

Представлены результаты изучения эритроцитопоеза у собак инфицированных парвовирусным энтеритом. Эксперимент проводили в ветеринарных клиниках городов Житомир, Бердичев и Киев на протяжении 2013-2016 гг., за определенный период при проведении лабораторных исследований в ИФА и с помощью тест-системы было выявлено 288 собак инфицированных вирусом семейства Parvoviridae. У больных на парвовирусный энтерит животных было установлено, что температура тела была в пределах нормы – $38,7 \pm 0,05$ °C, относительно клинических признаков то они характеризовались типичным проявлением энтерита.

Установлено, что у больных животных отмечали эритропению, снижение величины гематокрита, наблюдали незначительное увеличение содержания гемоглобина в одном эритроците, гипопропротеинемию и гипоальбуминемию, увеличение коэффициента де Риттиса и активности АсАТ.

Ключевые слова: парвовирусный энтерит собак, кровь, эритроцитопоез, стабилизированная кровь, сыворотка крови.

Indicators of erythrocytopenes in dog under parvovirus entity Radsikhovskii N.

Introduction. In the general pathology of the dogs, enterovirus infections of the puppies occupy a leading place, and a particular concern is caused by diseases of mixed etiology that go beyond the typical manifestation of clinical signs. Viral diseases of domestic dogs in urban settings are extremely common especially parvovirus enteritis which can lead to 100% death.

The purpose of the work. The purpose of this work was to study the indicators of erythrocytopenes in dogs for parvoviral enteritis.

Material and methods. The work was carried out at the Faculty of Veterinary Medicine of Zhytomyr National Agroecological University (ZNAEU), as well as in the veterinary clinics of the city of Zhytomyr Berdychiv and Kiev from 2013 to 2016 in breeding and non-breeding dogs. The studies on confirming the diagnosis of viral enteritis were carried out using rapid tests VetExpert CPV- Ag and in the veterinary laboratory using ELISA.

Hematologic and biochemical studies were carried out in a manual mode and by means of a biochemical analyzer BioChem SA using reagents from the company High Technology, Inc. (USA).

Where analyzed in blood amount of hemoglobin, hematocrit, speed of erythrocyte sedimentation by electronic-automatic method. Based on the results obtained, the indices of red blood – the content of hemoglobin in one erythrocyte (MCH), the average concentration of hemoglobin in erythrocyte (MCHC) and the average amount of red blood cells (MCV) – were calculated. In serum blood detected common protein by biuretic method, urea by fermentation method, creatinine by Jaffe method. Activity of Asparagine and Alanine aminotransferase (AsAT and AlAT) by method of Reitmann-Frenkel, alkaline phosphatase by kinetic method.

Results of research and discussion. In 2013–2016 were found and confirmed diagnosis parvovirus enteritis in 288 dogs. It was set that sick animals had low quantity of RBC because of infectious agent that provides hemolysis of erythrocytes. It was set hypoproteinemia ($47,6 \pm 0,7$ g/L) in serum blood of sick animals. An increase in the coefficient of de Rittis was found to be 1.86 ± 0.4 IU/L and the activity of AsAT 61.4 ± 3.90 IU/L. Creatinine in sick dogs was 49.9 ± 3.00 μ mol/L.

Conclusions and prospects for further research. In parvovirus enteritis, there is a complex pathogenesis characterized by 10% erythropenia, a decrease in the hematocrit size by 2.5%, a slight increase in the hemoglobin content in one erythrocyte by 5%, and the liver is also affected by dogs, as shown by a decrease in the total protein level by 7% %, albumins by 35%, and a violation of the cardiovascular system, indicating an increase in the de Rittis factor by 7% and the activity of the AsAT by 12%.

Key words: canine parvoviridae, blood, erythrocytopenes, stabilized blood, blood serum.

Надійшла 22.11.2017 р.

УДК 619:616.981.51:615.373/383:636.1

РУБЛЕНКО І.О., канд. вет. наук

*Білоцерківський національний аграрний університет
rubs@ukr.net*

СКРИПНИК В.Г., д-р вет. наук

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної
діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи*

ПІНЧУК Н.Г., канд. вет. наук

*Державний науково-контрольний інститут біотехнології
і штамів мікроорганізмів*

ВИЗНАЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВАКЦИННОГО ШТАМУ VAC. ANTHRACIS UA-07 У ВИРОБНИЧИХ УМОВАХ

В останні роки в світі захворювання на сибірку серед тварин, порівняно з попередніми 50–100 роками, зустрічається рідше. Поширення захворювання сприяють наступні фактори: наявність сприятливих тварин, перебування збудника тривалий час у ґрунті, наявність старих місць поховання тварин тощо. На території нашої держави існує велика кількість місць захоронень хворих як тварин (більше 4000 місць) так і людей на сибірку, які перебувають у неналежному згідно із сучасними вимогами стані. Розробка сучасних вакцин, виготовлених із авірулентних штамів один із напрямів розвитку профілактики.

© Рубленко І.О., Скрипник В.Г., Пінчук Н.Г., 2017.

Метою дослідження було вивчення стабільності біологічних властивостей вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA-07 у виробничих умовах. Вивчали нешкідливість і наявність патогенності, за проведення багаторазових пасажів на поживних середовищах, а також у дослідах на мурчаках і білих мишах.

Наведені результати визначення стабільності біологічних властивостей вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA-07. За проведення 20 пасажів на бульйон Хоттінгера виявлено сталість культуральних властивостей досліджуваного штаму. За проведення досліджень було встановлено, що ріст досліджуваного штаму у рідкому середовищі Хоттінгера мав вигляд «шматочка вати», який відносно важко розбивався при струшуванні. За багаторазових пересівів на поживні щільні та рідкі середовища ріст сталий, відповідав росту збудника; багаторазове пасажування через організм лабораторних тварин (мурчаків, мишей) не зумовлювало зміни морфологічних, культуральних властивостей; вакцинний штам *Bacillus anthracis* UA-07 має сталі біологічні властивості і може бути використаний у подальших дослідженнях для створення вакцини.

Ключові слова: сибірка, стабільність, біологічні властивості, *Bacillus anthracis*, штам, миші, мурчаки, посів, пересів, культивування, рухливість, капсула.

Постановка проблеми. У світі, серед тварин та людей, існує проблема інфекційного захворювання на сибірку. Постійні повідомлення про захворювання на сибірку у різних країнах надає ВООЗ [1–3]. Вивченням випадків захворювання, епідеміології, профілактики, лікування та їх удосконаленням займається велика кількість вчених, науковців [4–10]. Одним із основних питань є розробка ефективних засобів профілактики, що сприятиме зниженню витрат на наслідки захворювання. Використання сучасних вакцин, виготовлених із нешкідливих, авірулентних штамів – розглядається як напрям розвитку профілактики, який приведе до покращення епізоотичної ситуації.

Аналіз досліджень та публікацій. На території України та інших країн існує велика кількість місць захоронень хворих як тварин так і людей на сибірку, які перебувають у неналежному згідно із сучасними вимогами стані. У зв'язку з цим існує постійний ризик небезпеки виникнення нових випадків захворювання на сибірку [8]. Необхідністю для нашої території є удосконалення та розробка якісної системи реагування, профілактики та лікування внаслідок спалаху інфекційного захворювання [9–17]. У зв'язку з цим, потрібно розробляти та опрацьовувати нові підходи до розробки вакцинних препаратів від сибірки тварин. Для здійснення цього завдання важливе значення має отримання нового штаму з метою виготовлення вакцини. Результати власних досліджень свідчать про доцільність використання *Bacillus anthracis* UA-07 для виготовлення вакцини для профілактики сибірки у тварин [18, 19].

Мета дослідження полягала у вивченні стабільності біологічних властивостей вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA-07 у виробничих умовах.

Матеріал і методика досліджень. Стабільність біологічних властивостей штаму *Bacillus anthracis* UA-07 визначали за нешкідливістю і наявністю патогенності (яка властива збуднику сибірки), за результатами багаторазових пасажів на поживних середовищах, особливо на тих, які сприяють утворенню капсули, а також у дослідах на мурчаках і білих мишах.

Пасажування на поживних середовищах проводили шляхом посіву у бульйон Хоттінгера (рН 7,2) вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA-07. Культивували одну добу за температури 37 °С, потім вивчали культуральні властивості штаму. Таких послідовностей виконували 20 разів. Кожного разу з отриманої культури виготовляли препарати-мазки, фарбували методом Грама і Ребігера. Метод фарбування за Грамом: фіксований мазок накривали смужкою фільтрувального паперу, на який наливали на 2 хв розчин карболового генціанвіолету. Потім папір знімали, залишки барвника зливали і наливали на мазок розчин Люголя на 1 хв, після чого його зливали, наносили на 30–40 с 96° етиловий спирт. Препарат ретельно промивали водою і додатково фарбували 0,1 % водним розчином карболового фуксину (1 хв). Потім препарат промивали водою, висушували і виконували мікроскопування під імерсійною системою. Методом Ребігера: на нефіксований мазок наносили на 1,0 хв розчин генціанвіолету у формаліні (15–20 г фарби у 100 см³ 40 % розчину формаліну). Потім препарат промивали дистильованою водою, до тих пір, поки з препарату не стікала чиста прозора вода, висушували і мікроскопували під імерсійною системою.

Рухливість вивчали шляхом посіву культури методом уколу в стовпчик ТТХ (тетразолієвий червоний-2,3,5 тетрафеніл тетразол хлоридом). Посіви культивували за температури 37 °С протягом 20 год [20].

Тест перлинне намисто визначали на середовищі Хоттінгера. В одну пробірку додавали пеніцилін із розрахунку 0,5 Од/см³, другу залишали без антибіотика (для контролю). Вміст

кожної пробірки переливали у бактеріологічні чашки. Після застигання середовища дно чашок розділяли на сектори. У кожен сектор вносили по одній краплі досліджуваної 4-годинної бульйонної культури. Посіви культивували 3 год за температури 37 °С і продивлялися під мікроскопом з імерсійним об'єктивом, попередньо накривали кожну ділянку росту покривним скельцем. Для контролю посів досліджуваного штаму проводили на середовище Хоттінгера без пеніциліну.

Двадцятиразові пересіви вакцинного штаму виконували на середовище МПА з сироваткою крові, а також 10-разові пасажі через лабораторних мишей та мурчаків. Мишей (n=3) щеплювали у дозі 10 млрд/см³ живих спор *Bacillus anthracis* UA-07. Із селезінки, печінки, легенів, крові серця загиблих тварин виготовляли препарати-мазки та препарати-відбитки, фарбували за методом Ребігера для виявлення капсул.

Мурчаків, масою 150–200 г (n=20), щеплювали підшкірно в дозі 10 млрд/см³. На 2-у добу мурчакам проводили евтаназію та робили посіви із місць введення та селезінки на агар Хоттінгера. Культивували за температури 37 °С протягом доби. Отриману культуру змивали 0,85 % розчином натрію хлориду, визначали концентрацію та вводили суспензію наступним мурчакам (n=2). Таких пасажів виконували лише 3 рази (у зв'язку з тим, що культура не виділялася з організму мурчаків).

Для виявлення капсул досліджуваний штам висівали у 4 пробірки під резиновими пробками з середовищем ГКІ (40 мл сироватки крові ВРХ і 60 мл розчину Хенкса). Культивували за температури 37 °С протягом 18 год. Пересіви проводили на наступні 4 пробірки з таким же середовищем. Таких пересівів проводили 20 разів. За кожного пересіву (пасажу) виготовляли препарати-мазки з отриманих культур, фіксували етиловим спиртом з додаванням 3 % перексиду водню, фарбували методом Ребігера. Із кожного пасажу виготовляли по 8 препаратів-мазків. Потім, після 20 пасажів, культуру висівали на 1 % бікарбонатний-сироватковий агар і культивували протягом 48 год за температури 37 °С і вивчали особливості отриманих колоній. З отриманих колоній виготовляли препарати-мазки, які фарбували методом Ребігера.

Після 20-разового пасажування на середовищі ГКІ визначали залишкову вірулентність для білих мишей. Досліджувану культуру пасажували 10 разів через організм білих мишей (n=30), масою 16–20 г з попереднім підшкірним введенням кортизону (для підвищення чутливості до культури) в дозі 5 мг, а через 3 год – внутрішньочеревно 0,5 см³ досліджуваної культури концентрацією бактерій 1 млрд/см³. На другу добу після введення суспензії загиблих мишей розтинали, робили посіви із селезінки, печінки та крові серця. Посіви культивували за температури 37 °С на агарі Хоттінгера 24 год. Отримані колонії змивали 0,85 % розчином натрію хлориду, визначали концентрацію та вводили суспензію новим мишам (n=3). Під час кожного пасажу проводили виготовлення препаратів-мазків і препаратів-відбитків із печінки, селезінки та крові серця, які фарбували методом Ребігера. Одночасно проводили посіви на середовище ГКІ.

Основні результати дослідження. Результати дослідження стабільності біологічних властивостей штаму *Bacillus anthracis* UA-07 наведено у таблиці 1.

Вакцинний штам *Bacillus anthracis* UA-07, мікроорганізм роду *Bacillus*, виду *anthracis*, нерухомий, паличкоподібний грампозитивний, факультативний анаероб. На щільному поживному середовищі Хоттінгера ріс у вигляді колоній R-форми.

За проведення 20 пасажів через бульйон Хоттінгера виявлено сталість культуральних властивостей досліджуваного штаму. Ріст у рідкому середовищі був у вигляді «шматочка вати», який відносно важко розбивався при струшуванні.

Посівом методом «укола» у товщу середовища ТТХ виявлено відсутність рухливості культури протягом всього терміну дослідження.

У результаті постановки тесту «перлинне намисто» на середовищі з вмістом пеніциліну виявили кулясті форми клітин збудника *Bacillus anthracis* UA-07, розташованих у вигляді ланцюжків, які нагадували намисто із перлин. На контрольному середовищі без пеніциліну клітини *Bac. anthracis* формували довгі ланцюжки з типових паличок.

Двадцятиразові пасажі досліджуваного штаму через поживне середовище МПА з сироваткою крові не призвели до утворення капсули збудником *Bacillus anthracis* UA-07. Під час мік-

роскопії препаратів-мазків та препаратів-відбитків виявлялися лише паличкоподібні безкапсульні клітини.

Таблиця 1 – Характеристика стабільності досліджуваних показників штаму *Bacillus anthracis* UA–07 протягом 20 пасажів через організм тварин та пересіви

п/н	Показник дослідження	Характеристика
1	Морфологія	Грампозитивні прямі палички, які розміщуються короткими ланцюжками або попарно, внутрішні краї паличок різко обрубані, зовнішні, вільні кінці, як правило, округлі
2	Фарбування за методом Грама	Грампозитивні прямі палички
3	Фарбування методом Ребігера	Тіла мікробних клітин зафарбовувалися у фіолетовий колір, а капсули – відсутні
4	Рухливість	У середовищі ТТХ – не рухливий
5	Ріст на середовищі МПА	Великі, матові, сіро-білі шорсткі колонії (R-форми)
6	Ріст на середовищі МПБ	На дні пробірки утворювався пухкий осад у вигляді «шматочка вати», бульйон залишався прозорим, за струшування пробірки бульйон не мутнів, а осад розбивався на дрібні пластівці
7	Ріст на агарі Хоттінгера	Великі, матові, сіро-білі шорсткі колонії (R-форми)
8	Ріст на агарі Хоттінгера з пеніциліном	Кулясті форми бактеріальних клітин сибірки, розташовані у вигляді ланцюжків, які нагадують намисто із перлин
9	Наявність капсул у препаратах із поживних середовищ (ГКІ, Хоттінгера, МПА, МПБ)	Відсутні
10	Наявність капсул у препаратах із організму мурчаків та мишей	Відсутні

Десятиразові пасажі вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA–07 через організм мишей у дозі 10 млрд./см³ не призвели до появи капсули у бактерій, які виявляли на досліджуваних препаратах-мазках та препаратах-відбитках із селезінки, печінки, легенів та крові серця.

Дослідженнями на мурчаків, за введення 10 млрд культури, встановлено, що *Bacillus anthracis* UA–07 після 3-разового повторення попереднього пасажу не виділялася з організму мурчаків. Ці дані свідчать про те, що штам стабільний і в організмі мурчаків не перетворюється у вірулентний стан. При вивченні залишкової вірулентності на мишах встановлено, що підшкірне введення кортизону зумовлює зниження захисних властивостей організму тварин, а доза збудника з концентрацією 1 млрд/см³ спричинює їх загибель, але без утворення капсули.

Висновки. 1. При багаторазових пересівах на поживні щільні та рідкі середовища ріст вакцинного штаму *Bacillus anthracis* UA–07 сталий і відповідає росту збудника. 2. Багаторазове пасажування через організм лабораторних тварин (мурчаків, мишей) не викликає зміни морфологічних та культуральних властивостей штаму *Bacillus anthracis* UA–07. 3. Вакцинний штам *Bacillus anthracis* UA–07 володіє сталими біологічними властивостями і може бути використаний у подальших дослідженнях для створення вакцини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Повідомлення про захворювання. Бюлетень про інфекційні захворювання 01–31.2017р. Available from: http://vetlabresearch.gov.ua/news/?ELEMENT_ID=1922.
2. Anthrax, Mozambique. Information received on 03.10.2017 from Dr Américo Da Conceicao, National Director, Veterinary Services, Ministry of Agriculture, Maputo, Mozambique; OIE. 2017. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=24858
3. Anthrax. Weekly disease information. WAHIS Interface Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI/index/newlang/en.
4. Anthrax outbreaks in the humans – livestock and wildlife interface areas of Northern Tanzania: a retrospective record review 2006–2016 / E.R. Mwakapeje, S. Høgsset, R. Fyumagwa, et. all. // J. BMC Public Health – 2018. <https://bmcpublihealth.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12889-017-5007-z?site=bmcpublihealth.biomedcentral.com3>.
5. Liang X.D. Anthrax surveillance situation in China 2005/ X.D. Liang // J. Disease Surveillance. – 2015. –14(2). – P. 69–71.
6. Mapping the Distribution of Anthrax in Mainland China, 2005–2013 / W. Chen, S. Lai, Y. Yang, et al. // J. Plos. – 10(5). – 2016. <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004637>

7. Ground anthrax bacillus refined isolation (GABRI) method for analyzing environmental samples with low levels of bacillus anthracis contamination // A. Fasanella, T.P. Di, G. Garofolo, et al. // J. BMC Microbiol. – 2013. – №13. – P. 113-167.
8. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). [Accessed 26 Jan 2014]. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>.
9. *Bacillus anthracis* Diversity and Geographic Potential across Nigeria, Cameroon and Chad: Further Support of a Novel West African Lineage / J.K. Blackburn, M.O. Odugbo, M.V. Ert, et al. // J. Plos. Neglected Tropical Diseases 9(9) – 2015. <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003931>
10. Prioritization of Zoonotic Diseases in Kenya, 2015 / P. Munyua, A. Bitek, E. Osoro, et al. // J. Plos. – 10(5). – 2016. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0161576>
11. Human Anthrax Transmission at the Urban–Rural Interface, Georgia / I. Kracalik, L. Malania, P. Imnadze, J.K. Blackbur // Am J. Trop Med Hyg. – 2015. – № 93(6). – P. 1156–1159.
12. Modeling the environmental suitability of anthrax in Ghana and estimating populations at risk: Implications for vaccination and control / I.T. Kracalik, E. Kenu, E.N. Ayamdooh, et al. // J. Plos. – 10(5). – 2017 – <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005885>.
13. First Autochthonous Coinfected Anthrax in an Immunocompetent Patient / P. Afshar, M.T. Hedayati, N. Aslani, S. Khodavaisy. 2015. <https://www.hindawi.com/journals/crim/2015/325093/abs/>
14. Berger T. Injectional anthrax—new presentation of an old disease / T. Berger, M. Kassirer, and A.A. Aran // Eurosurveillance. – Vol. 19. – № 32. – 2014. – 11 p.
15. Centers for disease control and prevention expert panel meetings on prevention and treatment of anthrax in adults / K.A. Hendricks, M.E. Wright, S.V. Shadomy, et al. // Emerg Infect Dis. – 2014. – no. 20(2). <http://dx.doi.org/10.3201/eid2002.130687>
16. Applying risk perception theory to public health workforce preparedness training / D.J. Barnett, R.D. Balicer, D.W. Blodgett, et al. // J. Public Health Manag Pract. – 2005. – V.11. №6. – P.33–37.
17. OIE. OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2015, 2015 [8, December, 2015]. Available from: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2015/>.
18. Spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Ukraine during the past century (1913–2012) / M. Bezumennyi, K.H. Bagamian, et al. // J. Elsevier. – 2014. – V. 54. – P. 129–138.
19. 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.
20. Лабораторна діагностика сибірки тварин, індикація збудника з патологічного та біологічного матеріалу, сировини тваринного походження та об'єктів навколишнього середовища / В.Г. Скрипник, І.О. Рубленко, Т.О. Гаркавенко та ін. // ДВФССУ. Київ, 2015. – 78 с.

REFERENCES

1. Povidomlennja pro zahvorjuvannja. Bjuleten' pro infekcijni zahvorjuvannja 01–31.2017r. Available from: http://vetlabresearch.gov.ua/news/?ELEMENT_ID=1922.
2. Anthrax, Mozambique. Information received on 03.10.2017 from Dr Américo Da Conceicao, National Director, Veterinary Services, Ministry of Agriculture, Maputo, Mozambique; OIE. 2017. Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=24858
3. Anthrax. Weekly disease information. WAHIS Interface Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI/index/newlang/en.
4. Mwakapeje E.R., Høgset S., Fyumagwa R., Nonga H.E., Mdegela R.H., Skjerve E., Mwakapeje E.R. (2018). Anthrax outbreaks in the humans – livestock and wildlife interface areas of Northern Tanzania: a retrospective record review 2006–2016. J. BMC Public Health Available from: <https://bmcpublihealth.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12889-017-5007-z?site=bmcpublihealth.biomedcentral.com3>.
5. Liang X.D. (2015). Anthrax surveillance situation in China. J. Disease Surveillance. No.14(2) pp. 69–71.
6. Chen W., Lai S, Yang Y., Liu K., Li X., et al. (2016) Mapping the Distribution of Anthrax in Mainland China, 2005–2013. J. Plos, No. 10(5). <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004637>
7. Fasanella A., Di T.P., Garofolo G., Colao V., Marino L., Buonavoglia D., et al. (2013). Ground anthrax bacillus refined isolation (GABRI) method for analyzing environmental samples with low levels of bacillus anthracis contamination. J. BMC Microbiol, pp. 113-167.
8. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2014) <http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>.
9. Blackburn J.K., Odugbo M.O., Ert M.V., O’Shea B., Mullins J., et al. (2015). *Bacillus anthracis* Diversity and Geographic Potential across Nigeria, Cameroon and Chad: Further Support of a Novel West African Lineage J. Plos. Neglected Tropical Diseases, no. 9(9) <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003931>
10. Munyua P., Bitek A., Osoro E., Pieracci E.G., Muema J., et al. (2016). Prioritization of Zoonotic Diseases in Kenya, J. Plos, No.10(5) <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0161576>
11. Kracalik I., Malania L., Imnadze P., Blackburn J.K. (2015). Human Anthrax Transmission at the Urban–Rural Interface, Georgia Am J Trop Med Hyg. no. 93 (6), pp. 1156–1159.
12. Kracalik I.T., Kenu E., Ayamdooh E.N., Cudjoe E.A., et al. (2017). Modeling the environmental suitability of anthrax in Ghana and estimating populations at risk: Implications for vaccination and control J. Plos. No. 10(5) <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005885>.
13. Afshar P., Hedayati M.T., Aslani N., Khodavaisy S. (2015). First Autochthonous Coinfected Anthrax in an Immunocompetent <https://www.hindawi.com/journals/crim/2015/325093/abs/>.

14. Berger T., Kassirer M., Aran A.A. (2014). Injectional anthrax—new presentation of an old disease. *Eurosurveillance*. Vol. 19, no. 32, 11 p.
15. Hendricks K.A., Wright M.E., Shadomy S.V., Bradley J.S., Morrow M.G., Pavia A.T., et al. (2014). Centers for disease control and prevention expert panel meetings on prevention and treatment of anthrax in adults. *Emerg Infect Dis*. no. 20(2), <http://dx.doi.org/10.3201/eid2002.130687>
16. Barnett D.J., Balicer R.D., Blodgett D.W., Everly G.S., Omer S.B., et al. (2005). Applying risk perception theory to public health workforce preparedness training. *J. Public Health Manag Pract*, pp. 33–37.
17. OIE. OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2015 (2015). <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2015/>
18. Bezymennyi M., Bagamian K.H., Barro A., Skrypnyk A., Skrypnyk V., Blackburn J.K. Bezymennyi M. (2014). Spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Ukraine during the past century (1913–2012) *J. Elsevier*. Vol. 54, pp. 129–138.
19. Rublenko I.O., Skripnik V.G. Analiz danih epizootichnih spalahiv sibirki na teritoriyi Ukrayini (period 1994 – 2016 rr.). [Analysis of the data of epizootic outbreaks of anthrax on the territory of Ukraine (1994 – 2016)]. *Nauk. visnik vet. med. Zbirnik naukovih prac* [Scientific Herald of Veterinary Medicine. Collection of scientific works], 2016, no.1, (127), pp. 87–95.
20. Skripnik V.G., Rublenko I.O., Garkavenko T.O. ta in. (2015). Laboratorna diagnostika sibirki tvarin, indikacija zbudnika z patologichnogo ta biologichnogo materialu, sirovini tvarinnogo pohodzhennja ta ob'ektiv navkolishn'ogo seredovishha [Laboratory diagnosis of anthrax of animals, indication of a pathogenic agent from pathological and biological material, raw materials of animal origin and objects of the environment]. *DVFSSU*. Kiyiv, 78 p.

Определение стабильности биологических свойств вакцинного штамма *Bac. anthracis* UA-07 в производственных условиях

И.А. Рубленко, В.Г. Скрипник, Н.Г. Пинчук

В последние годы в мире заболевание сибирской язвой среди животных по сравнению с предыдущими 50-100 лет, встречается реже. Распространению заболевания способствуют следующие факторы: наличие благоприятных животных, пребывание возбудителя длительное время в почве, наличие старых мест захоронения животных и тому подобное. На территории нашего государства существует большое количество мест захоронений больных как животных (более 4000 мест), так и людей сибирской язвой, которые находятся в ненадлежащем согласно современным требованиям состоянии. Разработка современных вакцин, изготовленных из авирулентных штаммов одно из направлений развития профилактики.

Целью исследования было изучение стабильности биологических свойств вакцинного штамма *Bacillus anthracis* UA-07 в производственных условиях. Изучали безвредность и наличие патогенности, при проведении многократных пассажей на питательных средах, а также в опытах на морских свинках и белых мышах.

Приведены результаты определения стабильности биологических свойств вакцинного штамма *Bacillus anthracis* UA-07. При проведении 20 пассажей на бульон Хоттингера обнаружено постоянство культуральных свойств исследуемого штамма. При проведении исследований было установлено, что рост исследуемого штамма в жидкой среде Хоттингера выглядел как «кусочек ваты», который относительно трудно разбивался при встряхивании. При многократных пересевах на питательные плотные и жидкие среды рост устойчивый, соответствовал росту возбудителя; многократные пасажи через организм лабораторных животных (морских свинок, мышей) не вызывали изменения морфологических, культуральных свойств; вакцинный штамм *Bacillus anthracis* UA-07 обладает постоянными биологическими свойствами и может быть использован в дальнейших исследованиях для создания вакцины.

Ключевые слова: сибирская язва, стабильность, биологические свойства, *Bacillus anthracis*, штамм, мыши, морские свинки, посев, пересев, культивирования, подвижность, капсула.

Determination of the stability of the biological properties of the vaccine strain *Bac. anthracis* UA-07 in production conditions

Rublenko I., Skrypnyk V., Pinchuk N.

In the world, among animals and humans, there is the problem of infectious anthrax disease. The WHO provides persistent reports of anthrax disease in different countries. A large number of scholars and scientists are involved in the study of cases of disease, epidemiology, prevention, treatment and their improvement. One of the main issues is the development of effective preventive measures, which in turn will reduce the cost of the disease. The use of modern vaccines made from harmless, avirulent strains – is considered as a direction of development of prevention, which will improve the epizootic situation.

On the territory of Ukraine and other countries, there are a large number of burial places of patients, both animals and people on anthrax, which are in an improper condition in accordance with modern requirements. In this regard, there is a constant risk of the emergence of new cases of anthrax disease. The need for our territory is to improve and develop a quality response, prevention and treatment system due to an outbreak of an infectious disease. In this regard, it is necessary to develop and develop new approaches to the development of vaccine drugs against the anthrax of animals. To achieve this, it's important to get a new strain to make the vaccine. The results of their own studies suggest that the use of *Bacillus anthracis* UA-07 for the production of a vaccine for the prevention of anthrax in animals.

The purpose of the study was to study the stability of the biological properties of the *Bacillus anthracis* UA-07 vaccine strain under production conditions.

Vaccine strain *Bacillus anthracis* UA-07, microorganism of the genus *Bacillus*, species anthracis, immobile, rod-positive gram, optional anaerobes. On a dense nutrient medium, Hottinger grew in the form of R-shaped colonies.

During the conduct of 20 passages through the Hoottinger broth, the constancy of the cultural properties of the investigated strain was revealed. Growth in a liquid medium was in the form of a "piece of cotton", which was relatively difficult to shatter when shaking.

Seeding by the method of "prick" into the thickness of the environment TTH revealed a lack of mobility of culture throughout the study period.

As a result of the "pearl necklace" test, spherical forms of the cells of the pathogen *Bacillus anthracis* UA-07, located in the form of chains resembling a pearl necklace, were found on the medium containing penicillin. On the control medium without penicillin cells *Bac. anthracis* formed long chains of typical sticks.

Twenty-fold passages of the strain studied through the nutrient medium of the MPA with serum did not lead to the formation of a capsule by the pathogen *Bacillus anthracis* UA-07. During the microscopy of dasgs-smears and dasg-impresions, only the rod-shaped, non-encapsulated cells were detected.

Ten-fold passages of the *Bacillus anthracis* UA-07 vaccine strain caused by the bacteria in a dose of 10 billion/cm³ did not result in the appearance of a capsule in the bacteria found on the studied smears and sputum preparations, liver, lung, and heart blood.

Investigations on guinea pigs, with the introduction of 10 billion cultures, found that *Bacillus anthracis* UA-07 after a 3-time repetition of the previous passage was not isolated from the body of mollusks. These data indicate that the strain is stable and in the body of mull cells does not turn into virulent state. In the study of residual virulence in mice, it was found that subcutaneous administration of cortisone causes a decrease in the protective properties of an organism of animals, and the dose of the causative agent with a concentration of 1 billion/cm³ causes their death, but without the formation of capsules and.

With multiple transplants on nutrient dense and liquid media, the growth of the *Bacillus anthracis* UA-07 vaccine strain is consistent and consistent with the growth of the pathogen. Multiple sows through the body of laboratory animals (mollusks, mice) do not cause a change in the morphological and cultural properties of the strain *Bacillus anthracis* UA-07. Vaccine strain *Bacillus anthracis* UA-07 has stable biological properties and can be used in further studies to create the vaccine.

Key words: anthrax, stability, biological properties, *Bacillus anthracis*, strain, mice, guinea pigs, sowing, cultivation.

Надійшла 24.11.2017 р.

УДК 636.09:612.752/.753:616-073.7

САВЧУК Т. Л., аспірант

t_sav4uk@ukr.net

МАЗУРКЕВИЧ А. Й., д-р вет. наук

МАЛЮК М. О., д-р вет. наук

ТКАЧЕНКО В. В., канд. вет. наук

ГУЛЯКОВА О. Г., лікар-рентгенолог

Національний університет біоресурсів і природокористування України

РЕНТГЕНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У КІСТЦІ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УШКОДЖЕННЯ ТА ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АЛОГЕННИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Наведені результати досліджень активності та характеру репаративного остеогенезу в експериментально травмованій кістці за стимулюючого впливу трансплантованих алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Зокрема, наведені результати з вивчення рентгенологічних змін в кістковій тканині кролів за експериментального механічного ушкодження після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Встановлено, що механічне ушкодження кісткової тканини спричинює виражену реакцію з боку кісткової тканини та прилеглих м'яких тканин. Після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин в місце експериментально травмованої кісткової тканини спостерігається активізація процесів регенерації та повної консолідації кісткової тканини, яка розпочинається з ендостальної мозолі. Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини прискорюють реакцію м'яких тканин, утворення кісткової мозолі та проходження процесів консолідації кісткової тканини.

Отримані дані можуть бути використані для відновлення ушкодженої кісткової тканини, а також для подальших експериментальних досліджень.

Ключові слова: репаративний остеогенез, кісткова мозоль, кісткова тканина, рентгенівський знімок, консолідація кісткової тканини, алогенні мезенхімальні стовбурові клітини.

Постановка проблеми. Незважаючи на розвиток травматології та ортопедії, повне відновлення кісткової тканини є проблемним, оскільки нерідко зустрічаються випадки порушення консолідації кісткових відламків, результатом лікування яких є уповільнення зрощення або не-