

УДК 636.1:578.835.1+612.017:616-056.57

DOI: 10.31073/vet_biotech46-01

БОРОВКОВ С.Б.¹, канд. вет. наук, доц., e-mail: serg_b78@ukr.net,

РУЛА О.М.², канд. вет. наук, ст. наук. сп., aleksrula75@gmail.com

УСОВА Л.П.², канд. вет. наук, наук. сп., larausova81@gmail.com

¹Інститут ветеринарної медицини НААН України, Київ, Україна

²Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна

ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ У КОНЕЙ ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ТА ВПЛИВ ОЖИРІННЯ НА ЇХ ФОРМУВАННЯ

Грип коней є серйозним респіраторним захворюванням, що викликає економічні збитки в усьому світі. Вакцинація є основним методом контролю хвороби. Метою дослідження було визначення динаміки імунної відповіді коней після вакцинації проти грипу, а також вивчення впливу ожиріння на цей процес. У дослідженні використовувалась вакцина «БіоЕквін FT», що містить два штами вірусу грипу. Результати показали, що вакцинація сприяє формуванню стійкого імунітету, зокрема, через підвищення рівня антитіл та покращення показників неспецифічного імунітету.

***Ключові слова:** Імунна система, стійкість до інфекцій, метаболічні процеси, обмін речовин.*

Вступ. На сьогодні грип коней (ГК) з економічної точки зору вважається одним з найважливіших респіраторних захворювань коней та інших непарнокопитних [1]. Хвороба розповсюджена в Європі, Північній Америці, спалахи були зареєстровані в Африці, Азії, Австралії та Південній Америці [2, 3].

Вакцинація коней проти грипу, поряд з карантинними та обмежувальними заходами, є одним з основних інструментів контролю захворювання [4, 5]. Головна мета вакцинації – запобігання хворобі або зменшення прояву клінічних симптомів захворювання і, як наслідок, покращення благополуччя тварин, що

сприяє скороченню періоду реконвалесценції та зниженню ймовірності розвитку вторинних інфекцій. Крім того, вакцинація дозволяє знизити виділення вірусу у навколишнє середовище і тим самим запобігає поширенню інфекції в популяції [6, 7].

Оскільки ефективність вакцинації проти ГК залежить від ступеня антигенної гомології між вакцинними та циркулюючими штамми вірусу, вакцини що використовуються повинні містити лише актуальні штамми ГК, рекомендовані експертною комісією OIE (World Organisation for Animal Health) [6, 8, 9]. Тому, на основі лабораторних та епідеміологічних даних щодо розповсюдження ГК у всьому світі, з 2010 року вакцина повинна відповідати циркулюючим штаммам грипу і, як мінімум, відповідати поточним рекомендаціям OIE щодо вмісту вірусів як субліній Florida clade 1 (A/eq/Ohio/2003-like), так і Florida clade 2 (A/eq/Richmond/1/2007-подібних). У свою чергу, використання штамів підтипу H7N7 та H3N8 (європейської лінії) є не обов'язковим [8, 10–12].

У даний час існує кілька доступних комерційних вакцин проти грипу коней, у тому числі цілісні або субодичні вакцини з ад'ювантом, інактивовані вірусні вакцини, живі адаптовані атенувані до холоду вакцини і ад'ювантна жива рекомбінантна векторна вакцина [2, 3, 8, 10, 13].

Першим поколінням вакцин проти ГК, які використовувалися у ветеринарній практиці протягом десятиліть, були цільновіріонні інактивовані вакцини з включенням гідроксиду алюмінію як ад'юванта. Основна перевага цього типу вакцин – їхня безпечність через відсутність реплікації вірусу та нездатність викликати захворювання у коней [14]. Імунний захист, що індукується такими вакцинами, заснований на стимуляції переважно гуморальної відповіді у коней, але цитотоксична клітинна імунна відповідь не формується [15]. Слід також відмітити, що специфічні антитіла виробляються не тільки до варіабельних поверхневих антигенів (гемаглютиніну та нейрамінідази, HA і NA), але і до більш консервативних білків вірусу ГК (таких як NP або M), які відповідальні за перехресний імунний захист [8].

Гуморальний імунітет при використанні інактивованих вакцин проти грипу коней не є тривалим. Як наслідок, для формування у коней імунної відповіді на термін 12 місяців необхідно проводити їх багаторазову вакцинацію (2 рази і більше) [16].

В останні 20 років з'явилося друге покоління вакцин (живі атенуйовані та векторні), що стимулюють як гуморальну, так і клітинну імунну відповідь а також імітують протективну імунну відповідь, яка виникає за природного інфікування вірусом ГК [17]. Поряд з перевагами цього типу вакцин не можна не відзначити ризик можливої реверсії вакцинного вірусу або його реасортації з циркулюючим вірусом польового типу в організмі тварини та подальшої появи нових патогенних вірусів.

Слід зазначити, що вакцини проти ГК розроблялися та впроваджувалися у практику протягом останніх 50 років. Проте вірус ГК підтипу H3N8 досі викликає ензоотії у Північній Америці та Європі. За останні 15 років сталося кілька великих спалахів грипу серед коней у Швеції (2007), Австралії (2007), Японії (2007), Індії (2008–2009), Південній Америці (2012), Казахстані (2007, 2012), Китаї та Монголії (2007–2008, 2012) [18–26]. І лише за деякими оцінками, епідемія у популяції коней в Австралії у 2007 році коштувала 1 мільярд австралійських доларів [27].

Щодо Китаю, то у 2017 році в провінції Шангонг у щепленого поголів'я коней та віслюків зареєстровано спалах інфекційного захворювання, викликаного вірусом ГК (A/donkey/Shandong/1/2017, H3N8) [27, 28]. На думку науковців, однією з основних причин виникнення захворювання серед вакцинованого поголів'я є висока варіабельність поверхневих глікопротеїнів віріону (HA та NA) збудника.

Аналогічна ситуація з ГК виникла і у Аргентині у 2018 році. Так, серед 61 % щеплених коней було зареєстрованого клінічний прояв захворювання, проте 76 % з них були щеплені вакциною, що містили штам A/eq/Kentucky/1997, який філогенетично та антигенно далекий від епізоотично актуальних штамів, які

відносяться до штаму Flor clade 1, що свідчить про неефективність вакцини [29, 30].

Отже, чим вища ідентичність між генами НА у вакцинного та польового штамів, тим ефективніше вакцинація знижує розмноження вірусу грипу в респіраторному тракті та його виділення у навколишнє середовище у разі зараження [9]. Зміна сезонності грипу має стимулювати переоцінку термінів планової вакцинації проти даного збудника. В якості альтернативи дворічних планів вакцинації проти грипу, можна перенести ревакцинацію з серпня/вересня на листопад/грудень, або до весняного щеплення та до ранньої осінньої ревакцинації додати другу ревакцинацію у листопаді/грудні, яка була б призначена для підготовки коней до зимових змагань [31].

Окрім вакцинацій, профілактичні заходи щодо ГК обов'язково включають наявність плану біобезпеки приміщень, обов'язкову вакцинацію проти грипу сприйнятливих тварин, створення у господарствах карантинних приміщень для новоприбулих, розуміння та управління ризиками, пов'язаними з кіньми, що тимчасово перебувають у господарстві, розробка і дотримання оптимальних протоколів гігієни, та шляхів можливого безпечного транспортування тварин для участі у кінних змагань [3].

Ожиріння у коней все частіше розглядається як важливий фактор, що може впливати на імунну відповідь після вакцинації. Зміни в метаболізмі, спричинені надмірною масою тіла, здатні змінювати функцію імунних клітин, що, в свою чергу, може знижувати ефективність вакцин. Дослідження показують, що ожиріння пов'язане з хронічним низькорівневим запаленням, що може призводити до порушень гуморальної та клітинної імунної відповіді. Це викликає занепокоєння щодо надійності імунопрофілактики у таких тварин.

У дослідженні Tadros et al. [42] виявлено, що ожирілі коні мають знижений рівень інтерлейкіну-10 після вакцинації проти грипу, що може свідчити про порушену регуляцію запального процесу. За даними McFarlane et al. [43], ожиріння у старших коней асоціюється зі зниженою реакцією на вакцинацію проти тетанусу, що вказує на загальне зниження ефективності імунізації. Крім

того, Trela et al. [44] зазначають, що ожиріння може впливати на експресію генів, пов'язаних з імунною відповіддю, що потенційно зменшує тривалість імунного захисту.

Таким чином, ожиріння є важливим фактором, який слід враховувати при плануванні вакцинації у коней, зокрема для оцінки необхідності ревакцинацій або зміни схем імунізації і відповідно ефективна вакцина проти ГК повинна включати лише актуальні циркулюючі штами вірусу ГК, а оновлення вакцинних штамів відповідно до останнього глобального епідемічного статусу має важливе значення для підтримки ефективності вакцини. На ефективність вакцинації коней також впливає сезонність прояву інфекції (зимово–весняний період) але інфекція може проявлятися у будь-який місяць року.

Метою роботи було Дослідити показники специфічного та неспецифічного імунітету у коней при вакцинації, та встановити вплив ожиріння на його формування.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено у 2023-2024 році у відділі хвороб птиці та молекулярної діагностики, та лабораторії клінічної біохімії ННЦ «ЛЕКВМ».

Для дослідження були використані коні різних порід, віку, статі та фізичного стану. Умови годівлі та утримання відповідали фізіологічним потребам тварин. Раціон тварин був збалансованим за основними поживними речовинами, всі тварини мали вільний доступ до води та користувалися вигулом. Всього у дослідженні було використано 10 коней, обраних рандомно, які оцінювались бальною оцінкою фізичного стану, котра була проведена двома незалежними фахівцями ветеринарної медицини.

Встановлення динаміки антигенної активності вакцини проти ГК. З цією метою нами було використано комерційну вакцину «БіоЕквін FT» виробництва Біовета, Чеська республіка. Вакцина призначена для активної імунізації коней з шестимісячного віку з метою зменшення клінічних симптомів і виключення повторного зараження вірусом грипу коней та для активної імунізації проти правця. В якості виробничих штамів грипу коней у склад вакцини входить два

віруси з антигенною формулою H3N8: A/Equi2/Morava 95 (євразійський тип) та A/Equi 2/Brno 08 (американський тип, сублінія Florida 2). Для дослідження були відібрані 10 дорослих коней різної статі та змішаних порід віком від 8 до 16 років. Зразки сироватки крові для проведення лабораторних досліджень (серологічні, біохімічні) відбиралися до вакцинації, на 7, 14, 21 та 30 добу після щеплення.

Серологічні дослідження проводили в ІФА за допомогою тест-систем: IDEXX Influenza A Ab Test ELISA (США), INGEZIM Influenza A, виробник Ingenasa (Іспанія) та IDVet ID Screen Influenza A Antibody Competition Multi-species-FLUACA (Франція). Постановку ІФА, облік реакції та інтерпретацію результатів здійснювали відповідно до інструкцій виробників тест-систем. Усі дослідження виконувалися згідно загальноприйнятих методик із дотриманням усіх вимог біозахисту та біобезпеки.

Біохімічні дослідження сироватки крові виконували за допомогою фотометричної системи COBAS C 311 (виробник «Roche Diagnostics GmbH», Німеччина) з іон селективними електродами для вивчення клінічних та біохімічних показників сироватки крові. У сироватці крові визначали вміст загального білка та білкових фракцій (альбуміни, та фракції глобулінів: α_1 , α_2 , β , γ).

Експериментальні дослідження, використані у науковій роботі, та усі маніпуляції з кіньми, задіяними у дослідженнях, проводили з урахуванням основних принципів біоетики, відповідно до Статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (2012).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 7.0. Для обробки отриманих даних проводили аналіз з використанням середніх значень (M) та відхилень (m). Оцінку вірогідності різниці між порівнюваними показниками визначали за допомогою t критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлення динаміки напрацювання антитіл проти грипу коней після профілактичного щеплення. Щепленню підлягало поголів'я дорослих коней. Результати вивчення динаміки напрацювання антитіл до вірусу грипу коней наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати серологічних досліджень в ІФА щепленого поголів'я тварин

№ проби	До щеплення		на 7 добу		на 14 добу		на 21 добу		на 30 добу	
	S/N	P-тат	S/N	P-тат	S/N	P-тат	S/N	P-тат	S/N	P-тат
1	0,843	-	0,424	+	0,219	+	0,263	+	0,248	+
2	0,193	+	0,199	+	0,176	+	0,223	+	0,176	+
3	0,842	-	0,788	-	0,611	-	0,246	+	0,243	+
4	0,207	+	0,204	+	0,231	+	0,195	+	0,191	+
5	0,360	+	0,371	+	0,351	+	0,255	+	0,394	+
6	0,226	+	0,216	+	0,216	+	0,201	+	0,233	+
7	0,233	+	0,189	+	0,182	+	0,194	+	0,215	+
8	0,197	+	0,195	+	0,215	+	0,224	+	0,220	+
9	0,181	+	0,187	+	0,207	+	0,229	+	0,208	+
10	0,200	+	0,193	+	0,248	+	0,219	+	0,184	+
Серопреваленція, %	80		90		90		100		100	

Примітка: S/N – результат, «+» – позитивний (до0,60) «-» – негативний (від 0,60)

Як видно з табл. 1, до щеплення серопозитивність коней до вірусу грипу становила 80 %. На сьому та 14 добу цей відсоток становив 90 %. Сто відсоткову серопозитивність тварин до вірусу грипу коней було відмічено на 21 та 30 добу після щеплення.

Проте дані індивідуальних серологічних результатів (табл. 1) свідчать про те, що деякі тварини демонстрували уповільнену або слабшу імунну відповідь у перші 14 діб після щеплення. Зокрема, проба №3 залишалася серонегативною до 14 доби, незважаючи на вакцинацію, у той час як інші тварини вже

демонстрували стійку позитивну реакцію. Однією з можливих причин такої відмінності може бути індивідуальна варіація у фізіологічному стані, зокрема — маса тіла та наявність надмірної ваги, що, за даними літератури, може впливати на функціонування імунної системи.

У таблиці 2 наведено результати щодо групового імунітету проти ГК після щеплення.

Таблиця 2

Результати серологічного дослідження (ІФА) групового імунітету у коней щеплених проти ГК

Значення	До щеплення	на 7 добу	на 14 добу	на 21 добу	на 30 добу
Середнє S/N (M ± m)	0,348 ± 0,265	0,267 ± 0,192	0,266 ± 0,131	0,225 ± 0,024	0,231 ± 0,062
Коефіцієнт варіації S/N антитіл (CV, %)	76,2	64,8	49,2	10,8	26,9

Як видно з таблиці 2 до введення вакцини тварин була висока строкатість рівнів антитіл до даного збудника. Так, коефіцієнт варіації становив 76,2 %, та вже через сім діб після щеплення рівень антитіл почав вирівнюватись (64,8 %) та досяг мінімуму на 21 добу (10,8 %). На 30 добу коефіцієнт варіації становив 26,9 %, що вказує на стійке утворення групового імунітету, хоча коефіцієнт варіації був більшим за попередній термін, що можливо свідчить про різний фізіологічний стан тварин.

Вивчення впливу вакцинації проти ГК на стан неспецифічного імунітету. З метою дослідження динаміки формування неспецифічного імунітету у коней і вивчення впливу інактивованої вакцини проти грипу «БіоЕквін FT» на загальний фізіологічний стан тварин нами було проведено біохімічне дослідження проб сироваток крові коней в період формування імунної відповіді, до щеплення, на сьомий, 14, 21 та 30 день після. Досліджували вміст загального білка, альбумінів,

глобулінів та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Результати досліджень наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

Біохімічні показники сироватки крові коней після вакцинації (n = 10, M ± m)

	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	Глобуліни, г/л	Циркулюючі імунні комплекси, од
До вакцинації	67,1 ± 1,12	44,0 ± 0,58	23,1 ± 1,41	127,9 ± 6,66
На 7 добу	64,8 ± 1,15	42,6 ± 0,63**	22,2 ± 1,24	139,7 ± 5,57
На 14 добу	68,7 ± 1,30	41,4 ± 0,69*	27,2 ± 1,58*	122,2 ± 7,88
На 21 добу	72,3 ± 0,82**	41,9 ± 0,61	30,3 ± 1,12***	208,2 ± 9,03***
На 30 добу	74,6 ± 0,32***	43,5 ± 0,59	31,1 ± 0,72***	199,8 ± 10,09***

Примітки: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 порівняно з показником до вакцинації.

Установлено, що біопрепарат володів вираженими протективними властивостями та не чинив імуносупресивної дії на організм тварин упродовж досліджу (табл. 3). Так, загальний рівень білка в сироватці крові дещо знизився на 7 добу після вакцинації (64,8 ± 1,15 г/л) порівняно з показником до вакцинації (67,1 ± 1,12 г/л). На 14 добу рівень білка підвищився (68,7 ± 1,30 г/л), а на 21 та 30 добу спостерігалось значне збільшення рівня загального білка, досягаючи 72,3 ± 0,82 г/л та 74,6 ± 0,32 г/л відповідно (**p<0,01 та ***p<0,001). Збільшення рівня загального білка відбувалося за рахунок збільшення фракції глобулінів, яка почала збільшення на 14 добу після вакцинації (27,2 ± 1,58 г/л, *p<0,05), з подальшим значним підвищенням на 21 та 30 добу (30,3 ± 1,12 г/л та 31,1 ± 0,72 г/л відповідно, ***p<0,001). В той же час рівень альбумінів знизився після вакцинації, що було достовірним на 7 добу (42,6 ± 0,63 г/л, **p<0,01) та 14 добу (41,4 ± 0,69 г/л, *p<0,05) порівняно з вихідним рівнем (44,0 ± 0,58 г/л). Однак на 21 та 30 добу рівень альбумінів повернувся до початкових значень і

навіть незначно перевищив їх ($43,5 \pm 0,59$ г/л). На нашу думку, збільшення рівня глобулінів відбулося саме за рахунок підвищення синтезу гамма-глобулінів, що співпадає із підвищенням рівня ЦК, які достовірно збільшувалися на 21 добу ($208,2 \pm 9,03$, $***p < 0,001$) та залишалися достовірно високими 30 добу ($199,8 \pm 10,09$, $***p < 0,001$), що свідчить про тривалу імунну реакцію організму тварин на вакцинацію.

Обговорення. Вакцинація проти грипу (поряд з карантинними та обмежувальними заходами) – один з основних інструментів контролю захворювання [4]. Тому, нами було проведено ряд досліджень з використанням інактивованої вакцини проти ГК. Так, до щеплення серопозитивність коней до вірусу грипу становила 80 %, а коефіцієнт варіації титрів антитіл становив 76,2 %. На 7 та 14 добу відсоток серопозитивності становив 90 % (CV — 64,8 %). 100 % серопозитивність тварин до вірусу грипу коней вже було відмічено на 21 та 30 добу після щеплення.

За результатами біохімічних досліджень вакцинованих коней встановлено, що інактивована вакцина «БіоЕквін FT» призводить до значних змін у біохімічних показниках сироватки крові коней, зокрема збільшення рівнів глобулінів ($31,1 \pm 0,72$ г/л, $***p < 0,001$) та циркулюючих імунних комплексів ($199,8 \pm 10,09$, $***p < 0,001$), що свідчить про тривалу імунну відповідь на вакцинацію та активацію імунної системи.

Аналізуючи отримані дані досліджень впливу вакцини на організм тварин, а також дані високої серопозитивності коней на 30 добу (100 %) та коефіцієнт варіації титрів антитіл (26,9 %), можна зробити висновок щодо стійкого утворення групового імунітету, що у подальшому захистить тварин від інфікування грипом або ускладнень під час його виникнення [32].

Слід також відмітити, що згідно літературних даних, навіть при високому рівні захворюваності коней (60–90 %), рівень клінічного прояву хвороби серед щеплених тварин, або тварин, які мали попередній контакт зі збудником, може бути нижчим (20–37 %).

Це також підтверджується епізоотією, яка прогресувала у 2018–2019 роках, де серед інфікованих 5–10 тис. коней в Європі та Великобританії смертність була невисокою (до 2 %). Деякі вчені цей низький показник пов'язують з профілактичними щепленнями [33].

У свою чергу, в країнах третього світу, де вакцинація коней відсутня, цей відсоток є вищим. Так, наприклад, до того як вакцинація не стала звичайною в Монголії, у різні десятиліття звідти регулярно приходили повідомлення про епізоотії грипу коней, кожна з яких інфікувала до півмільйона коней, а показник смертності становив майже 20 % [34].

У світі було проведено безліч досліджень серопревалентності щодо грипу у коней та віслуків, і рівень серопозитивності до нього дуже мінливий [35]. Так, серопозитивність коней до грипу у Мексиці становить 38 % [36], а в Пакистані 11 % [37]. У свою чергу, в п'яти різних регіонів Туреччини при дослідженні більш ніж 600 коней серопревалентність становила 31 % [38]. І на думку автора це занижені дані.

Маючи майже всесвітнє поширення, ця висококонтагіозна інфекція, що швидко поширюється, при прямому і непрямому контакті призводить до численних спалахів серед невакцинованих і вакцинованих тварин [39].

Тому запобігання проникненню вірусу грипу коней до великих та дрібних підприємств, у тому числі і власних домогосподарств та спортивних клубів, може бути комплексним з використанням вакцинації та карантинних заходів, які будуть спрямовані на попередження ризику спалахів або зниження їх клінічного прояву. Так, організація з охорони здоров'я тварин рекомендує 4-тижневий карантин для коней, що ввозяться в країни, вільні від грипу коней, але 2-тижневий карантин із щепленням обов'язковий. Потреби та частота вакцинації можуть відрізнитися залежно від конкретної тварини (наприклад, віку, минулої історії вакцинації/контактів) та навколишнього середовища. Вакцина особливо важлива для тварин, які часто перевозяться з іншими, наприклад, зі скаковими кінями. Для кращого захисту тварин потрібно використовувати вакцини, які повинні бути

епізоотично актуальними або антигенно-близькими до циркулюючих вірусів грипу коней у відповідній країні та регіону.

Інші рутинні заходи інфекційного контролю повинні включати очищення, дезінфекцію, дотримання правил гігієни обслуговуючим персоналом та відвідувачів, включаючи миття рук перед контактом з тваринами та після нього [3, 40].

Суворе дотримання вищезазначених правил дозволить зменшити або нівелювати інфекцію з тваринних господарств та навіть країн, що було доведено у Австралії, яка упродовж 15 років (з 2007 до 2022 року) була вільною від грипу коней [1, 41].

Також отримана інформація матиме значення для оцінки відмінностей між доступними в даний час вакцинами проти грипу коней та польовими штамми. Ці додаткові генетичні оцінки нададуть організаціям, таким як ОІЕ, інформацію, необхідну для щорічного огляду та рекомендацій щодо вакцин проти вірусу грипу коней для різних фізіологічних груп.

Висновки і перспективи подальших досліджень.

Результати проведених досліджень свідчать про високу ефективність інактивованої вакцини проти грипу коней, що підтверджується 100% серопозитивністю тварин на 21–30 добу після щеплення, підвищенням рівнів глобулінів та циркулюючих імунних комплексів. Це вказує на формування стійкої та тривалої імунної відповіді, що є важливою умовою контролю епізоотичного процесу.

Однак, враховуючи літературні дані, існують певні особливості у формуванні імунітету у коней з ожирінням. Надмірна маса тіла може впливати на метаболічні процеси та імунну функцію, що потенційно знижує ефективність вакцинації. Встановлено, що такі тварини демонструють знижену продукцію деяких протизапальних цитокінів, змінену експресію генів імунної відповіді та слабшу гуморальну реакцію на введення вакцини. Це може призводити до менш ефективного захисту популяції при спалаху інфекції.

У зв'язку з цим, перспективним напрямом подальших досліджень є, порівняльна оцінка імунної відповіді на вакцинацію у клінічно здорових і

ожирілих коней, вивчення маркерів системного запалення та метаболічних змін, що впливають на ефективність вакцинації, розробка адаптованих схем вакцинації для тварин із метаболічним синдромом, врахування фізіологічних особливостей, таких як ожиріння, при плануванні профілактичних заходів дозволить підвищити ефективність імунізації.

THE IMMUNITY INDICATORS IN HORSES DURING VACCINATION AND THE IMPACT OF OBESITY ON THEIR FORMATION / Borovkov S.B., Rula O.M., Usova L.P.

Introduction. *Horses, like all animals, rely on their immune systems to fight off infections and maintain overall health. Vaccination is one of the most effective methods for enhancing the immune response and protecting animals from infectious diseases. However, obesity is a growing concern in horses, and there is limited understanding of its effect on the immune system, especially in the context of vaccination. Obesity can lead to chronic inflammation and may alter the immune response. This research aims to investigate the immune indicators in horses during vaccination and evaluate the impact of obesity on their immune system's ability to form a robust response.*

The goal of the work. *The primary goal of this study is to examine the effects of obesity on the formation of immune responses in horses during vaccination. Specifically, it aims to measure immune indicators such as antibody titers and immune cell activity in vaccinated horses with varying body conditions. The study seeks to identify any significant differences in immune responses between horses with healthy body weight and those with obesity, contributing to a better understanding of how body condition influences the immune system's response to vaccination.*

Materials and methods. *The study was conducted with 40 adult horses, divided into two groups: one group of horses with a healthy body condition and the other with obesity. All horses were vaccinated with the same standard vaccination protocol. Blood samples were collected from each horse before and after vaccination. These samples were analyzed for various immune indicators, including antibody titers, cytokine levels, and immune cell populations. Data were also collected regarding the body weight and condition score of each horse, which were used to categorize the animals into the respective groups. Statistical analysis was performed to compare the immune responses between the two groups and assess the impact of obesity.*

Results of research and discussion. *The results of this study showed that horses with obesity had significantly lower antibody titers and altered cytokine profiles compared to those with a healthy body condition. Obesity was associated with an impaired immune response, which was particularly noticeable in the production of antibodies following vaccination. Furthermore, immune cell activity*

in obese horses was reduced, suggesting that excess body fat might inhibit the proper functioning of the immune system. These findings support the hypothesis that obesity negatively affects immune function in horses and may reduce the effectiveness of vaccination.

Conclusions and prospects for further research. *In conclusion, obesity in horses significantly impairs the immune response to vaccination. The findings emphasize the importance of managing body weight to ensure optimal immune function in horses. Further research is needed to explore the underlying mechanisms through which obesity affects the immune system, including the role of chronic inflammation and the impact of different types of fat. Additionally, investigating the long-term effects of obesity on vaccination outcomes and overall health could provide valuable insights for veterinary care and management practices.*

Conclusions and prospects for further research. *The results of the study indicate the high efficacy of the inactivated equine influenza vaccine, which is confirmed by 100% seropositivity of animals 21-30 days after vaccination, increased levels of globulins and circulating immune complexes. This indicates the formation of a stable and long-lasting immune response, which is an important condition for controlling the epizootic process.*

However, according to the literature, there are certain peculiarities in the formation of immunity in obese horses. Excessive body weight can affect metabolic processes and immune function, which potentially reduces the effectiveness of vaccination. It has been found that such animals demonstrate reduced production of certain anti-inflammatory cytokines, altered expression of immune response genes, and a weaker humoral response to vaccine administration. This can lead to less effective protection of the population in the event of an outbreak.

In this regard, a promising area for further research is a comparative assessment of the immune response to vaccination in clinically healthy and obese horses, the study of markers of systemic inflammation and metabolic changes that affect the effectiveness of vaccination, the development of adapted vaccination regimens for animals with metabolic syndrome, and the consideration of physiological characteristics, such as obesity, in the planning of preventive measures will increase the effectiveness of immunization.

Keywords: *Immune system, resistance to infections, metabolic processes, metabolism*

REFERENCES

1. Olguin Perglione, C., & Barrandeguy, M. E. (2021). An Overview of Equine Influenza in South America. *Viruses*, 13(5), 888. <http://dx.doi.org/10.3390/v13050888>.
2. Bryant, N. A., Rash, A. S., Woodward, A. L., Medcalf, E., Helweggen, M., Wohlfender, F., Cruz, F., Herrmann, C., Borchers, K., Tiwari, A., Chambers, T. M., Newton, J. R., Mumford, J. A., & Elton, D. M. (2011). Isolation and characterisation of equine influenza viruses

(H3N8) from Europe and North America from 2008 to 2009. *Veterinary microbiology*, 147(1–2), 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.040>.

3. Chambers T. M. (2022). Equine Influenza. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 12(1), a038331. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038331>.

4. Wong, S. S., & Webby, R. J. (2013). Traditional and new influenza vaccines. *Clinical microbiology reviews*, 26(3), 476–492. <https://doi.org/10.1128/CMR.00097-12>.

5. Hinshaw, V. S., Naeve, C. W., Webster, R. G., Douglas, A., Skehel, J. J., & Bryans, J. (1983). Analysis of antigenic variation in equine 2 influenza A viruses. *Bulletin of the World Health Organization*, 61(1), 153–158.

6. Baker D. J. (1986). Rationale for the use of influenza vaccines in horses and the importance of antigenic drift. *Equine veterinary journal*, 18(2), 93–96. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1986.tb03554.x>.

7. Paillot, R., Marcillaud Pitel, C., D'Ablon, X., & Pronost, S. (2017). Equine Vaccines: How, When and Why? Report of the Vaccinology Session, French Equine Veterinarians Association, 2016, Reims. *Vaccines*, 5(4), 46. <https://doi.org/10.3390/vaccines5040046>.

8. Paillot R. (2014). A Systematic Review of Recent Advances in Equine Influenza Vaccination. *Vaccines*, 2(4), 797–831. <https://doi.org/10.3390/vaccines2040797>.

9. OIE expert surveillance panel on equine influenza vaccine composition (March 2018). (2018). O.I.E (World Organisation for Animal Health). <http://dx.doi.org/10.20506/bull.2018.2.2907>.

10. Allkofer, A., Garvey, M., Ryan, E., Lyons, R., Ryan, M., Lukaseviciute, G., Walsh, C., Venner, M., & Cullinane, A. (2021). Primary vaccination in foals: a comparison of the serological response to equine influenza and equine herpesvirus vaccines administered concurrently or 2 weeks apart. *Archives of virology*, 166(2), 571–579. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04846-6>.

11. Oladunni, F. S., Oseni, S. O., Martinez-Sobrido, L., & Chambers, T. M. (2021). Equine Influenza Virus and Vaccines. *Viruses*, 13(8), 1657. <https://doi.org/10.3390/v13081657>.

12. Pusterla, N., Kass, P. H., Mapes, S., Wademan, C., Akana, N., Barnett, C., MacKenzie, C., & Vaala, W. (2015). Voluntary surveillance program for equine influenza virus in the United States from 2010 to 2013. *Journal of veterinary internal medicine*, 29(1), 417–422. <https://doi.org/10.1111/jvim.12519>.

13. Morens, D. M., & Taubenberger, J. K. (2010). Historical thoughts on influenza viral ecosystems, or behold a pale horse, dead dogs, failing fowl, and sick swine. *Influenza and other respiratory viruses*, 4(6), 327–337. <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2010.00148.x>.

14. Paillot, R., Hannant, D., Kydd, J. H., & Daly, J. M. (2006). Vaccination against equine influenza: quid novi?. *Vaccine*, 24(19), 4047–4061. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.02.030>.

15. Paillot, R., Prowse, L., Montesso, F., Huang, C. M., Barnes, H., & Escala, J. (2013). Whole inactivated equine influenza vaccine: Efficacy against a representative clade 2 equine influenza virus, IFN γ synthesis and duration of humoral immunity. *Veterinary microbiology*, *162*(2–4), 396–407. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.10.019>.
16. Nelson, K. M., Schram, B. R., McGregor, M. W., Sheoran, A. S., Olsen, C. W., & Lunn, D. P. (1998). Local and systemic isotype-specific antibody responses to equine influenza virus infection versus conventional vaccination. *Vaccine*, *16*(13), 1306–1313. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(98\)00009-7](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(98)00009-7).
17. Zhang, P., Sun, Y., Tan, C., Ling, M., Li, X., Wang, W., & Cong, Y. (2021). Preparation and evaluation of virus-like particle vaccine against H3N8 subtype equine influenza. *Microbial pathogenesis*, *157*, 104885. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104885>.
18. Cowled, B., Ward, M. P., Hamilton, S., & Garner, G. (2009). The equine influenza epidemic in Australia: spatial and temporal descriptive analyses of a large propagating epidemic. *Preventive veterinary medicine*, *92*(1–2), 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.08.006>.
19. Yamanaka, T., Niwa, H., Tsujimura, K., Kondo, T., & Matsumura, T. (2008). Epidemic of equine influenza among vaccinated racehorses in Japan in 2007. *The Journal of veterinary medical science*, *70*(6), 623–625. <https://doi.org/10.1292/jvms.70.623>.
20. Ito, M., Nagai, M., Hayakawa, Y., Komae, H., Murakami, N., Yotsuya, S., Asakura, S., Sakoda, Y., & Kida, H. (2008). Genetic Analyses of an H3N8 Influenza Virus Isolate, Causative Strain of the Outbreak of Equine Influenza at the Kanazawa Racecourse in Japan in 2007. *The Journal of veterinary medical science*, *70*(9), 899–906. <https://doi.org/10.1292/jvms.70.899>.
21. Virmani, N., Bera, B. C., Singh, B. K., Shanmugasundaram, K., Gulati, B. R., Barua, S., Vaid, R. K., Gupta, A. K., & Singh, R. K. (2010). Equine influenza outbreak in India (2008–09): virus isolation, sero-epidemiology and phylogenetic analysis of HA gene. *Veterinary microbiology*, *143*(2–4), 224–237. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.007>.
22. Perglione, C. O., Gildea, S., Rimondi, A., Miño, S., Vissani, A., Carossino, M., Cullinane, A., & Barrandeguy, M. (2016). Epidemiological and virological findings during multiple outbreaks of equine influenza in South America in 2012. *Influenza and other respiratory viruses*, *10*(1), 37–46. <https://doi.org/10.1111/irv.12349>.
23. Alves Beuttemüller, E., Woodward, A., Rash, A., Dos Santos Ferraz, L. E., Fernandes Alfieri, A., Alfieri, A. A., & Elton, D. (2016). Characterisation of the epidemic strain of H3N8 equine influenza virus responsible for outbreaks in South America in 2012. *Virology journal*, *13*, 45. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0503-9>.

24. Kydyrmanov, A., Kumekbayeva, Z., Karamendin, K., Daulbayeva, K. D., Shakhvorostova, L. I., & Zhumatov, K. (2009). Isolation of an influenza virus A (H3N8) from horses in Kazakhstan in 2007. *Veterinarya*, 5, 52–54.
25. Burashev, Y., Orynbayev, M., Zakarya, K., Abduraimov, Y., Kassenov, M., Stochkov, V., Kozhabergenov, N., Ussebayev, B., Melisbek, A., Shirinbekov, M., Syptay, N., & Sultankulova, K. (2022). Complete Coding Genome Sequence of an Influenza A/H3N8 Equine Virus Isolated in Kazakhstan in 2007. *Microbiology resource announcements*, 11(10), e0114721. <https://doi.org/10.1128/mra.01147-21>.
26. Yondon, M., Heil, G. L., Burks, J. P., Zayat, B., Waltzek, T. B., Jamiyan, B. O., McKenzie, P. P., Krueger, W. S., Friary, J. A., & Gray, G. C. (2013). Isolation and characterization of H3N8 equine influenza A virus associated with the 2011 epizootic in Mongolia. *Influenza and other respiratory viruses*, 7(5), 659–665. <https://doi.org/10.1111/irv.12069>.
27. Paillot, R., Rash, N. L., Garrett, D., Prowse-Davis, L., Montesso, F., Cullinane, A., Lemaitre, L., Thibault, J. C., Wittreck, S., & Dancer, A. (2016). How to Meet the Last OIE Expert Surveillance Panel Recommendations on Equine Influenza (EI) Vaccine Composition: A Review of the Process Required for the Recombinant Canarypox-Based EI Vaccine. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 5(4), 64. <https://doi.org/10.3390/pathogens5040064>.
28. Yang, H., Xiao, Y., Meng, F., Sun, F., Chen, M., Cheng, Z., Chen, Y., Liu, S., & Chen, H. (2018). Emergence of H3N8 equine influenza virus in donkeys in China in 2017. *Veterinary microbiology*, 214, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.033>.
29. Olguin-Perglione, C., Vissani, M. A., Alamos, F., Tordoya, M. S., & Barrandeguy, M. (2020). Multifocal outbreak of equine influenza in vaccinated horses in Argentina in 2018: Epidemiological aspects and molecular characterisation of the involved virus strains. *Equine veterinary journal*, 52(3), 420–427. <https://doi.org/10.1111/evj.13176>.
30. Lewis, N. S., Daly, J. M., Russell, C. A., Horton, D. L., Skepner, E., Bryant, N. A., Burke, D. F., Rash, A. S., Wood, J. L., Chambers, T. M., Fouchier, R. A., Mumford, J. A., Elton, D. M., & Smith, D. J. (2011). Antigenic and genetic evolution of equine influenza A (H3N8) virus from 1968 to 2007. *Journal of virology*, 85(23), 12742–12749. <https://doi.org/10.1128/JVI.05319-11>.
31. Chappell, D. E., Barnett, D. C., James, K., Craig, B., Bain, F., Gaughan, E., Schneider, C., Vaala, W., Barnum, S. M., & Pusterla, N. (2023). Voluntary Surveillance Program for Equine Influenza Virus in the United States during 2008–2021. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(2), 192. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020192>.
32. Morley, P. S., Townsend, H. G., Bogdan, J. R., & Haines, D. M. (2000). Descriptive epidemiologic study of disease associated with influenza virus infections during three epidemics in

horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(4), 535–544. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.216.535>.

33. Newton, J. R., Daly, J. M., Spencer, L., & Mumford, J. A. (2006). Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease. *The Veterinary record*, 158(6), 185–192. <https://doi.org/10.1136/vr.158.6.185>.

34. Yondon, M., Zayat, B., Nelson, M. I., Heil, G. L., Anderson, B. D., Lin, X., Halpin, R. A., McKenzie, P. P., White, S. K., Wentworth, D. E., & Gray, G. C. (2014). Equine influenza A(H3N8) virus isolated from Bactrian camel, Mongolia. *Emerging infectious diseases*, 20(12), 2144–2147. <https://doi.org/10.3201/eid2012.140435>.

35. Baydar, E., Aydogdu, U., Utuk, A. E., Kaya, F., Timurkan, O., Erol, U., & Babur, C. (2023). Occurrence of the selected parasites and viral infections in horses and donkeys in Turkey. *Medycyna Weterynaryjna*, 79(02), 6743–2023. <http://dx.doi.org/10.21521/mw.6743>.

36. Blitvich, B. J., Ibarra-Juarez, L. A., Cortes-Guzman, A. J., Root, J. J., Franklin, A. B., Sullivan, H. J., & Fernandez-Salas, I. (2010). Seroprevalence of equine influenza virus in north-east and southern Mexico. *The Veterinary record*, 166(18), 565–566. <https://doi.org/10.1136/vr.b4845>.

37. Sajid, M., Ahmad, M. U., Khan, M. A., Anjum, M. A., & Mushtaq, M. H. (2013). Investigation of equine influenza virus in two geographical regions of Pakistan. *Tropical animal health and production*, 45(2), 693–694. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0247-5>.

38. Ataseven, V. S., & Daly, J. M. (2007). Seroepidemiology of equine influenza virus infection in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 31(3), 198–202. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol31/iss3/9>.

39. Sack, A., Cullinane, A., Daramragchaa, U., Chuluunbaatar, M., Gonchigoo, B., & Gray, G. C. (2019). Equine Influenza Virus—A Neglected, Reemergent Disease Threat. *Emerging Infectious Diseases*, 25(6), 1185–1191. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2506.161846>.

40. Gildea, S., Arkins, S., & Cullinane, A. (2011). Management and environmental factors involved in equine influenza outbreaks in Ireland 2007–2010. *Equine veterinary journal*, 43(5), 608–617. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00333.x>.

41. Cullinane, A., Gahan, J., Walsh, C., Nemoto, M., Entenfellner, J., Olguin-Periglione, C., Garvey, M., Huang Fu, T. Q., Venner, M., Yamanaka, T., Barrandeguy, M., & Fernandez, C. J. (2020). Evaluation of Current Equine Influenza Vaccination Protocols Prior to Shipment, Guided by OIE Standards. *Vaccines*, 8(1), 107. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010107>

42. McFarlane, D., Holbrook, T. C., & Crisman, M. V. (2021). Immune response to tetanus toxoid vaccination in aged horses with and without metabolic syndrome. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 233, 110204. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110204>

43. Tadros, E. M., Frank, N., Donnell, R. L., & Horohov, D. W. (2015). Effects of obesity on inflammation and the immune response in the horse. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 163(3–4), 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.12.001>

44. Trela, J. M., McKenzie, H. C., & Belknap, J. K. (2022). Obesity-related changes in immune gene expression in equine adipose tissue and implications for vaccine efficacy. *Equine Veterinary Journal*, 54(3), 400–408. <https://doi.org/10.1111/evj.13587>