоотичного бюро (<http://vet.got.ua/db/meb>).

4. Завірюха А. І. Абациллярна вакцина проти сибірки/ А. І. Завірюха, В. В Слободян, О. Р. Романовський //Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. – № 52. – Х. – 1994. – С 36 –37.
5. Завірюха А. І. Настанова по застосуванню вакцини абациллярної «Антракол» проти сибірки тварин / А. І. Завірюха.– К., 2002. – 3 с.
6. 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 промышл. производ. ветерин. биологич. препаратов. – Владимир, 1978. – С. 64 – 65.
7. 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.
8. Колесов С. Г. Иммунитет. Сибирская язва / С. Г. Колесов, Г. В. Дунаев, Г. И. Романов. – М.: Колос, 1976. – С. 177 – 197.
9. Пименов Е. В. Создание вакцин против сибирской язвы / Е. В. Пименов, В. В. Кожухов, Ю. И. Строчков // Природа. – 2000. – № 10. – С. 5 – 12.
10. Пугач Н. Б. Історичні та медико-соціальні аспекти становлення і розвитку вчення про сибірку: автореф. дис. на здоб. наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.02.04 «Історія медицини» / Н. Б. Пугач. – Х., 2008. – 25 с.
11. 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.
12. 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.

13. 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.

14. Седінкін В. В. Вакцинація – надійний засіб профілактики сибірки / В. В. Седінкін, О. Г. Вишневецький // Ветеринарна медицина України. – 2009. – № 2. — С. 32 – 33.

15. Слободян В. В. Вакцина «Антракол» – у боротьбі з сибіркою тварин: автореферат дис. на здобуття наукового ступеня канд. вет. наук : спец. 6.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, вірусологія, епізоотологія, мікологія і імунологія». – К., 1997 р.– 22 с.

16. Слободян В. В., Завірюха А. І. Імуногенні та лікувальні властивості вакцини «Антракол» проти сибірки тварин / Ветеринарна медицина України – № 5. – 1997. – Київ. – С. 5 –7.

17. Черкасский Б. Л. Сибирская язва / Б. Л. Черкасский, С. П. Бургасов // Руководство по зоонозам. – М.: Медицина, 1983. – С. 207 – 217.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

**В. В. Слупская, У. Н. Яненко, Н. И. Косьянчук,
Н. Г. Сорокина, А. В. Воробьева**

Тотальная вакцинация восприимчивого поголовья является эффективной мерой в борьбе против сибирской язвы. В начале 20-х годов прошлого века в Украине начали применять вакцинопрофилактику данного заболевания, что привело к уменьшению вспышек сибирской язвы. В статье представлена сравнительная оценка существующих вакцин против сибирской язвы, а именно: Вакцина против сибирской язвы животных «Антравак», Вакцина против сибирской язвы животных из

штамма Sterne 34F2, Херсон, Вакцина живая споровая против сибирской язвы животных из штамма «СБ» жидкая, Вакцина жива против против сибирской язвы животных из штамма «К-79Z».

Ключевые слова: *Bacillus anthracis, вакцины, селекция, лабораторные животные*

COMPARATIVE EVALUATION VACCINES AGAINST ANTHRAX

V. Slupskaya, U. Yanenko, N. Kosyanchuk,

N. Sorokina. A. Vorobjova.

Total vaccination of favorable stock is an effective measure in campaign against the anthrax. In the 1920ies specialists started to use prevention vaccination in Ukraine, which led to the reduction of anthrax. In our article we give a comparative evaluation of existing vaccines against the anthrax such as a vaccine against anthrax animals "Antravak", a vaccine against anthrax of animals of strain Sterne 34F2, Kherson, live spore vaccine against anthrax of animals of "SB" liquid, live vaccine against anthrax of animals of strain "K-79Z» .

Keywords: *Bacillus anthracis, vaccines, selection, laboratory animals*