

It should be noted that, with inoculation of strains of the *Er. rhusiopathiae* RS/1 & RS/2 methods, intradermal challenge and scarification, we obtained almost identical development of the disease in the research of pigs with similar clinical manifestations and time of development of the disease, indicating the possibility of using both methods as a reference when conducting the test of pigs challenge.

However, in the evaluation of infected pigs by scarification, it is necessary to consider the possibility of inflammation of the skin (in the form of minor dermatitis) as a result of scratches during the scarification.

The development of typical clinical signs of the swine disease erysipelas is a reflection of a successful infection of pigs intradermal methods of challenge and scarification.

The proposed model of challenge of pigs (intradermal methods and scarification) can be recommended for quality control of vaccines against swine erysipelas on indicators of efficacy/immunogenicity according to the requirements of the European Pharmacopoeia 0064 and DSTU 6079:2009.

**Keywords:** pathogen of swine erysipelas, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, immunogenicity, isolates, pathogenicity, serovars, strains.

Надійшла 30.05.2017 р.

УДК 619:616.981.51:615.373/.383:636.1

РУБЛЕНКО І.О., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

[rubs@ukr.net](mailto:rubs@ukr.net)

## ВИЗНАЧЕННЯ СЕРОПОЗИТИВНОСТІ ЗА ІМУНІЗАЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ РІЗНИМИ ДОЗАМИ ВАКЦИНИ

Наведені результати досліджень щодо визначення оптимальної імунізуючої дози вакцини Антравак, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07. Під час проведення дослідження у тварин всіх вікових груп після введення вакцини виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 не виявляли пригнічення, підвищення температури тіла, почервоніння слизових оболонок, анафілактичного шоку, місцевих реакцій. У групі тварин із 6 місяців і старших титри специфічних антигенів були найвищими через 14, 21 та 180 діб після вакцинації, порівняно з тваринами інших вікових груп.

За аналізом результатів імунологічних досліджень доведено, що доза 7,82–10,42 млн. спор експериментальної вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 (серія №1) від сибірки тварин виявилася менш ефективною, а доза 20,85–24,76 млн спор – не раціональною. Найбільш оптимальна та ефективна доза застосування вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 для великої рогатої худоби (віком із 3 міс. і старше) за отриманими результатами становила 11,73–19,55 (16,0±4) млн/см<sup>3</sup> спор.

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

**Постановка проблеми.** Серед найбільш небезпечних зоонозних збудників виділяють збудник сибірки. Одним із основних заходів захисту і профілактики від сибірки тварин є вакцинація. Спалахи цього захворювання серед тварин і людей є проблемою для багатьох країн [1–6]. Це призводить до втрати поголів'я тварин та значних економічних збитків внаслідок виникнення захворювання [7].

На території України сибірка тварин виникає спорадично [8–9]. За результатами систематизації і аналізу даних щодо випадків та спалахів сибірки спостерігається стабільна динаміка зниження, але існує небезпека у виникненні спалахів [10]. Це пов'язано із фізіологічними властивостями збудника, наявністю худобомогильників, біотермічних ям, сприятливих тварин тощо.

Останній випадок захворювання було зареєстровано, відповідно до повідомлення Головного управління Держпродспоживслужби в Сумській області 29.06.2017 року №01–12/2826 на березі річки Псел в с. Миропілля Краснопільського району (за два кілометри від кордону з Російською Федерацією), у трупів двох овець. Територіальними органами було встановлено відсутність проведення вакцинації тварин від сибірки, які випасалися вздовж русла цієї річки на суміжній території [11].

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Механізм формування несприйнятливості під дією протисибіркових вакцин – процес створення антитоксичного імунітету [12]. Із місця введення вакцини сибірковий протективний антиген, що міститься у вакцинному штамі, потрапляє в організм тварини і зумовлює подразнення лімфоїдних і ретикулярних елементів лімфатичних вузлів і селезінки. Через добу відбувається гіперплазія зародкових центрів вторинних вузликів,

набухання ендотелію, проліферація ретикулярних клітин [13]. Існують дані, які свідчать про активне формування імунітету через 3 доби, але процес імуногенезу при цьому може продовжуватися до 5 місяців [11, 12].

У процесі імунопрофілактики можливе виникнення підвищення або зниження імунореактивності організму, алергічні реакції, порушення метаболізму, анафілактичний шок, неспецифічні ускладнення (токсичні, метаболістичні) та ін. [13]. Імунна відповідь на введення вакцини залежить від низки факторів (віку та фізіологічного стану тварин, виду вакцини, дози та ін.) [14].

Збільшення дози може спричинити гальмування лейкопоезу, фагоцитарної активності лейкоцитів, відносної кількості Т- і В-лімфоцитів, що не сприяє накопиченню загального білка та імуноглобулінів у крові тощо. Низька імунна відповідь у молодих тварин часто пов'язана із недорозвинутою імунною системою організму чи неправильно визначеною дозою препарату [12–13].

Визначення оптимальної імунізуючої дози вакцини Антравак, виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07, є невід'ємною складовою впровадження нової вакцини для профілактики сибірки тварин на території України. Це сприятиме запобіганню подальшому поширенню захворювання, а щеплені тварини забезпечать захист від інфекції населення України.

**Мета дослідження** полягала у встановленні для ВРХ оптимальної імунізуючої дози вакцини Антравак виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 від сибірки тварин.

**Матеріал і методика досліджень.** Для визначення оптимальної імунізуючої дози створеної живої спорової вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 від сибірки тварин було проведено дослідження на великій рогатій худобі. Для цього було сформовано чотири вікові групи: з 2 до 3 міс., з 3 до 6 міс., з 6 до 12 міс., з 12 до 24 місяців. У кожній групі тварин розділили на 8 підгруп, у кожній підгрупі була дослідна та контрольна групи тварин. Дослідним тваринам вводили вакцину у дозах згідно з даними таблиці 1, а контрольним – таку ж кількість фізіологічного розчину натрію хлориду.

Таблиця 1 – Групи та дози використані за дослідження

Підгрупа тварин, n	Доза вакцини, см <sup>3</sup>	Кількість спор у об'ємі, млн	Вікова група тварин, n=224:	
			дослідні n=128: 1) з 2 до 3 міс; 2) з 3 до 6 міс; 3) з 6 до 12 міс; 4) з 12 до 24 міс.	контрольні n=96: 1) з 2 до 3 міс; 2) з 3 до 6 міс; 3) з 6 до 12 міс; 4) з 12 до 24 міс.
Перша, n=28	0,6	7,818	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Друга, n=28	0,8	10,424	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Третя, n=28	0,9	11,727	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Четверта, n=28	1,2	15,636	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
П'ята, n=28	1,5	19,545	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Шоста, n=28	1,6	20,848	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Сьома, n=28	1,8	23,454	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*
Восьма, n=28	2,0	24,757	n=16 (4;4;4;4)*	n=12 (3;3;3;3)*

**Примітка:** n=16 (4;4;4;4)\* – кількість тварин до вакцинації, 14, 28 та 180 дів після вакцинації.

Застосовували вакцину живу спорову, яка містила у 1,0 см<sup>3</sup> 13,03 млн живих спор. Визначення кількості спор в 1 см<sup>3</sup> проводили шляхом розведень вакцини (10<sup>-5</sup> і 10<sup>-6</sup>) з наступним посівом на середовище МПА у бактеріологічних чашках, інкубували 24 години за температури 37 °С. Із розведення 10<sup>-5</sup> виросло на першій чашці 34 КУО, другій – 35, третій – 13 КУО; із розведення 10<sup>-6</sup> виросло на першій чашці 2 КУО, другій – 1, третій – 1 КУО. Таким чином, кількість спор в 1 см<sup>3</sup> становила 13,03 млн (34+35+13+2+1+1)/6/1,1=13,0303).

Перед дослідженням та через 14, 28 і 180 дів після вакцинації у піддослідних тварин відбирали проби крові для визначення специфічних антитіл. Рівень антитіл визначали методом РНГА (використовували «Диагностикум эритроцитарный сибирезвенный антигенный сухой» (Казахский Научный Центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, Казахстан), відповідно до інструкції із застосування. Оцінку результатів проводили за методикою Лярські (1980) [15] шляхом визначення середнього геометричного (G) та log<sub>2</sub>.

**Основні результати дослідження.** Під час проведення дослідження у тварин всіх вікових груп після введення вакцини виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA–07 не виявляли приг-

нічення, підвищення температури тіла, почервоніння слизових оболонок, анафілактичного шоку, місцевих реакцій. Вакцинація телят експериментальною серією вакцини від сибірки привела до індукції антитіл щодо збудника, залежно від дози вакцини та віку тварин.

Отримані результати свідчать, що у всіх дослідних тварин, після введення розробленого імунологічного препарату спостерігали виражену індукцію сибіркових антитіл, незалежно від введеної дози вакцини.

Під час вакцинації тварин всіма варіантами доз імунологічного препарату відмічали загальну тенденцію, а саме: титри антитіл збільшувалися на 14 добу після вакцинації (у деяких тварин і на 28 добу), проте на 180-ту добу титри знижувалися при застосуванні дози 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> спор ( $p < 0,05$  – у першій,  $p < 0,001$  – у другій та третій групах).

До введення вакцини у першій групі тварин (вакцинованих у віці з 2 до 3 місяців) показники титрів антитіл у сироватці крові були в межах 23,78–28,28 G (рис. 1).

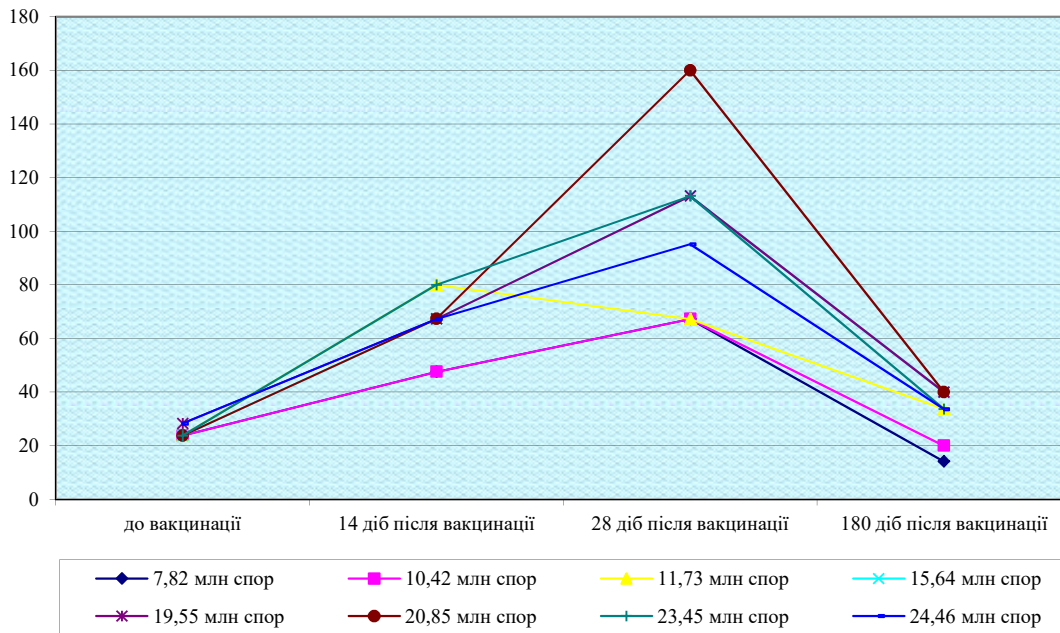


Рис. 1. Показники титрів антитіл у сироватці крові великої рогатої худоби з 2- до 3-місячного віку, G.

На 14 добу після вакцинації тварин дозою 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> спор титри антитіл зросли до 47,57 G ( $\log_2 5,57 \pm 0,25$ ), тоді як у контрольній групі показники були у 2 рази нижчі і становили 25,2–20,0 G ( $\log_2 4,65 \pm 4,32$ ).

За введення 11,73–19,55 млн спор показники титрів антитіл у сироватці крові становили 80–67,27 G ( $\log_2 6,32 \pm 6,07 \pm 0,25$ ), але були вірогідно вищими від показників до вакцинації ( $p < 0,05$  – за введення 15,64 і 19,55 млн/см<sup>3</sup> спор та  $p < 0,001$  – за введення 11,73 млн/см<sup>3</sup> спор).

Через 28 днів після вакцинації титри антитіл у групах тварин, за введення 7,82; 10,42; 15,64; 19,55; 20,85; 23,45 і 24,76 млн/см<sup>3</sup> спор, продовжували невірогідно зростати за виключенням введення дози – 11,73 млн/см<sup>3</sup> спор. У контрольних тварин показники титрів антитіл у сироватці крові були в межах 10,0–12,60 G ( $\log_2 3,32 \pm 3,65 \pm 0,33$ ). Окрім того, показники титрів антитіл у сироватці крові телят найвищими були через 28 днів після введення вакцини у дозі 15,64–20,85 млн/см<sup>3</sup> спор. Показники титрів антитіл були однаковими за введення 11,73, 23,45 та 24,76 млн/см<sup>3</sup> спор.

Через 180 днів показники титрів знизилися у всіх дослідних тварин, але були найвищими ( $G=40,0$ ) за введення 11,73–20,85 млн/см<sup>3</sup> спор. У разі використання 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> показники були хоч і найнижчими ( $G=14,14$  і  $20,0$ , а  $\log_2=4,07 \pm 0,48$  і  $4,32 \pm 0,41$ ) серед дослідних тварин, але вищими порівняно з показниками контрольної групи, оскільки у них у сироватці крові відсутні антитіла.

У другій групі тварин, вакцинованих у віці з 3 до 6 міс. (рис. 2), реєстрували вірогідне ( $p < 0,001$ ) підвищення титрів на 14 та 28 добу після вакцинації.

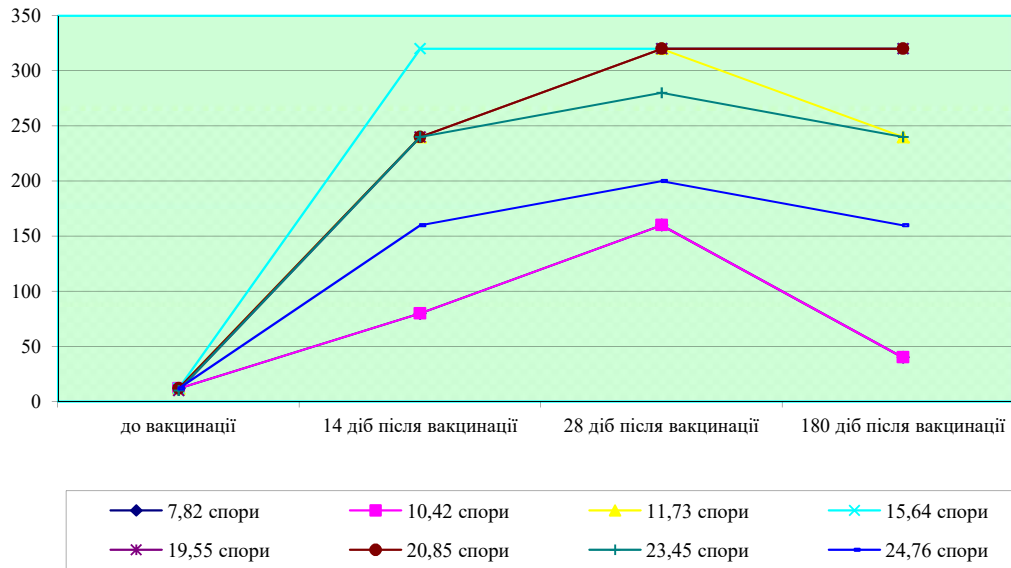


Рис.2. Показники титрів антитіл ВРХ вакцинованих із 3- до 6-місячного віку, G.

За введення тваринам 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> спор на 14 добу титри вірогідно ( $p < 0,001$ ) підвищилися (з  $\log_2 3,57$ ,  $G=11,89$  до  $\log_2 6,32$ ,  $G=80$ ), порівняно з вихідними даними та показниками тварин контрольної групи. Застосування 11,73–19,55 млн спор тваринам цієї вікової групи призвело до синтезу антитіл у межах  $\log_2 7,82$ – $8,32$ ,  $G 240,0$ – $320,0$ . Найвищими виявилися показники титрів антитіл за введення вакцини у дозі 15,64 млн/см<sup>3</sup> спор. Використання більшої кількості спор (20,85–23,45 млн/см<sup>3</sup>) у вакцині не призвело до підвищення показників титрів антитіл і залишалось на рівні  $\log_2 7,82$  ( $G 240,0$ ). Слід звернути увагу, що більша кількість спор (24,76 млн/см<sup>3</sup>) у дозі вакцини не призвела до нижчих показників титрів антитіл у сироватці крові ( $\log_2 7,82$ ,  $G 240,0$ ).

Через 28 днів після вакцинації 7,82 та 10,42 млн/см<sup>3</sup> спор у сироватці тварин виявляли антитіла на одному рівні:  $\log_2 7,32$ ,  $G 160,0$ . Проте це було вірогідно вищим ( $p < 0,001$ ) показників титрів антитіл отриманих через 14 днів після вакцинації. За введення доз спор у кількості 11,73; 15,64; 19,55 та 20,85 млн/см<sup>3</sup> –  $\log_2$  становив 8,32 а  $G - 320,0$ , що також вірогідно ( $p < 0,001$ ) вище вихідних даних.

З часом, через 6 міс. після вакцинації, показники титрів знизилися, але залишилися вірогідно високими ( $p < 0,001$ ) у тварин, яким вводили 11,73–24,76 млн/см<sup>3</sup> спор, порівняно з показниками тварин вакцинованих 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> спор.

Отже, введення тваринам 7,82 та 10,42 млн/см<sup>3</sup> спор приводить до синтезу специфічних антитіл, але нижчий ніж введення більшої (11,73–24,76 млн/см<sup>3</sup>) кількості спор. Введення 15,64; 19,55 та 20,85 млн/см<sup>3</sup> спор призводить до синтезу найвищих показників титрів антитіл у сироватці крові тварин, вакцинованих з 2- до 3-місячного віку. Введення більшої кількості (24,76 млн/см<sup>3</sup>) спор приводить до синтезу антитіл, але нижчі, ніж у тварин, яким вводили 11,73; 15,64 та 19,55 млн/см<sup>3</sup> спор. Слід відмітити, що застосування 24,76 млн/см<sup>3</sup> спор для вакцинації тварин із 3- до 6-місячного віку привело до синтезу титрів антитіл, але через 180 днів показники були удвічі нижчі ( $G=160,0$ ), ніж застосування меншої кількості спор (15,64–19,55 млн спор,  $G=320,0$ ).

У групі тварин вакцинованих із 6 до 12 міс. та з 12 до 24 міс. титри специфічних антитіл були найвищими через 14, 28 та 180 днів після вакцинації (рис. 3–4), порівняно з тваринами інших вікових груп.

На 14 добу показники титрів специфічних антитіл тварин вакцинованих з 6- до 12- та з 12- до 24-місячного віку в дозі 7,82–10,42 млн/см<sup>3</sup> спор забезпечили формування імунної відповіді на одному рівні ( $\log_2 7,32$ – $7,82$ ,  $G 160,0$ – $226,27$ ). Проте, через 28 днів після введення 7,82 та 10,42 млн/см<sup>3</sup> спор в організмі тварин відмічали незначне підвищення показників обох вікових груп ( $\log_2 7,57$  і  $8,07$ , відповідно). У тварин вакцинованих з 1- до 12-місячного віку невірогідне зростання титрів відмічали за введення 23,45 і 24,76 млн/см<sup>3</sup> спор.

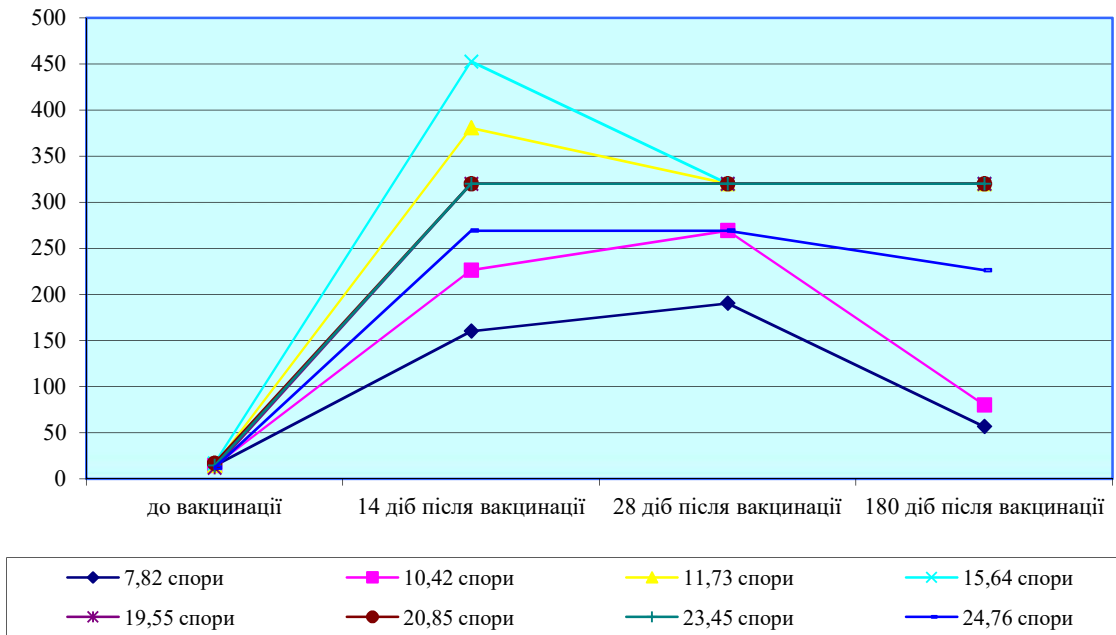


Рис. 3. Показники титрів антитіл ВРХ вакцинованих із 6- до 12-місячного віку, G.

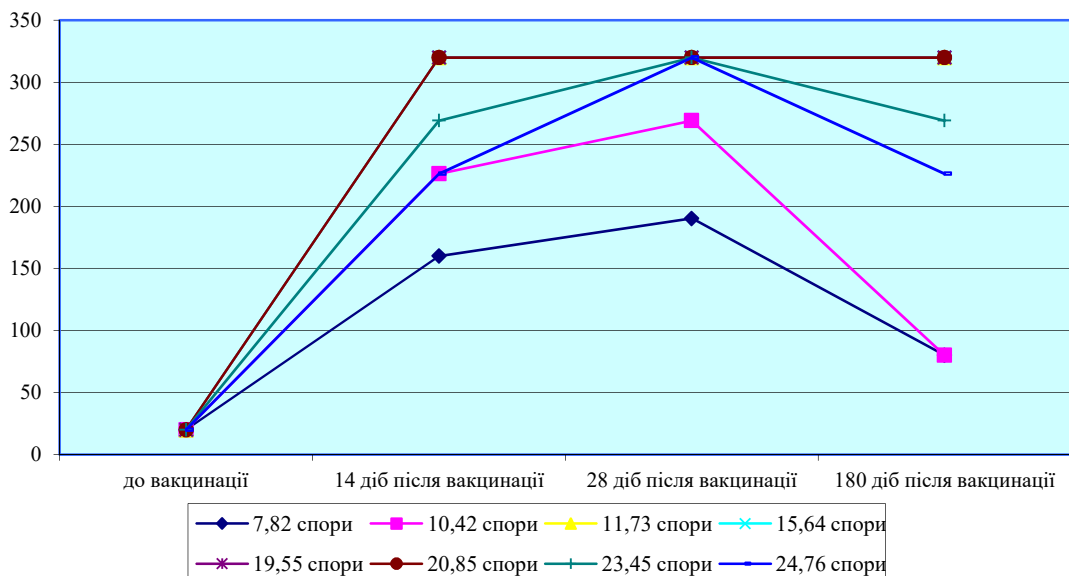


Рис. 4. Показники титрів антитіл ВРХ вакцинованих із 12- до 24-місячного віку, G.

Через 180 днів найвищими показники виявили у тварин вакцинованих з 12 до 24 місяців після введення живої спорової вакцини в дозі 11,73, 15,64, 19,55 та 20,85 млн/см<sup>3</sup> спор ( $\log_2$  8,32, G 320).

Таким чином, застосовані дози вакцини виготовленої із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 приводять до синтезу специфічних антитіл. У зв'язку з цим, з метою раціонального використання препарату, доцільним буде застосування для щеплення тварин 11,73–19,55 млн/см<sup>3</sup> спор. Тоді як рекомендовані для застосування живі вакцини від сибірки тварин із штаму «СБ» та «К-79Z» – по 20–25 млн/см<sup>3</sup> спор. Одночасно це є підтвердженням вищої імуногенності штаму *Bacillus anthracis* UA-07.

За аналізом результатів імунологічних досліджень доведено, що доза 16,0±4 (11,73–19,55) млн/см<sup>3</sup> спор для щеплення великої рогатої худоби у віці від 2 до 3 місяців забезпечує формування напруженого імунітету, що підтверджується показниками титрів антитіл на 14, 28 добу та через 6 міс. після застосування вакцини.

За результатами проведених досліджень встановлено: оптимальна доза вакцинації для великої рогатої худоби віком із 3 місяців і старших становить  $16,0 \pm 4$  ( $11,73-19,55$ ) млн/см<sup>3</sup> спор.

**Висновки.** 1. Доза  $7,82-10,42$  млн/см<sup>3</sup> спор експериментальної вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 від сибірки тварин виявилася менш сероплевалентною, а доза  $20,85-24,76$  млн/см<sup>3</sup> спор – не раціональною.

2. Найбільш оптимальна та ефективна доза застосування вакцини із штаму *Bacillus anthracis* UA-07 для великої рогатої худоби за отриманими результатами становить  $16,0 \pm 4$  млн/см<sup>3</sup> спор.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Thappa D.M. Anthrax: an overview with the Indian subcontinent / D.M. Thappa, K. Karthikeyan // Int .J. Dermatol . – 2001. – №40. – P. 216–222.
2. Anthrax a continuing problem in southern India / M.K. Lalitha, M.Dilip, T.Kurien [et al.] // Proceeding of the international workshop on anthrax, England, sept. 19–21. – Winchester. – 1995. – P. 14–15.
3. Anthrax. National Anthrax Outbreak Control Team. An outbreak of anthrax among drug users in Scotland, December 2009 to December 2010. Health Protection Scotland, 2011. Available from: <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/giz/anthrax-outbreak/anthrax-outbreak-report-2011-12.pdf/>
4. Anthrax. European Centre for Disease Prevention and Control/European Food Safety Authority. Fatal human case of *Bacillus anthracis* infection and bovine meat contamination in Bulgaria. First update, 7 August 2015. Stockholm: ECDC; 2015. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/anthrax-bulgaria-2015-risk-assessment.pdf>.
5. Anthrax. European Centre for Disease Prevention and Control/European Food Safety Authority. Fatal human case of *Bacillus anthracis* infection and bovine meat contamination in Bulgaria. First update, 7 August 2015. Stockholm: ECDC; 2015. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/anthrax-bulgaria-2015-risk-assessment.pdf>.
6. Anthrax. Reporting on 2014 data retrieved from TESSy\* in November 2015 Suggested citation: European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Anthrax. [Internet]. Stockholm: ECDC; 2016 [cited YYYY Month DD]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/anthrax/Pages/Annual-epidemiological-report-2016.aspx>.
7. An economic evaluation of a livestock anthrax vaccination program in high-risk regions of the country of Georgia / C. Campbell, S.V. Shadomy, K.E. Stauffer et al. // International Journal of Infectious diseases. 2016. –Vol.45. – 160 p.
8. Dynamics of anthrax cases in Ukraine during 1970–2013 years / V. Skrypnyk, A. Golovko, A. Skrypnyk et al. // International journal of infectious diseases. – 2014. – №21. – P. 181. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.03.798>.
9. Рубленко І.О. Аналіз даних епізоотичних спалахів сибірки на території України (період 1994 – 2016 рр.) / І.О. Рубленко, В.Г. Скрипник // Наук. вісник вет. мед. Збірник наукових праць. – Вип.1 (127). – Біла Церква. – 2016. – №1 (127). – С. 87–95.
10. Експериментальна апробація показників контролю якості спорових вакцин проти сибірки згідно міжнародних рекомендацій / А.М. Головко, В.О. Ушкалов, І.В. Бабкін та ін. // Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. – К., 2013. – Вип. 23. – С. 95–103.
11. Держпродспоживслужба вживає заходи щодо недопущення розповсюдження спалахів сибірки [http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba\\_vzhivae\\_zakhodi\\_shchodo\\_nedopushchennya\\_rozpozvy\\_udzhennya\\_spalakhiv\\_sibirki](http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba_vzhivae_zakhodi_shchodo_nedopushchennya_rozpozvy_udzhennya_spalakhiv_sibirki).
12. Калашник О.М. Вплив сибіркового антигену на імунну систему молодняка великої рогатої худоби: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія та вірусологія» / О.М. Калашник. – Харків, 2002. – 18 с.
13. Романов Г.И. Сравнительная патоморфологическая характеристика иммунного и инфекционного процессов у ягнят при сибирском язве / Г.И. Романов, Р.В. Складчиков // Труды государственного института ветеринарных препаратов. – Москва. – 1971. –Том XVII. – С. 222–225.
14. Порівняльна оцінка вакцинних препаратів проти сибірки / В.В. Слупська, У.М. Яненко, Н.І. Косянчук та ін.// Електронний науковий фаховий журнал. 2015. – 53. – С. 1–11. [http://nd.nubip.edu.ua/2015\\_4/23.pdf](http://nd.nubip.edu.ua/2015_4/23.pdf).
15. Сюрин, В.Н. Ветеринарная вирусология [Текст] / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина. – М.: Колос, 1984. – С. 359–361.

#### REFERENCES

1. Thappa, D.M., Karthikeyan, K. (2001). Anthrax: an overview with the Indian subcontinent. Int .J. Dermatol., Mayo Clinic, USA, №40, pp. 216–222.
2. Lalitha, M.K., Dilip, M., Kurien, T. et al. (1995). Anthrax a continuing problem in southern India. Proceeding of the international workshop on anthrax, England, Winchester, pp. 14–15.
3. Health Protection Scotland. Anthrax. National Anthrax Outbreak Control Team. An outbreak of anthrax among drug users in Scotland, December 2009 to December 2010, 2011, available at: <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/giz/anthrax-outbreak/anthrax-outbreak-report-2011-12.pdf/>
4. European Centre for Disease Prevention and Control/European Food Safety Authority (2015). Anthrax. Fatal human case of *Bacillus anthracis* infection and bovine meat contamination in Bulgaria, Stockholm, ECDC, available at: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/anthrax-bulgaria-2015-risk-assessment.pdf>
5. European Centre for Disease Prevention and Control/European Food Safety Authority (2015). Anthrax. Fatal human case of *Bacillus anthracis* infection and bovine meat contamination in Bulgaria. First update, Stockholm, ECDC, available at: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/anthrax/Pages/Annual-epidemiological-report-2016.aspx>

6. Reporting on 2014 data retrieved from TESSy in November 2015 Suggested citation: European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report (2016), Anthrax. Stockholm, ECDC, available at: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/anthrax/Pages/Annual-epidemiological-report-2016.aspx>

7. Cambell, C., Shadomy, S.V., Stauffer, K.E., Walke, H.T., Avaliani, L., Kalandadze, I., Meltzer M.I. (2016). Aneconomic evaluation of a livestock anthrax vaccination program in high-risk regions of the country of Georgia. *International Journal of Infectious diseases, USA*, vol.45, 160 p.

8. Skrypnyk, V., Golovko, A., Skrypnyk A., Rublenko, I. (2014). Dynamics of anthrax cases in Ukraine during 1970–2013 years. *International journal of infectious diseases, №21*, 181 p. available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.03.798>

9. Rublenko, I.O., Skripnik V.G., (2016). Analiz danih epizootichnih spalahiv sibirki na teritorii Ukraini (period 1994 – 2016 rr.). Structural developments in the Ukrainian industry [Analysis of the data of epizootic outbreaks of anthrax on the territory of Ukraine (period 1994 – 2016)], *Nauk. visnik vet. med. Zbirnik naukovih prac.*, no. 1(127), Bila Cerkva, pp. 87–95.

10. Golovko, A.M., Ushkalov, V.O., Babkin I.V., Rublenko I. (2013). Eksperimental'na aprobacija pokaznikov kontrolju jakosti sporovih vakcin proti sibirki zgidno mizhnarodnih rekomendacij. Structural developments in the Ukrainian industry [Experimental testing of indexes of quality control of spore vaccines against anthrax according to international recommendations ]. *Veterinarna biotehnologija, Bjuletin, K.*, no. 23. pp. 95–103.

11. Derzhprodspozhivsluzhba (2017). Derzhprodspozhivsluzhba vzhivae zahodi shhodo nedopushhennja rozpovsjudzhennja spalahiv sibirki. Structural developments in the Ukrainian industry [State Committee for Proprietary Services takes measures to prevent the spread of outbreaks of anthrax], available at: [http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba\\_vzhivae\\_zakhodi\\_shhodo\\_nedopushchennya\\_rozpovsy\\_uzdzhennya\\_spalakhiv\\_sibirki](http://www.consumer.gov.ua/News/2280/Derzhprodspozhivsluzhba_vzhivae_zakhodi_shhodo_nedopushchennya_rozpovsy_uzdzhennya_spalakhiv_sibirki)

12. Kalashnik, O.M. (2002). Vpliv sibirkovogo antigenu na imunnu sistemu molodnjaka velikoi rogatoi hudobi: Author's thesis [Influence of anthrax antigen on the immune system of young cattle: avtoref. dis. ... kand. polit. nauk]. Harkiv, 18 p.

13. Romanov, G.I., Skladchikov, R.V. (1971). Sravnitel'naja patomorfologicheskaja harakteristika immunnogo i infekcionnogo processov u jagnjat pri sibirskoj jazve. Structural developments in the Russian industry [Comparative pathomorphological characteristics of the immune and infectious processes in lambs in anthrax], *Trudy gosudarstvennogo instituta veterinarnyh preparatov. Moskva*, no H8, pp. 222–225.

14. Slupska, V.V., Janenko, U.M., Kosjanchuk N.I. (2015). Porivnjal'na ocinka vakcinnih preparativ proti sibirki. Structural developments in the Ukrainian industry [Comparative assessment of vaccine drugs against anthrax]. *Elektronnij naukovij fahovij zhurnal*, no. 53, pp 1–11., available at: [http://nd.nubip.edu.ua/2015\\_4/23.pdf](http://nd.nubip.edu.ua/2015_4/23.pdf)

15. Sjurin, V.N., Belousova, R.V., Fomina, N.V. (1984). Veterinarnaja virusologija [Larski methodology]. Kolos, Moscow, pp. 359–361.

#### **Определение серопозитивности при иммунизации крупного рогатого скота различными дозами вакцины И.А. Рубленко**

Приведены результаты исследований по определению оптимальной иммунизирующей дозы вакцины Антравак, изготовленной из штамма *Bacillus anthracis* UA–07. Во время проведения исследования у животных всех возрастов после введения вакцины изготовленной из штамма *Bacillus anthracis* UA–07 не выявляли угнетение, повышение температуры тела, покраснение слизистых оболочек, анафилактического шока, местных реакций. В группе животных с 6 месяцев и старше титры специфических антител были высокими через 14, 21 и 180 суток после вакцинации по сравнению с животными других возрастных групп.

По анализу результатов иммунологических исследований доказано, что доза 7,82–10,42 млн спор экспериментальной вакцины из штамма *Bacillus anthracis* UA–07 (серия №1) против сибирской язвы животных оказалась менее эффективной, а доза 20,85–24,76 млн. спор – не рациональной. Наиболее оптимальная и эффективная доза применения вакцины из штамма *Bacillus anthracis* UA–07 для крупного рогатого скота (в возрасте от 3 мес. и старше) по полученным результатам составила 11,73–19,55 (16,0±4) млн см<sup>3</sup> спор.

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

#### **Determination of seropositiviti at the immunization of livestock by various doses of vaccine**

##### **I. Rublenko**

During the study in animals of all age groups, after administration of the vaccine, *Bacillus anthracis* UA-07 strains did not show oppression, body temperature, redness of the mucous membranes, anaphylactic shock, local reactions. Vaccination of calves with an experimental series of an anthrax vaccine caused the induction of antibodies against the pathogen of the antherum, depending on the dose of the vaccine and the age of the animals.

The obtained results indicate that in all experimental animals, after the introduction of the developed immunological drug, a pronounced induction of anesthetic antibodies was observed, regardless of the administered dose of the vaccine.

At vaccination of animals, all variants of doses of an immunological preparation marked the general tendency, namely: antibody titers increased at 14 days after vaccination (in some animals on 28 days), however, by the 180th day titres were reduced at a dose of 7.82-10, 42 million/cm<sup>3</sup> spores (p <0.05 – in the first, p <0.001 in the second and third groups).

Before the introduction of the vaccine in the first group of animals (vaccinated at the age of 2 to 3 months), the titres of antibodies in the serum were within the range of 23.78-28.28 G. During the study in animals of all age groups, after administration of the vaccine, *Bacillus anthracis* UA-07 strains did not show oppression, body temperature, redness of the mucous membranes, anaphylactic shock, local reactions. Vaccination of calves with an experimental series of an anthrax vaccine caused the induction of antibodies against the pathogen of the antherum, depending on the dose of the vaccine and the age of the animals.

The obtained results indicate that in all experimental animals, after the introduction of the developed immunological drug, a pronounced induction of anesthetic antibodies was observed, regardless of the administered dose of the vaccine.



At vaccination of animals, all variants of doses of an immunological preparation marked the general tendency, namely: antibody titers increased at 14 days after vaccination (in some animals and at 28 days), however, by the 180th day titres were reduced at a dose of 7.82-10, 42 million/cm<sup>3</sup> spores ( $p < 0.05$  – in the first,  $p < 0.001$  in the second and third groups).

Before the introduction of the vaccine in the first group of animals (vaccinated at the age of 2 to 3 months), the titres of antibodies in the serum were within the range of 23.78-28.28 G.

At 14 days after vaccination of animals at a dose of 7.82 – 10.42 million/cm<sup>3</sup> antibody spores increased to 47.57 G ( $\log 1.33 \pm 0.03$  and  $1.67 \pm 0.1$ ), whereas in the control group figures were 2 times lower and amounted to 25.2-20.0 G ( $\log 1.4 – 1.3$ ).

For the introduction of 11.73-19.55 million spores, the titres of antibodies in serum were within the range 80-67.27 G ( $\log 1.9-1.83 \pm 0.07$ ), but were significantly higher than the rates before vaccination ( $P < 0,05$  – with the introduction of 15,64 and 19,55 million / cm<sup>3</sup> of spore and  $p < 0,001$  – with the introduction of 11,73 million / cm<sup>3</sup> spores).

28 days after vaccination, antibody titers in animal groups continued to increase unbelievably at 7.82, 10.42, 15.64, 19.55, 20.85, 23.45 and 24.76 million/cm<sup>3</sup> spores after vaccination. With the exception of dose administration – 11.73 million / cm<sup>3</sup> spores. In control animals, the titres of antibodies in serum were within the range of 10.0 – 14.14 G ( $\log 1-1.15 \pm 0.15$ ). In addition, the titers of antibodies in the serum of calves were highest at 28 days after the vaccine injection at a dose of 15.64-20.85 million / cm<sup>3</sup> spores. Indicators of antibody titers were the same at 11.73, 23.45 and 24.76 million/cm<sup>3</sup> spores.

After 180 days, the titre values decreased in all experimental animals, but were highest ( $G = 40.0$ ) when administered to animals at 11.73-20.85 million / cm<sup>3</sup> spores. At the use of 7.82-10.42 million / cm<sup>3</sup>, the indices were at least the worst ( $G = 14.14$  and  $20.0$ , and  $\log = 1.22$  and  $1.30$ ) among the experimental animals, but higher, compared to The control group, since they did not have antibodies in the blood serum.

In the second group of animals vaccinated at the age from 3 to 6 months, a significant ( $p < 0.001$ ) increase in titres was recorded at 14 and 28 days after vaccination. At 14 days after vaccination of animals at a dose of 7.82 – 10.42 million/cm<sup>3</sup> antibody spores increased to 47.57 G ( $\log 1.33 \pm 0.03$  and  $1.67 \pm 0.1$ ), whereas in the control group figures were 2 times lower and amounted to 25.2-20.0 G ( $\log 1.4 – 1.3$ ).

For the introduction of 11.73-19.55 million spores, the titres of antibodies in serum were within the range 80-67.27 G ( $\log 1.9-1.83 \pm 0.07$ ), but were significantly higher than the rates before vaccination ( $P < 0,05$  – with the introduction of 15,64 and 19,55 million/cm<sup>3</sup> of spore and  $p < 0,001$  – with the introduction of 11,73 million/cm<sup>3</sup> spores).

28 days after vaccination, antibody titers in animal groups continued to increase unbelievably at 7.82, 10.42, 15.64, 19.55, 20.85, 23.45 and 24.76 million/cm<sup>3</sup> spores after vaccination. With the exception of dose administration – 11.73 million/cm<sup>3</sup> spores. In control animals, the titres of antibodies in serum were within the range of 10.0 – 14.14 G ( $\log 1-1.15 \pm 0.15$ ). In addition, the titers of antibodies in the serum of calves were highest at 28 days after the vaccine injection at a dose of 15.64-20.85 million/cm<sup>3</sup> spores. Indicators of antibody titers were the same at 11.73, 23.45 and 24.76 million/cm<sup>3</sup> spores.

After 180 days, the titre values decreased in all experimental animals, but were highest ( $G = 40.0$ ) when administered to animals at 11.73-20.85 million / cm<sup>3</sup> spores. At the use of 7.82-10.42 million/cm<sup>3</sup>, the indices were at least the worst ( $G = 14.14$  and  $20.0$ , and  $\log = 1.22$  and  $1.30$ ) among the experimental animals, but higher, compared to the control group, since they did not have antibodies in the blood serum. In the second group of animals vaccinated at the age from 3 to 6 months, a significant ( $p < 0.001$ ) increase in titres was recorded at 14 and 28 days after vaccination.

Thus, the applied doses of the vaccine made from the strain *Bacillus anthracis* UA-07 cause the synthesis of specific antibodies. In connection with this, in order to rational use of the drug, it is advisable to use for the vaccination of animals 11,73-19,55 million/cm<sup>3</sup> spores. At that, the recommended for use live antibodies against the anthrax of animals of the strain "SB" and "K-79Z" at 20-25 million/cm<sup>3</sup> spores. At the same time, this is a confirmation of the higher immunogenicity of the strain *Bacillus anthracis* UA-07.

According to the analysis of the results of immunological studies, it has been proved that a dose of  $16.0 \pm 4$  (11.73-19.55) million/cm<sup>3</sup> spores for the inoculation of cattle at the age from 2 to 3 months provides the formation of intense immunity, which is confirmed by the indexes of antibody titers At 14, 28 days and 6 months after the vaccine.

According to the results of the conducted researches it was established: the optimum dose of vaccination for cattle from the age of 3 months and older is  $16.0 \pm 4$  (11.73-19.55) million/cm<sup>3</sup> spores.

A dose of 7.82 to 10.42 mg/cm<sup>3</sup> of the experimental vaccine against *Bacillus anthracis* UA-07 strain against anthrax was less and – 20.85-24.76 million / cm<sup>3</sup> spores were not rational.

The most optimal and effective dose of *Bacillus anthracis* UA-07 strain for cattle was based on the results of a dose of  $16.0 \pm 4$  million/cm<sup>3</sup> spores.

**Key words:** anthrax, prophylaxis, vaccine, dose, immunization, *Bacillus anthracis*, Anthracac, livestock, strain, cattle.

Надійшла 18.09.2017 р.