

The microscopic changes of the small intestine wall in its various departments were similar, but somewhat different in intensity – the duodenum was the least affected, while the degree of damage in the jejunum was similar. However, the degree of lesion of the mucous membrane of the small intestine was different, even in its adjacent segments (then, lesions of the mucous membrane were segmental).

In the small intestine, the puppies with experimental infection with parvovirus isolate cultured in the heterologous culture of the cells of the lesions have a segmental nature: in some areas the villi have not been altered, on the other – with bare tops, in the third case – partially or almost completely destroyed. Crypts are disorganized, partially or completely destroyed. The degree of disorganization and destruction of the crypts clearly correlates with the degree of destruction of the villi. Local reaction of the system of specific immunity is characterized by hypertrophy of isolated and congested lymphoid nodes. Locally there are small cells of lymphocyte necrosis. There is also swelling and hyperemia of the submucosal basis, grainy dystrophy of smooth muscle cells of the muscular plate of the mucous membrane and muscle. In the nuclei of villi epitheliocytes and crypt, as well as in the nuclei of lymphocytes, eosinophilic inclusions of the corpuscles are detected.

Key words: canine parvoviridae, histological changes, duodenum, jejunum, ileum.

Надійшла 20.04.2018 р.

УДК:619:616.981.51:615.373/383:636.1

РУБЛЕНКО І.О., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет
rubs@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1401-0969>

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОЇ ІМУНІЗУЮЧОЇ ДОЗИ ВАКЦИНИ ВІД СИБІРКИ ІЗ ШТАМУ *BACILLUS ANTHRACIS* UA-07 НА МУРЧАКАХ

На сьогодні питання безпеки здоров'я тварин та людей у наш час є біотероризм. Одним із бактеріальних патогенів, які використовуються як агент є *Bacillus anthracis*. Наведені результати досліджень, проведених на лабораторних тваринах щодо визначення оптимальної імунізуючої дози вакцини Антравак виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07. Встановлено, що патогенний штам *Bacillus anthracis* M-71 зумовлює загибель 100 % мурчаків після підшкірного введення в дозі 10000 спор. 1 МЛД контрольного тест-штаму *Bacillus anthracis* M-71 становила 1×10^6 спор, оскільки спостерігалася загибель мурчаків % склала (на 2–3 добу після введення). Результати проведених досліджень вивчення оптимальної імунізуючої дози штаму *Bacillus anthracis* UA-07 свідчать, що вакцина від сибірки тварин Антравак, виготовлена зі штаму *Bacillus anthracis* UA-07 не спричинювала підвищення температури тіла вище 1 оС від фізіологічної норми, пригнічення, анафілактичного шоку, місцевих реакцій.

Слід відмітити, що доза 5,21 млн спор сприяла захисту 60 % щеплених тварин, тоді як введена у організм мурчаків вища кількість спор – 6,52 млн становила 70 % захисту. Вакцина від сибірки тварин Антравак, виготовлена із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 забезпечує захист мурчаків у дозах 9,12, 10,42, 12,38, 13,03 та 23,45 млн спор на рівні 100 %. Захист мурчаків на рівні 80 % забезпечували дози введеної вакцини у кількості 7,82 млн спор. Дослідження вакцини Антравак показали високий рівень захисту у щеплених тварин від контрольного штаму *Bacillus anthracis* M-71 у дозі 7,82–23,45 млн спор.

Ключові слова: сибірка, профілактика, вакцина, доза, імунізація, *Bacillus anthracis*, Антравак, тварини, штам.

Постановка проблеми. На сьогодні актуальним питанням безпеки здоров'я тварин та людей у наш час є біотероризм. Одним із бактеріальних патогенів, які використовуються як агент є *Bacillus anthracis* [1–2]. Збудник спричинює захворювання на сибірку і може бути використаний для масових уражень, призводить до значних економічних збитків для країн [3–5]. Сибірка клінічно перебігає у кількох формах (шкірна, кишкова, легенева, септична). У чутливих до сибірки травоядних тварин переважно захворювання перебігає у септичній формі. В Україні серед тварин свині є менш сприйнятливі до захворювання, ніж велика рогата худоба. Серед коней, які захворіли на сибірку кількість становила лише 5 % від загальної кількості хворих [6].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для профілактики сибірки розробляють проти-сибіркові вакцини. За кордоном використовують ліцензовану вакцину AVA (Anthrax Vaccine Adsorbed) із штаму V770-NP1-R (США), вакцину з авірулентного штаму Langzhou A16R (Китай) та інші [7, 8].

На території України в результаті проведення щеплень сибірка тварин виникає спорадично [6–7]. За результатами досліджень встановлено, що найбільше хворих тварин за рік спостерігали у Волинській (1994 р.), Луганській (1994 р.), Херсонській (1999 р.), Одеській (2000 р.), Київській (2001 р.) областях [6].

Розвиток вивчення профілактики продовжується і вчені у пошуку кращих показників за використання живих вакцин [8]. Під час розробки вакцинних препаратів різноманітні властивості штамів вивчають на лабораторних тваринах, зокрема на мурчаках. Визначаючи імунний статус у дослідних тварин за сибірки слід враховувати не лише гуморальні й клітинні показники факторів захисту. Механізм формування несприйнятливості під дією протисибіркових вакцин – процес створення антитоксичного імунітету. Merkel T.J. із співавторами стверджують про необхідність перевірки напруженості імунітету (стійкості до протисибіркового токсину) вакцини від сибірки тварин на лабораторних тваринах [8–15].

Мета дослідження полягала у вивченні оптимальної імунізуючої дози вакцини від сибірки тварин Антравак, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 на лабораторних тваринах.

Матеріал і методика досліджень. У роботі використали експериментальну серію вакцини від сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 Антравак. Як контрольний штам (штам пробійник) використовували *Bacillus anthracis* M–71 із колекції Національного центру штамів мікроорганізмів.

Визначення патогенної активності тест-штаму *Bacillus anthracis* M–71 було проведено на мурчаках масою 350–400 г. [16]. Концентрацію спор визначали в камері Горяєва. Проводили розведення штаму суспензії спор в ізотонічному розчині натрію хлориду і підшкірно із внутрішньої поверхні правого стегна заражали мурчаків. Спостереження за тваринами проводили протягом 10 діб. Фіксували гибель дослідних тварин.

Для визначення оптимальної імунізуючої дози створеної живої спорової вакцини використали Серію вакцини №1, яка містила 13,03 млн. спор/см³. Визначення кількості спор в 1 см³ проводили шляхом посіву розведень вакцини (10⁻⁵ і 10⁻⁶) на середовище МПА у бактеріологічних чашках, які інкубували 24 години за температури 37 °С. Кількість живих спор в 1 см³ визначали за формулою:

$$N = \frac{N5 + N6}{1,1}$$

де N5 – середнє арифметичне число колоній, які вирости в бактеріологічних чашках за посіву з розведення 10⁻⁵; N6 – середнє арифметичне число колоній, які вирости в бактеріологічних чашках за посіву з розведення 10⁻⁶; 1,1 – постійний коефіцієнт.

Із розведення 10⁻⁵ (кількість життєздатних спор у 1 см³) було підраховано на живильному середовищі на трьох бактеріологічних чашках: на першій чашці 34 КУО, другій – 35, третій – 13 КУО; із розведення 10⁻⁶ виростило на першій чашці 2 КУО, другій – 1, третій – 1 КУО. За підрахунками колоній, що утворились на поверхні агару кількість спор склала в 1 см³ 13,03 млн.

Визначення оптимальної імунізуючої дози було проведено на мурчаках. Для досліду було створено дев'ять груп, з яких одна контрольна. У кожній дослідній групі було по 10 мурчаків масою 300–450 г. Дослідних тварин вакцинували підшкірно в дозі 5,21; 6,52; 7,82; 9,12; 10,42; 12,38; 13,03; 23,45 млн спор у 1 см³. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин натрію хлориду у такому ж об'ємі.

Через 21 добу після імунізації контрольним тваринам вводили тест-культуру *Bacillus anthracis* M–71 в дозі 1,0x10⁶ (100 МЛД) живих спор в об'ємі 1,0 см³, підшкірно в ділянці черева [17–20]. Дослідним – 10 МЛД. За тваринами вели спостереження протягом 10 діб, відмічаючи їх температуру тіла та добу загибелі.

Основні результати дослідження. Визначення патогенної активності (мінімальної летальної дози) тест-штаму *Bacillus anthracis* M–71 представлено на рисунку 1.

Встановлено, загинули всі мурчаки у групах, яким вводили 10000 та 12000 спор. Отже, 1 МЛД контрольного тест-штаму *Bacillus anthracis* M–71 становила 1x10⁶ спор, оскільки спостерігалася 100%загибель мурчаків (на 2–3 добу після введення).

Результати проведених досліджень вивчення оптимальної імунізуючої дози штаму *Bacillus anthracis* UA–07 свідчать, що вакцина від сибірки тварин Антравак, виготовлена зі штаму *Bacillus anthracis* UA–07 не зумовлювала підвищення температури тіла вище 1 °С від фізіологічної норми, пригнічення, анафілактичного шоку, місцевих реакцій.

Введення дослідним тваринам культури *Bacillus anthracis* M-71 призвело до підвищення (38,87±0,54 °С) температури тіла та загибелі контрольних тварин на другу добу. Вакцинація тварин у різній кількості спор (7,82–11,73 млн спор) призвела до незначного підвищення (в межах 37,70±0,25 – 38,52±0,21 °С) температури тіла (рис. 2).

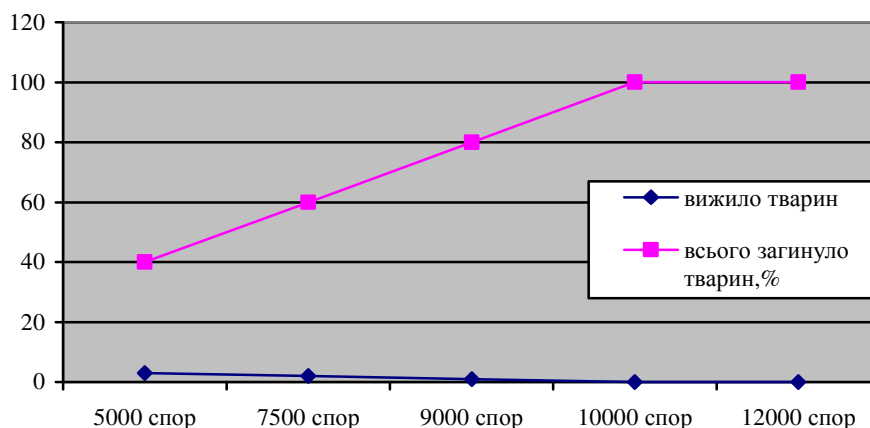


Рис. 1. Визначення 1 МЛД контрольного штаму *Bacillus anthracis* M-71.

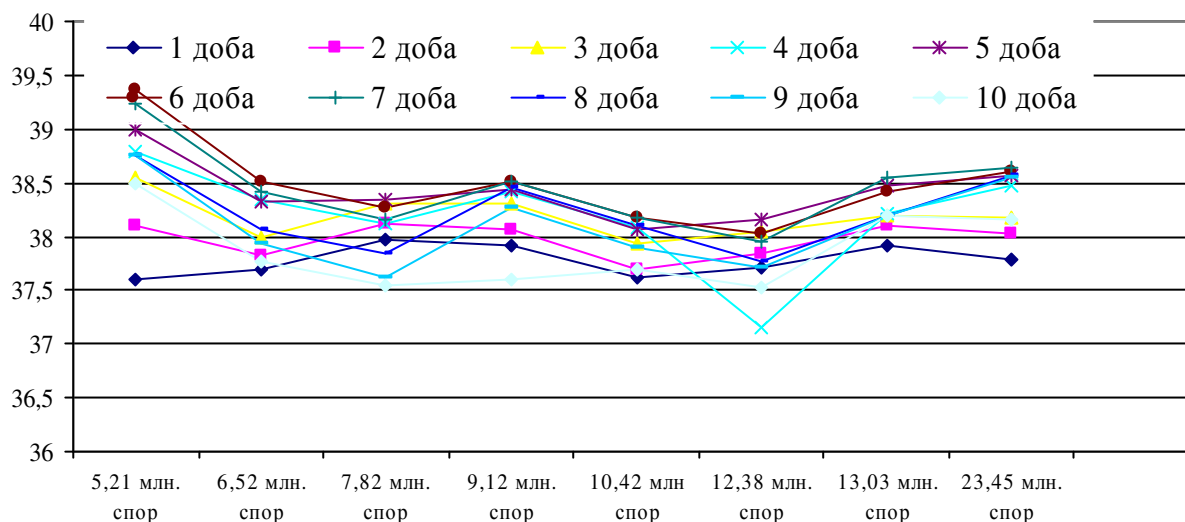


Рис. 2. Температура тіла мурчаків після введення вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA-07.

Отримані дані вивчення оптимальної імунізуючої дози на мурчаках свідчать, що за період спостереження після введення культури *Bacillus anthracis* M-71 лабораторні тварини контрольної групи загинули з другої по четверту добу (100 %). Дослідні групи тварин, які отримали спори штаму *Bacillus anthracis* UA-07 у кількості 7,82–23,45 млн спор, залишилися живими (100 %).

Таблиця 1 – Вивчення оптимальної імунізуючої дози на мурчаках

Групи тварин	Кількість введених спор <i>Bacillus anthracis</i> UA-07, млн спор	Доба загибелі після зараження <i>Bacillus anthracis</i> M-71 (1 млрд)										Всього загинуло тварин із 10 у групі	
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	гол.	%	
1 група	5,21 (0,4 см ³)	–	–	–	–	–	2	1	1	–	4	40	
2 група	6,52 (0,5 см ³)	–	–	–	–	–	–	2	1	–	3	30	
3 група	7,82 (0,6 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	1	1	2	20	
4 група	9,12 (0,7 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
5 група	10,42 (0,9 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
6 група	12,38 (0,95 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
7 група	13,03 (1,0 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
8 група	23,45 (1,8 см ³)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
контрольна група	–	–	2	6	2	–	–	–	–	–	10	100	

Найвищий імунний захист був у мурчаків 3–8 груп, які отримали 7,82–3,45 млн спор *Bacillus anthracis* UA-07 (рис. 3).

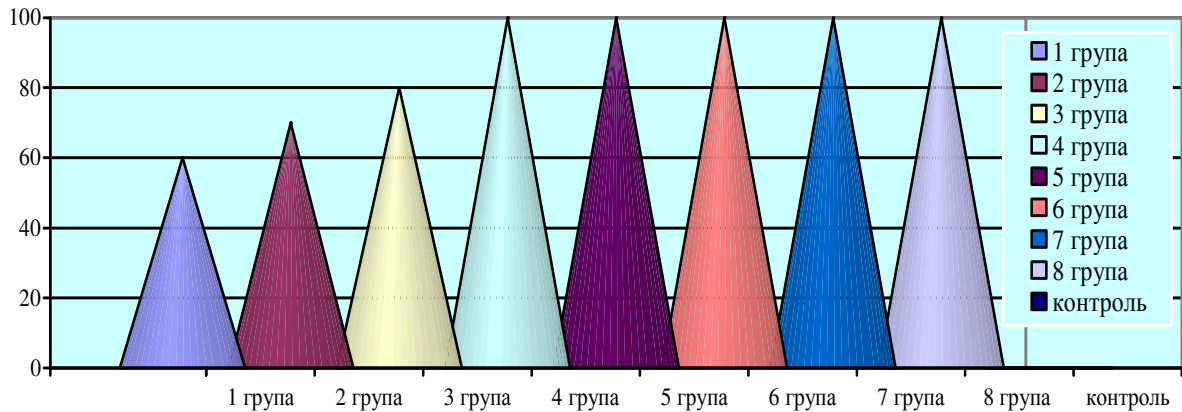


Рис. 3. Рівень захисту вакцинованих мурчаків після введення *Bacillus anthracis* M-71.

Слід відмітити, що доза 5,21 млн спор сприяла захисту 60 % щеплених тварин, тоді як введена у організм мурчаків вища кількість спор – 6,52 млн становила 70 % захисту. У третій групі тварин рівень захисту від патогенного штаму *Bacillus anthracis* M-71 склав 80 %. Збільшення кількості введених спор до 23,45 млн – привело до захисту 100 % мурчаків.

Тож, штаму *Bacillus anthracis* UA-07 у дозі від 7,82 до 23,45 млн. живих спор забезпечує імунітет до введення $1,0 \times 10^6$ живих спор штаму *Bacillus anthracis* M-71.

Дослідження вакцини Антравак показали про високий рівень захисту у щеплених тварин від контрольного штаму *Bacillus anthracis* M-71 у дозі 7,82–23,45 млн спор.

Висновки. Патогенний штаму *Bacillus anthracis* M-71 спричинює загибель 100 % мурчаків після підшкірного введення в дозі 10000 спор. Вакцина від сибірки тварин Антравак, виготовлена із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 забезпечувала захист мурчаків у дозах 9,12; 10,42; 12,38; 13,03 та 23,45 млн спор на рівні 100 %. Захист мурчаків на рівні 80 % забезпечували дози вакцини 7,82 мл спор.

На основі отриманих результатів щодо імунного захисту вакцини від сибірки тварин Антравак для лабораторних тварин, слід провести подальші вивчення її властивостей за імунізації промислових тварин (ВРХ, свиней) різними дозами вакцини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Lethal factor antibodies contribute to lethal toxin neutralization in recipients of anthrax vaccine precipitated / E.K. Dumas et al. // Journal Vaccine. Vol. 35 (26). 2017. P. 3416–3422.
2. Stability and pre-formulation development of a plant-produced anthrax vaccine candidate Author links open overlay panel / R.M. Jones et al. // Journal Vaccine. Vol. 35 (41). 2017. P. 5463–5470.
3. Changing patterns of human anthrax in Azerbaijan during the post-soviet and preemptive livestock vaccination eras / I.Kracalik et al. // Journal Plos neglected tropical disrases. Vol. 8(7). 2014. P. 1–12.
4. The phenotypic and genotypic characterization of Bacillus anthracis isolates from Iran // Jula G.M. et al. // J. Trop. Anim. Health Prod. №43(3). 2011. P. 699–704. doi:10.1007/s11250-010-9756-2 18.
5. Epidemiology of Human Anthrax in China 1955-2014 / Li Y. et al // J. Emerg Infect Dis. №23(1). 2017. P. 14–21.
6. Завірюха Г.А., Слупська В.В., Яворська К.В. Протисибіркові вакцини та перспективи їх удосконалення. Ветеринарна біотехнологія. 2014. № 24. С. 56–63. http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2014_24_12.
7. Friedlander A.M., Little S.F. Advances in the development of next-generation anthrax vaccines. Vaccine. 2009. Vol. 27(4). P. 28–32.t-generation.
8. Developmen to fahighly ef efficacious vaccinia-baseddual vaccine against small poxand anthrax, two important bio-terrorentities / T.J. Merkel et al. // Proc. Natl. Acad. Sci, USA. 2010. Vol. 107(42). P. 18091–18096.
9. Рубленко І.О., Скрипник В.Г. Аналіз даних епізоотичних спалахів сибірки на території України (період 1994 – 2016 рр.). Наук. вісник вет. мед. Збірник наукових праць. Вип.1 (127). Біла Церква. 2016. №1 (127). С. 87–95.
10. Держпродспоживслужба вживає заходи щодо недопущення розповсюдження спалахів сибірки http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba_vzhivae_zakhodi_shchodo_nedopushchennya_rozpovsy udzhennya_spalakhiv_sibirki.
11. A novel live attenuated anthrax spore vaccine based on an acapsular Bacillus anthracis Sterne strain with mutations in the htrA, lef and cya genes / T.Chitlaru et al. // Journal Vaccine. Vol. 35 (44). 2017. P. 6030–6040.

12. Spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Ukraine during the past century (1913–2012) / M. Bezymennyi et al. // *Journal Applied Geography*. 54. 2014. p. 129–138.
13. Controlled release of an anthrax toxin-neutralizing antibody from hydrolytically degradable polyethylene glycol hydrogels / Y. Liang et al. // *Inc. journal biomed. mater. Res. Part. №104A*. 2016. P. 113–123.
14. Remy K.E., Hicks C., Eichacker P.Q. Anthrax Infection. Human Emerging and Re-emerging Infections. *Journal Viral and Parasitic Infections*. Vol. I. 2016. P. 773–794.
15. Missiakas D., Schneewind O. Assembly and Function of the Bacillus anthracis S-Layer. *Journal Annu. Rev. Microbiol.* №71. 2017. P. 79–98.
16. Кузнецов В.Г. Способы вычисления 50 % эффективной дозы биологически активных агентов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2004. № 6. С. 18–22.
17. Романов Г.И. Изучение вирулентных свойств сибиреязвенных штаммов по ЛД50. *Труды гос. науч.-контр. ин-та ветеринарных препаратов*. М. 1977. Т. 24–25. С. 186–191.
18. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) / World organization for animal health OIE fifth edition volume 1, Paris. 2004. P. 133–144.
19. Anthrax Spore Vaccine (Live) for Veterinary Use: 01/2005:0441. *European Pharmacopeia 5.0*. P. 715.
20. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Quality control of vaccines. OIE Terrestrial manual. 2015. <http://www.oie.int/fileadmin>

REFERENCE

1. Dumas E.K., Garman L., Cuthbertson H., Charlton S., Hallis B., Engler R.J., Choudhari S., Picking W.D., James J.A., Farris A.D. (2017). Lethal factor antibodies contribute to lethal toxin neutralization in recipients of anthrax vaccine precipitated. *Journal Vaccine*. Vol. 35 (26), pp. 3416–3422.
2. Jones R.M., Burke M., Dubose D., Chichester A.J., Manceva S., Horsey A., Streatfield S.J., Breit J., Yusibov V. (2017). Stability and pre-formulation development of a plant-produced anthrax vaccine candidate Author links open overlay panel / R.M. Jones, // *Journal Vaccine*. Vol. 35 (41), pp. 5463–5470.
3. Kracalik I., Abdullayev R., Asadov K., Ismayilova R., Baghirova M., Ustun N., Shikhiyev M. (2014). Changing patterns of human anthrax in Azerbaijan during the post-soviet and preemptive livestock vaccination eras. *Journal Plos neglected tropical disrases*. Vol. 8(7), pp. 1–12.
4. Jula G.M., Sattari M., Banihashemi R., Razzaz H., Sanchouli A., Tadayon K. (2011). The phenotypic and genotypic characterization of Bacillus anthracis isolates from Iran. *J. Trop. Anim. Health Prod.* №43 (3), pp. 699–704. doi:10.1007/s11250-010-9756-2 18.
5. Li Y., Yin W., Hugh-Jones M. (2017). Epidemiology of Human Anthrax in China 1955–2014. *Emerg Infect Dis.* №23 m(1), pp. 14–21.
6. Zavirjuha G.A., Slups'ka V.V., Javors'ka K.V. (2014). Protisibirkovi vakcini ta perspektivi ih udoskonalennja. *Veterinarna biotehnologija*. № 24, pp. 56–63, http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2014_24_12.
7. Friedlander A.M., Little S.F. (2009). Advances in the development of next-generation anthrax vaccines. *Vaccine*. Vol. 27 (4), pp. 28–32, t-generation.
8. Merkel T.J., Perera Pin-Yu, Kelly V.K., Verma A., Llewellyn Z.N., Waldmann T.A., Mosca J.D., Perera L.P. (2010). Developmen to fahighly ef efficacious vaccinia-baseddual vaccine against small poxand anthrax, two important bioterrorrentities. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*. Vol. 107 (42), pp. 18091–18096.
9. Rublenko I.O., Skripnik V.G. (2016). Analiz danih epizootichnih spalahiv sibirki na teritorii Ukraïni [Analysis of the data of epizootic outbreaks of anthrax on the territory of Ukraine]. (period 1994 – 2016 rr.). *Nauk. visnik vet. med. Zbirnik naukovih prac'*. Vip.1 (127), Bila Cerkva, №1 (127), pp. 87–95.
10. Derzhprodspozhivsluzhba vzhivae zahodi shhodo nedopushhennja rozpovsjudzhennja spalahiv sibirki [State Committee for Proprietary Services takes measures to prevent the spread of outbreaks of anthrax]. http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba_vzhivae_zakhodi_shhodo_nedopushchennya_rozpovsjudzhennya_spalakhiv_sibirki.
11. Chitlaru T. A., Israeli M., Rotem S., Elia U., Bar-aim E., Ehrlich S., Cohen O., Shafferman A. (2017). Novel live attenuated anthrax spore vaccine based on an acapsular Bacillus anthracis Sterne strain with mutations in the htrA, lef and cya genes. *Journal Vaccine*. Vol. 35 (44), pp. 6030–6040.
12. Bezymennyi M., Barro A., Skrypnyk A., Skrypnyk V., Blackburn J.K. (2014). Spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Ukraine during the past century (1913–2012). *Journal Applied geography*. Vol. 54, pp. 129–138.
13. Liang Y., Y.Liang, Coffin M.V., Manceva S.D., Chichester J.A., Mark R. (2016). Controlled release of an anthrax toxin-neutralizing antibody from hydrolytically degradable polyethylene glycol hydrogels. *Inc. journal biomed. mater. Res. Part. №104A*, pp. 113–123.
14. Remy K.E., Hicks C., Eichacker P.Q. (2016). Anthrax Infection. Human Emerging and Re-emerging Infections. *Journal Viral and Parasitic Infections*. Vol. I, pp. 773–794.
15. Missiakas D., Schneewind O. (2017). Assembly and Function of the Bacillus anthracis S-Layer. *Journal Annu. Rev. Microbiol.* Vol. 71, pp. 79–98.
16. Kuznecov V.G. (2004). Sposoby vychislenija 50 % jeffektivnoj dozy biologicheski aktivnih agentov. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*. [Methods of calculating 50% of the effective dose of biologically active agents. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*]. № 6, pp. 18–22.
17. Romanov G.I. (1977). Izuchenie virulentnyh svojstv sibirejazvennyh shtammov po LD50. *Trudy gos. nach.-kонтр. in-ta veterinarnyh preparatov*. [Study of virulent properties of anthrax strains according to LD50. *Transactions of state. sci. - cont. in-t veterinary drugs*]. М. Vol. 24–25, pp. 186–191.
18. (2004). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) / World organization for animal health OIE fifth edition volume 1, Paris, pp. 133–144.

19. Anthrax Spore Vaccine (Live) for Veterinary Use: 01/2005:0441 // European Pharmacopeia 5.0. 715 p.
 20. (2015). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Quality control of vaccines // OIE Terrestrial manual. – <http://www.oie.int/fileadmin>

Определение оптимальной иммунизирующей дозы вакцины против сибирской язвы из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 на морских свинках

И.А. Рубленко

На сегодня актуальным вопросом безопасности здоровья животных и людей является биотерроризм. Одним из бактериальных патогенов, которые используются в качестве агента – *Bacillus anthracis*. Приведены результаты исследований, проведенных на лабораторных животных по определению оптимальной иммунизирующей дозы вакцины Антравак изготовленной из штамма *Bacillus anthracis* UA-07. Установлено, что патогенный штамм *Bacillus anthracis* M-71 вызывает гибель 100 % морских свинок после подкожного введения в дозе 10 000 спор. 1 МЛД контрольного тест-штамма *Bacillus anthracis* M-71 составляла 1×10^6 спор, поскольку наблюдалась 100%гибель морских свинок (на 2-3 сутки после введения). Результаты проведенных исследований изучения оптимальной иммунизирующей дозы штамма *Bacillus anthracis* UA-07 свидетельствуют, что вакцина против сибирской язвы животных Антравак, изготовленная из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 не вызвала повышение температуры тела выше 1°C от физиологической нормы, угнетение, анафилактического шока, местных реакций.

Следует отметить, что доза 5,21 млн. спор вызвала защиту у 60 % привитых животных, тогда как введена в организм морских свинок большего количества спор – 65,20 вызвала 70 % защиты. Вакцина против сибирской язвы животных «Антравак», изготовленная из штамма *Bacillus anthracis* UA-07 обеспечивает защиту морских свинок в дозах 9,12; 10,42; 12,38; 13,03 и 2345 млн. спор на уровне 100%. Защита морских свинок на уровне 80% обеспечивали дозы введенной вакцины в количестве 782 млн. спор. Исследования вакцины «Антравак» засвидетельствовали высокий уровень защиты у привитых животных против контрольного штамма *Bacillus anthracis* M-71 в дозе 7,82–23,45 млн. спор.

Ключевые слова: сибирская язва, профилактика, вакцина, доза, иммунизация, *Bacillus anthracis*, Антравак, животные, штамм.

Determination of optimum immunization dose of vaccines against anthrax from *Bacillus anthracis* ua-07 at guinea pigs

I. Rublenko

One of the main issues in the safety of animal and human health in our time is bioterrorism. One of the bacterial pathogens used as an agent is *Bacillus anthracis*. The causative agent causes anthrax disease and can be used for massive impressions, leading to significant economic losses for countries. Prevention of anthrax develops antishubmarine vaccines. Abroad use the licensed vaccine AVA (Anthrax Vaccine Adsorbed) from the strain V770-NP1-R (USA), the strain Langzhou A16R (China) and others.

In Ukraine, as a result of vaccination, anthrax occurs sporadically. According to the results of the research, it was found that the largest number of diseased animals in the year was observed in Volyn (1994), Luhansk (1994), Kherson (1999), Odessa (2000), and Kyiv (2001) regions.

The development of preventive study does not stop and scientists are looking for better indicators when using live vaccines. During the development of vaccine digs, various properties of strains are studied in laboratory animals, in particular in Guinea pigs. In determining the immune status of experimental animals with anthrax, it is necessary to take into account not only the humeral and cellular indices of the factors of protection.

The purpose of the research is to study the optimum immunization dose of vaccine against anthrax, produced from the strain of *Bacillus anthracis* UA-07 in laboratory animals.

The experimental series of the vaccine against anthrax of animals from the strain *Bacillus anthracis* UA-07 "Antravak" was used in this work. The control strain (strain punch) used strain *Bacillus anthracis* M-71 from the collection of the National Center for strains of microorganisms.

Determination of pathogenic activity of the test strain *Bacillus anthracis* M-71 was carried out on clams weighing 350-400 g. Concentration of the dispute was determined in the camera Guryev. The breeding of spore suspension strain was carried out in isotonic sodium chloride solution and subcutaneously from the inner surface of the right hip was infected with mollusks. Animal monitoring was carried out for 10 days. Fixed the death of experimental animals. To determine the optimum immunization dose of the live spore vaccine created, a series of vaccine No. 1 containing 13.03 million spores / cm^3 was used.

It was found that all the mullets were killed in the groups that were administered 10000 and 12000 spores. Consequently, 1 MLD of the control strain of *Bacillus anthracis* M-71 was 1,106 spores, since the mortality of the Guinea pigs was 100% (2–3 days after the injection).

The results of the studies on the study of the optimum immunization dose of *Bacillus anthracis* UA-07 strain indicate that anthrax vaccine Antravac manufactured from the strain *Bacillus anthracis* UA-07 did not cause an increase in body temperature above 1°C from physiological norm, inhibition, anaphylactic shock, local reactions.

Introduction to experimental animals of *Bacillus anthracis* M-71 culture resulted in an increase ($38,87 \pm 0,54^\circ\text{C}$) of body temperature and death in control animals on the second day. Vaccination of animals in different amounts of spores (7,82–11,73 million spores) resulted in a slight increase (within $37,70 \pm 0,25 - 38,52 \pm 0,21^\circ\text{C}$) of body temperature.

The obtained data on the study of the optimal immunization dose on the Guinea pigs, indicate that during the period of observation after administration of the *Bacillus anthracis* M-71 culture, the control animals of the control animals died from the second to the fourth day (100%). Experimental groups of animals that received spores of *Bacillus anthracis* UA-07 strain in the amount of 7,82–23,45 million spores remained alive (100%).

The highest immune protection was in the Guinea pigs of 3–8 groups, which received 7,82–3,45 million spores of *Bacillus anthracis* UA–07.

It should be noted that the dose of 5,21 million spores caused protection in 60% of vaccinated animals, while the highest number of spores – 6,52 million was introduced in the body of Guinea pigs, caused 70% protection. In the third group of animals, the level of protection against the pathogenic strain of *Bacillus anthracis* M–71 was 80 %. An increase in the number of controversies entered to 23,45 million – has led to the protection of 100% of clams.

Thus, the strain *Bacillus anthracis* UA–07 in the dose from 7,82 to 23,45 million live spores provides immunity against the introduction of $1,0 \times 10^6$ live spores of the *Bacillus anthracis* M–71 strain. Anthravac vaccine studies have shown a high level of protection in vaccinated animals against the control strain *Bacillus anthracis* M–71 at a dose of 7,82–23,45 million spores.

Anthravac vaccine, made from the *Bacillus anthracis* UA–07 strain, provided protection for Guinea pigs at doses of 9,12, 10,42, 12,38, 13,03 and 23,45 million spores at a level of 100%. The protection of Guinea pigs at the level of 80% provided vaccine doses of 7,82 million spores.

Надійшла 20.04.2018 р.

УДК 606:62:639.3:639.212

СКРИПКА М. В., д-р вет. наук

Одеський державний аграрний університет таріна

skripka.70@ukr.net

КОВАЛЕНКО В.Л., д-р вет. наук

Державний науково-контрольний інститут біотехнології

і штамів мікроорганізмів

kovalenkodoktor@gmail.com

МАЧУСЬКИЙ О.В., канд. вет. наук

Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК

dr.machuskyu@yahoo.com

МАЧУСЬКА В.А., канд. вет. наук

ННЦ «Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича»

k.victoriya2012@gmail.com

АЛЬ-БКUR ТАРЕК ЯХІА, здобувач

Полтавська державна аграрна академія

vetbio@i.ua

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ СПОРО-ЛЕКС ЗА ЗАСТОСУВАННЯ У ВИРОБНИЧИХ УМОВАХ

У статті наведена інформація щодо дослідження нешкідливості та ефективності препарату Споро-лекс у виробничих умовах на великій рогатій худобі та телятах. Пробиотик Споро-лекс – це суміш пробіотичних культур *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3 на природному стандартизованому сорбенті (монтморилонітовій породі Володимирецького містородовища). Препарат Споро-лекс є нешкідливий для великої рогатої худоби, достовірно підвищує рівень БАСК, тому його рекомендують застосовувати як кормову біологічну добавку спрямованої адаптогенної та імунорегуючої дії на відгодівлі молодняку сільськогосподарських тварин.

Встановлено вплив препарату Споро-лекс на мікрофлору шлунково-кишкового тракту тварин. При цьому препарат має виражений ефект, що проявляється у пригніченні бактерій групи кишкової палички, за рахунок антагоністичної дії штамів *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3, які входять до складу препарату.

Експериментальні дані вивчення нешкідливості та ефективності пробіотику Споро-лекс для корів дають можливість стверджувати про його позитивний вплив на БАСК та кількість еритроцитів, а також зниження концентрації БГКП в калі велика рогата худоба та телят.

Ключові слова: «Споро-лекс», пробіотик, нешкідливість, неспецифічність, ефективність, бактерії групи кишкової палички.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Використання кормів і кормових добавок, оброблених бактеріями, що володіють антибактеріальною активністю та продукують у зовнішнє середовище ферменти, сприяють кращому перетравленню цьому, можуть компенсувати відсутність контактів тварини з зовнішнім середовищем (грунт, вода, повітря, рослини) в умовах промислового виробництва [1–8]. Мікробна контамінація кормів та об'є-