

ISSN 0321-0502

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

**НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
«ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»**

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**МІЖВІДОМЧИЙ
ТЕМАТИЧНИЙ
НАУКОВИЙ
ЗБІРНИК**

106

**ХАРКІВ
2020**

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор: **Стегній Б. Т.**, проф., акад. НААН (Україна)
Заступник головного редактора: **Герілович А. П.**, проф., член-кор. НААН (Україна)
Відповідальний секретар: **Унковська О. М.**, канд. с.-г. наук (Україна)

ЧЛЕНИ РЕДАКЦІЙНОЇ КОЛЕГІЇ

Богач М. В., д-р вет. наук, проф. (Україна), **Болотін В. І.**, канд. вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Бусол В. О.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Вільчек С.**, д-р вет. наук, проф. (Словаччина), **Влізло В. В.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Вовк С. І.**, канд. вет. наук (Україна), **Вольфель Р.**, д-р мед. наук, проф., полк-к ВМ (Німеччина), **Гамкрелідзе А.**, д-р мед. наук, проф. (Грузія), **Гладій М. В.**, д-р екон. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Головко А. М.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Горайчук І. В.**, канд. біол. наук (США), **Горбатенко С. К.**, канд. вет. наук, доц. (Україна), **Долецький С. П.**, д-р вет. наук, доц. (Україна), **Жегунов Г. Ф.**, д-р біол. наук, проф. (Україна), **Завгородній А. І.**, д-р вет. наук, проф., член-кор. НААН (Україна), **Задорожна В. І.**, д-р мед. наук, проф., член-кор. НААН (Україна), **Ільмаз Х.**, д-р вет. наук, проф. (Туреччина), **Імнадзе П.**, д-р мед. наук, проф. (Грузія), **Калашнік М. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Коваленко Л. В.**, канд. біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Корнєйков О. М.**, канд. вет. наук (Україна), **Коцюмбас І. Я.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Кузьмак Я.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Лиманська О. Ю.**, д-р біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Мазуркевич А. Й.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Мандигра М. С.**, д-р вет. наук, проф., член-кор. НААН (Україна), **Мінухін В. В.**, д-р мед. наук, проф. (Україна), **Музика Д. В.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Немчук К.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **Оробченко О. Л.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Палій А. П.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Потконьяк А.**, д-р вет. наук, доц. (Сербія), **Ріхт Ю.**, д-р вет. наук, проф. (США), **Романько М. Є.**, д-р біол. наук, ст. наук. співроб. (Україна), **Солодянкін О. С.**, канд. біол. наук (Україна), **Співак М. Я.**, д-р біол. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Стегній М. Ю.**, канд. біол. наук, доц. (Україна), **Стибель В. В.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Ушкалов В. О.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Фещенко Ю. І.**, д-р мед. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Філатов С. В.**, канд. вет. наук (Україна), **Фотіна Т. І.**, д-р вет. наук, проф. (Україна), **Цвіліховський М. І.**, д-р вет. наук, проф., акад. НААН (Україна), **Чорний М. В.**, д-р вет. наук, проф. (Україна)

Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина» входить до категорії «Б» «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та доктора філософії» у галузях ветеринарних (спеціальності 211 — Ветеринарна медицина, 212 — Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза) і біологічних (спеціальність 91 — біологія) наук (наказ Міністерства освіти і науки України № 886 від 02.07.2020 р.).

Повні тексти статей розміщені на сайтах: видання (jvm.kharkov.ua), Національної бібліотеки України ім. В. І. Вернадського (nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed), наукової електронної бібліотеки «eLibrary» (elibrary.ru/title_about.asp?id=51320) та індексуються у Google Scholar і PИHЦ.

Затверджено до друку Вченою радою Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (протокол № 11 від 27.11.2020 р.).

Адреса редакційної колегії:

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна
тел. +38 (057) 707-20-53; тел./факс +38 (057) 704-10-90
E-mail: admin@vet.kharkov.ua, inform@vet.kharkov.ua

ISSN 0321-0502

NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE

**NATIONAL SCIENTIFIC CENTER
«INSTITUTE OF EXPERIMENTAL
AND CLINICAL VETERINARY MEDICINE»**

VETERINARY MEDICINE

**INTER-DEPARTMENTAL
SUBJECT
SCIENTIFIC
COLLECTION**

106

**KHARKIV
2020**

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief: **Stegniy B. T.**, Prof., Academician of NAAS (Ukraine)

Vice Editor-in-Chief: **Gerilovych A. P.**, Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine)

Responsible Secretary: **Unkovska O. M.**, Cand. Sci. (Agr.) (Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

Bogach M. V., Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Bolotin V. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Busol V. O.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Chorny M. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Doletskyi S. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Feshchenko Yu. I.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of NAMS (Ukraine), **Filatov S. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Fotina T. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Gamkrelidze A.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Georgia), **Gladyy M. V.**, Dr. Sci. (Econ.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Golovko A. M.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Goraichuk I. V.**, Cand. Sci. (Biol.) (USA), **Gorbatenko S. K.**, Cand. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Imnadze P.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Georgia), **Kalashnik M. V.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Korneikov O. M.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Kotsiumbas I. Ya.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Kovalenko L. V.**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Kuźmak J.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Lymanska O. Yu.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Mandygra M. S.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Mazurkevych A. Yo.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Minukhin V. V.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Ukraine), **Muzyka D. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Niemczuk K.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **Orobchenko O. L.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Senior Researcher (Ukraine), **Paliy A. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Potkonjak A.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Assoc. Prof. (Serbia), **Richt J.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (USA), **Romanko M. Ye.**, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher (Ukraine), **Solodiantkin O. S.**, Cand. Sci. (Biol.) (Ukraine), **Spivak M. Ya.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Academician of NAS (Ukraine), **Stegniy M. Yu.**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof. (Ukraine), **Stybel V. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Ukraine), **Tsvilikhovsky M. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Ushkalov V. O.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vilcek S.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Slovakia), **Vlizlo V. V.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Academician of NAAS (Ukraine), **Vovk S. I.**, Cand. Sci. (Vet. Med.) (Ukraine), **Wölfel R.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Colonel (MC) (Germany), **Yilmaz H.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Turkey), **Zadorozhna V. I.**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Cor.-member of NAMS (Ukraine), **Zavgorodniy A. I.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof., Cor.-member of NAAS (Ukraine), **Zhegunov G. F.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Ukraine)

Inter-departmental subject scientific collection 'Veterinary Medicine' included in the category 'B' of the 'List of scientific professional editions of Ukraine, which can be published results of dissertations for degrees of Doctor of Sciences, Candidate of Sciences, and Doctor of Philosophy' in the fields of veterinary (specialities 211 — Veterinary Medicine, 212 — Veterinary Hygiene, Sanitation and Expertise) and biological (speciality 091 — Biology) sciences (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No. 886 from 02.07.2020).

The full text of articles posted on websites of: the edition (jvm.kharkov.ua), the Vernadsky National Library of Ukraine (nbuv.gov.ua/j-tit/vetmed), the scientific electronic library «eLibrary» (elibrary.ru/title_about.asp?id=51320), and indexed in Google Scholar and RSCI.

Publication authorized by the Scientific Council of the National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine' (protocol No. 11 from 27.11.2020).

Editorial Board Address:

NSC 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine'
83, Pushkinska St., Kharkiv, 61023, Ukraine
tel. +38 (057) 707-20-53; tel./fax +38 (057) 704-10-90
E-mail: admin@vet.kharkov.ua, inform@vet.kharkov.ua

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

УДК 619:616.98-078:578.82/.83[SBV]:577.2.08:636.2/.3

DOI [10.36016/VM-2020-106-1](https://doi.org/10.36016/VM-2020-106-1)

ЗАСТОСУВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ХВОРОБИ ШМАЛЛЕНБЕРГ

**Лиманська О. Ю., Солодянкін О. С., Рудова Н. Г.,
Корнєйков О. М., Герілович А. П.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: olgaliman@ukr.net

Метою дослідження є визначення молекулярних маркерів для виявлення вірусу хвороби Шмалленберг за допомогою стандартної ПЛР з урахуванням генетичної структури збудника. Для отримання послідовностей геномних РНК вірусу використовували міжнародні бази даних GenBank, EMBL, DDBJ. Для проведення філогенетичного аналізу застосовували програму MEGA v. 4.0.2. Традиційні дендрограми були побудовані з використанням методу зв'язування найближчих сусідів. Аналіз філогенетичного дерева проводили шляхом візуальної оцінки його топології та попарних відстаней між компонентами вибірки. Множинне вирівнювання вибраних послідовностей, визначення молекулярних маркерів для виявлення вірусу хвороби Шмалленберг проводили за допомогою програми BioEdit v. 7.0.0 та модуля ClustalW MEGA 4. Підтверджено припущення щодо реасортації вірусу хвороби Шмалленберг. Установлено, що сегмент S вірусу є найбільш придатним молекулярним маркером для виявлення вірусу хвороби Шмалленберг шляхом стандартного варіанту ПЛР. Вибрана відповідна система праймерів, яка може бути надалі використана для розробки методу індикації генетичного матеріалу вірусу хвороби Шмалленберг

Ключові слова: молекулярний маркер, ПЛР, РНК

У сучасних умовах розвитку сільськогосподарської галузі, міжнародної торгівлі тваринами та продукцією тваринного походження однією з головних задач ветеринарної медицини нашої країни є, зокрема, забезпечення благополуччя тваринництва та птахівництва, виробництва повноцінної та безпечної продукції. Останнім часом особливе занепокоєння викликають екзотичні захворювання, які раніше не зустрічалися на території України. Крім таких небезпечних захворювань, як блютанг та африканська чума свиней, з якими фахівці ветеринарної медицини зіткнулися в останнє десятиліття, у 2011 р. в Німеччині було виявлено нове захворювання, масові випадки якого незабаром мали місце і на території Нідерландів, — хвороба Шмалленберг [1]. Збудником хвороби Шмалленберг є РНК-вміщуючий вірус роду *Orthobunyavirus* родини Bunyaviridae, геном якого містить три сегменти та має високий ступінь гомології з геномами вірусів Акабане, Айно та Шамонда. Найбільш спорідненими до вірусу Шмалленберг є віруси Sathuperi та Douglas серогрупи Simbu [2]. Епізоотична ситуація щодо хвороби Шмалленберг у країнах Європи є складною. Згідно публікацій Національного інституту ім. Фрідріха Леффлера (Німеччина), у федеральних землях було зареєстровано близько 1000 випадків хвороби Шмалленберг, причому більшість із них — на вівчарських фермах. Згідно інформації Міністерства сільського господарства Франції, вірус хвороби Шмалленберг виявлено у 28 провінціях країни переважно у вівчарських комплексах. У Нідерландах циркуляцію вірусу хвороби Шмалленберг було встановлено серед тварин 16 тваринницьких ферм, 97 вівчарських ферм і серед поголів'я кіз п'яти ферм. У Бельгії вірус хвороби Шмалленберг було виявлено у 165 господарствах, серед яких 135 — це вівчарські ферми. У Російській Федерації у 10 регіонах (зокрема у Курській, Белгородській, Володимирській та інших областях) було виявлено антитіла до вірусу хвороби Шмалленберг серед поголів'я ВРХ, завезеної із країн Європи [3–6].

Ураховуючи рекомендації МЕБ та аналіз оцінки ризику стосовно хвороби жуйних тварин, збудником якої є вірус хвороби Шмалленберг, розпорядженням Головного державного

інспектора ветеринарної медицини України № 15-2-23/6412 від 12.07.2012 р. ввезення з території низки країн Європи племінної великої та дрібної рогатої худоби на територію України можливе лише за умови, що худоба походить з благополучних господарств, досліджена методами імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і результати відповідних досліджень є негативними.

Метою дослідження було визначення молекулярних маркерів для детекції вірусу хвороби Шмалленберг шляхом стандартної ПЛР з урахуванням особливостей генетичної структури збудника.

Матеріали та методи. Для отримання послідовностей геномних РНК ізолятів вірусу хвороби Шмалленберг (ВХШ) та інших вірусів використовували міжнародні бази даних GenBank, EMBL, DDBJ. Для проведення філогенетичного аналізу використовували програму MEGA v. 4.0.2 [7]. Побудову традиційних дендрограм здійснювали із застосуванням дистанційно-матричного методу зв'язування найближчих сусідів (Neighbour joining). Аналіз філогенетичного дерева проводили шляхом візуальної оцінки його топології та попарних відстаней між компонентами вибірки. Множинне вирівнювання обраних послідовностей, визначення молекулярних маркерів для детекції ВХШ проводили за допомогою програми Bioedit v. 7.0.0, модулю ClustalW програми Mega 4.

Результати досліджень. Схожість клінічних ознак захворювань та патологічних змін, спричинених представниками роду *Orthobunyavirus*, а також високий рівень генетичної спорідненості цих вірусів обумовлює складність діагностики. Під час проведення вірусологічних і молекулярно-генетичних досліджень низкою дослідників було висловлено припущення стосовно того, що ВХШ може бути реасортантом [8–10]. Для з'ясування цього питання нами було проведено філогенетичний аналіз на основі послідовностей сегментів геномних РНК вірусів Сатупері, Шамонда, Оропуш, хвороби Акабане та хвороби Шмалленберг. Проведена оцінка топології побудованих філогенетичних дерев підтверджує висловлені припущення стосовно реасортації ВХШ, а саме: вірус хвороби Шмалленберг є реасортантом вірусів Шамонда (за L- та S-сегментами) та Сатупері (за М-сегментом). Про це свідчать і суми довжин гілок відповідних філогенетичних дерев, які відповідають кількості відмінностей, відображають можливі заміни у послідовностях, що аналізуються, є пропорційними ступеню розбіжності та еволюційній відстані. Так, наприклад, розрахована сума довжин гілок філогенетичного дерева, побудованого на основі послідовностей сегмента S геномних РНК вірусів хвороби Шмалленберг та Шамонда (рис. 1), становить 0,06279599, а для вірусів хвороби Шмалленберг і хвороби Акабане — 0,52220524 (рис. 2), що підтверджує еволюційну близькість саме вірусів хвороби Шмалленберг і Шамонда за сегментом S. Для визначення молекулярних маркерів для детекції вірусу хвороби Шмалленберг послідовності сегментів S, L, М геномних РНК збудника було проаналізовано стосовно кількості та довжини консервативних ділянок. Для сегмента S ВХШ було виявлено 5 консервативних фрагментів від 15 до 179 н. загальною довжиною 432 н., що для відомих ізолятів становить 51,5–60,7 % від довжини послідовності даного сегмента. Для сегмента L ВХШ було виявлено також 5 консервативних фрагментів від 21 до 187 н. загальною довжиною 406 н., що для відомих ізолятів становить 5,9–5,96 % від довжини послідовності даного сегмента. Для сегмента М ВХШ було виявлено 28 консервативних фрагментів від 17 до 228 н. загальною довжиною 2 239 н., що для відомих на цей час ізолятів становить 51,2–53,2 % від довжини послідовності даного сегмента. На основі отриманих результатів та аналізу літературних даних щодо детекції ВХШ із застосуванням молекулярно-генетичних методів [11–15] як потенційні молекулярні маркери для виявлення даного збудника були обрані сегменти М та S геномної РНК. Послідовності консервативних фрагментів цих сегментів було проаналізовано з метою визначення праймерів для проведення ПЛР-аналізу у стандартному форматі. При цьому було враховано низку вимог: певний інтервал для температури плавлення праймерів; певна ступінь стабільності 5'- та 3'-кінців праймерів — значення вільної енергії не повинно перевищувати - 4 ккал/моль; оптимальне значення GC-вмісту у послідовності олігонуклеотида, яке знаходиться в межах від 40 до 65 %; неможливість утворення праймерами вторинних структур. На основі отриманих даних встановлено, що найбільш придатним молекулярним маркером для детекції ВХШ шляхом стандартного варіанту ПЛР є сегмент S. На рис. 3 представлено фрагмент множинного вирівнювання послідовностей сегмента S геномних РНК ізолятів ВХШ; виділено послідовність одного з вибраних праймерів [14] довжиною 21 н. для детекції ВХШ.

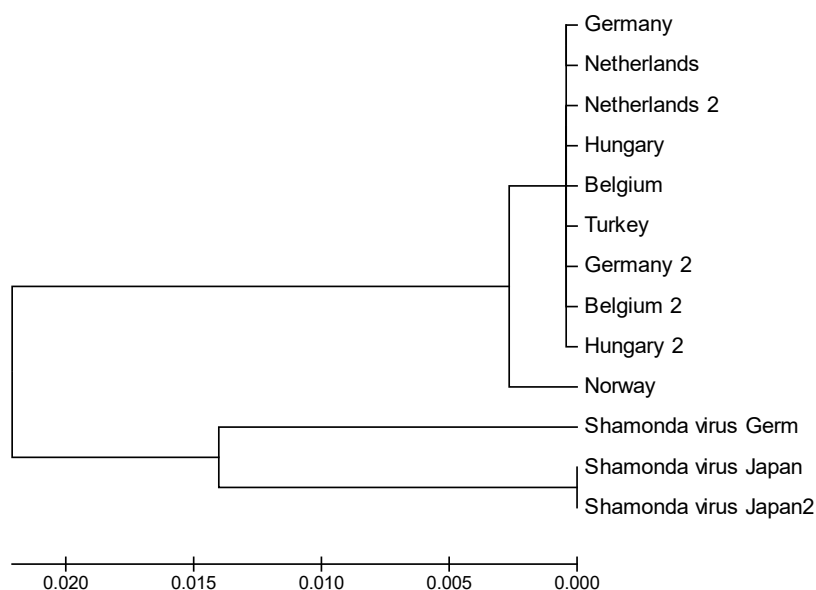


Рис. 1. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусів хвороби Шмаленберг і Шамонда, що циркулюють у різних географічних регіонах світу, на основі повних послідовностей сегмента S геномних РНК.

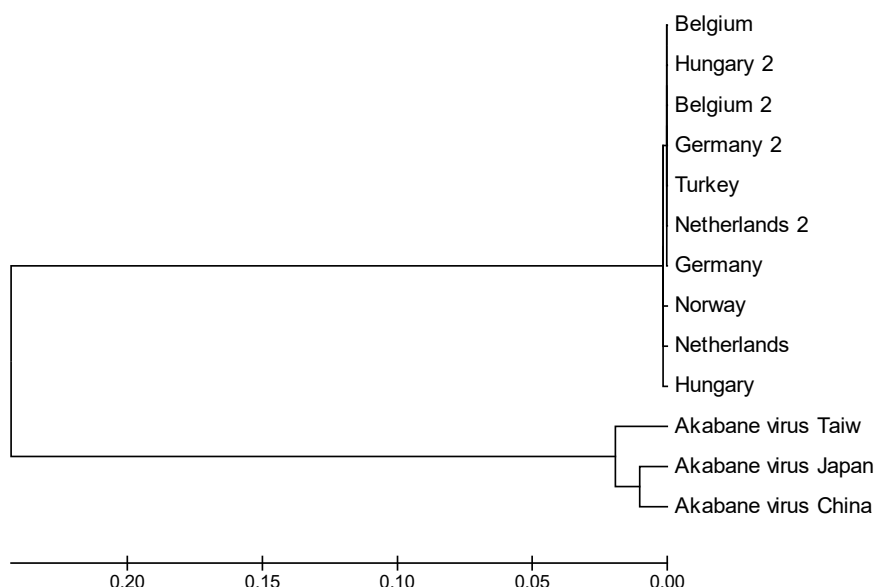


Рис. 2. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусів хвороби Шмаленберг і хвороби Акабане, що циркулюють у різних географічних регіонах світу, на основі повних послідовностей сегмента S геномних РНК.

Netherlands	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Netherlands 2	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Norway	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Turkey	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Germany 2	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Belgium	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Belgium 2	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Hungary	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Hungary 2	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT
Germany	GAAGCTAGTGCTCAGATTGTCATGCCCCCTTGCTGAGGTTAAGGGATGCACCTGGGCCGATGGTTATACAAT

Рис. 3. Фрагмент множинного вирівнювання послідовностей сегмента S геномних РНК ізолятів вірусу хвороби Шмаленберг.

Висновки та перспективи подальших досліджень. За результатами проведених досліджень підтверджено, що вірус хвороби Шмалленберг є реасортантом вірусів Шамонда та Сатупері. Визначено цільову мішень для детекції вірусу хвороби Шмалленберг із застосуванням молекулярно-генетичних технологій та підібрано відповідну систему праймерів, яка в подальшому може бути застосована для розробки методики індикації генетичного матеріалу ВХШ шляхом стандартного варіанту ПЛР.

Список літератури

1. Кухаркина О. В., Борисова О. А. Болезнь Шмалленберга (обзор). *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2014. Т. 12, № 1. С. 86–102.
2. Спрыгин А. В. и др. Болезнь Шмалленберга: молекулярно-биологические особенности и клиническая картина. *Сельскохозяйственная биология*. 2012. № 6. С. 24–34. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2012.6.24rus>.
3. Hoffmann B. et al. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerging Infectious Diseases*. 2012. Vol. 18, No. 3. P. 469–472. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1803.111905>.
4. Челнокова М. И., Шутенков А. Г., Сулейманов Ф. И. Вирус Шмалленберг — потенциальная угроза скотоводству России. *Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014. № 3. С. 23–27.
5. Абакин С. С., Красовская Т. Л., Кононов А. Н. Эпизоотическая ситуация по болезни Шмалленберга в Европе и Российской Федерации. *Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства*. 2014. Вып. 7, т. 1. С. 160–168.
6. Garcia-Bocanegra I. et al. Monitoring of Schmallenberg virus in Spanish wild artiodactyls, 2006–2015. *PLoS One*. 2017. Vol. 12, No. 8. P. e0182212. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182212>.
7. Tamura K. et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2007. Vol. 24, No. 8. P. 1596–1599. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>.
8. Никитина Е. Г. и др. Болезни Акабана и Шмалленберга: сходство и различия. *Сельскохозяйственная биология*. 2013. № 4. С. 48–52. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2013.4.48rus>.
9. Yanase T. et al. Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus *Orthobunyavirus* in nature: implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. *Archives of Virology*. 2012. Vol. 157, No. 8. P. 1611–1616. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1341-8>.
10. Bowen M. D. et al. A reassortant bunyavirus isolated from acute hemorrhagic fever cases in Kenya and Somali. *Virology*. 2001. Vol. 291, No. 2. P. 185–190. DOI: <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1201>.
11. Kęsik-Maliszewska J., Larska M. Detection of Schmallenberg virus RNA in bull semen in Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2016. Vol. 19, No. 3. P. 655–657. DOI: <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0083>.
12. Schuz C. et al. European interlaboratory comparison of Schmallenberg virus (SBV) real-time RT-PCR detection in experimental and field samples: The method of extraction is critical for SBV RNA detection in semen. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2015. Vol. 27, No. 4. P. 422–430. DOI: <https://doi.org/10.1177/1040638715593798>.
13. Lee J.-H. et al. Detection and differentiation of Schmallenberg, Akabane and Aino viruses by one-step multiplex reverse-transcriptase quantitative assay. *BMC Veterinary Research*. 2015. Vol. 11. P. 270–274. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0582-7>.
14. Bilk S. et al. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 159, No. 1–2. P. 236–238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.035>.
15. Сальников Н. И. и др. Выявление генома вируса болезни Шмалленберг методом ОТ-ПЦР в реальном времени. *Ветеринария*. 2012. № 8. С. 57–58. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=17866940>.

APPLICATION OF MOLECULAR TECHNOLOGIES FOR THE SCHMALLEMBERG VIRUS DETECTION

Lymanska O. Yu., Solodiantkin O. S., Rudova N. G., Kornieikov O. M., Gerilovych A. P.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

The aim of the study is to determine molecular markers for the detection of Schmallenberg virus by standard PCR, taking into account the genetic structure of the pathogen. International databases GenBank, EMBL, DDBJ were used to obtain genomic RNA sequences of viruses. MEGA v. 4.0.2 was used for phylogenetic analysis. Traditional dendrograms were constructed using the Neighbor joining method. The analysis of the phylogenetic tree was performed by visual assessment of its topology and pairwise distances between the components of the sample. Multiple alignment of selected sequences, determination of molecular markers for the Schmallenberg virus detection was performed using BioEdit v. 7.0.0 and ClustalW module of MEGA 4. The assumptions regarding Schmallenberg virus reassortment have been confirmed. It has been found that the segment S of the Schmallenberg virus is the most suitable molecular marker for the Schmallenberg virus detection by the PCR standard variant. A suitable primers system which can be further used to develop a method for indicating the Schmallenberg virus genetic material has been selected

Keywords: molecular marker, PCR, RNA

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ *BRUCELLA OVIS*, ВИДІЛЕНИХ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ УПРОДОВЖ 1973–2019 РОКІВ

Марченко Н. В., Лиманська О. Ю., Куценко В. А.,
Герілович А. П., Болотін В. І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: marcenkonata@gmail.com

У статті представлено дані щодо біологічних властивостей штамів бруцел, які попередньо за біохімічними тестами були віднесені до виду *Brucella ovis*, та зберігалися в колекції мікроорганізмів ННЦ «ІЕКВМ». Установлено, що за тривалого зберігання штами не втратили своїх властивостей відповідно до паспортів. При цьому у чотирьох штамів (78/3131, 157/4151, 169/87, 68/Ж) відмічали ріст не тільки в присутності тіоніну, що є характерним для R-форм, а й у середовищі з фуксином (1:50 000 і 1:100 000). У результаті вивчення антигенних властивостей було встановлено, що зазначені штами мають бруцельозний S-антиген за відсутності R-антигена. Додатково під час проведення молекулярно-генетичного типування з'ясувалося, що зазначені чотири штами належать до інших видів бруцел

Ключові слова: інфекційний епідидиміт баранів, ПЛР

Серед небезпечних хвороб, що завдають значних економічних збитків вівчарству за рахунок втрати генетичного фонду високоцінних порід і зниження рівня відтворення поголів'я, інфекційний епідидиміт баранів (ІЕБ) поширений у багатьох країнах світу з розвинутим вівчарством. За даними Міжнародного епізоотичного бюро ІЕБ реєструється в країнах Америки, Європи, Австралії, Новій Зеландії та Південній Африці [1]. Захворювання перебігає клінічно або субклінічно протягом тривалого часу життя тварин з характерними ураженнями статевих органів у баранів (епідидиміти, орхіти) і плацентитами у вівцематок, що супроводжується безпліддям, абортами, перинатальною та постнатальною смертністю ягнят [2]. Збудником хвороби є грамнегативний поліморфний мікроорганізм, який відносять до слабовірулентних R-форм бруцел, що еволюційно адаптований до овець і характеризується вираженим тропізмом до придатків статевих залоз баранів-плідників [3]. *B. ovis* відноситься до бактерій, що повільно ростуть і досить складно виділяються з патологічного матеріалу. Для культивування збудника необхідно використовувати збагачені поживні середовища, на яких бруцели цього виду за виділення довгостроково (5–30 діб) ростуть в умовах підвищеного вмісту CO₂ (10–15 %) за температури 37 °С. Для диференціації та ідентифікації бруцел використовують комплекс ознак, що включає в себе, крім морфологічних і тинкторіальних властивостей, також здатність рости на середовищах у присутності деяких барвників (основний фуксин, тіонін, сафранін), виділяти сірководень, утворювати уреазу, фосфатазу, каталазу, оксидазу, аглютинуватися моноспецифічними сироватками. Особливістю мікроорганізму є те, що в пробі з тріпанфлавіном культура характеризується як стійка R-форма, яка не має А- і М-антигенів гладких бруцел (S-форма). Збудник не лізується бруцельозним Тб-фагом. Він також позбавлений поверхневого оболонкового S-антигена, типового для інших бруцел, але його О-антиген володіє імунологічною спорідненістю з О-антигенами бруцел інших видів. Перехресно реагує з *B. canis* та з шорсткими формами інших видів бруцел [1, 4, 5]. Не дивлячись на вивченість властивостей збудника, а також взаємовідносин з макроорганізмом в останні роки відмічають ускладнення епізоотичної ситуації з ІЕБ. Багато питань з епізоотології, діагностики та боротьби з бруцелаовісною інфекцією залишається все ще невизначеним, враховуючи дані про мінливість цього збудника. Тому вивчення біологічних та молекулярно-генетичних властивостей польових ізолятів *B. ovis*, циркулюючих у нинішній час на території України, є важливим у викорененні збудника [6]. В Україні ситуація з ІЕБ у різні роки була неоднаковою і залежала від соціально-економічних умов,

рівня діагностики, якості проведення відповідних протиепізоотичних заходів. Аналіз спостережень щодо перебігу захворювання свідчить про стаціонарність інфекції у 9 з 25 областей України. Інфекційний епідемії баранів реєструють у Херсонській, Харківській, Сумській, Дніпропетровській, Донецькій, Черкаській, Хмельницькій, Рівненській областях та АР Крим. Економічні збитки складаються з вартості вимушено забитих тварин (іноді високоцінних порід), зниження продуктивності, втрат від абортів, витрат на проведення карантинних та оздоровчих заходів. Згідно з сучасними нормативними та методичними документами для діагностики бруцелязованої інфекції у ветеринарній практиці використовують клініко-епізоотологічні обстеження, серологічні тести (РТЗК, РІД, ІФА) та бактеріологічні дослідження (ізоляція та ідентифікація збудника). Вивчення біологічних властивостей збудника, вдосконалення існуючих і пошук нових специфічних та високочутливих методів діагностики інфекційного епідемії баранів, є важливою складовою контролю епізоотичного процесу [7].

Метою роботи було вивчення епізоотичних і виробничих штамів бруцел, зокрема культурально-морфологічних, тінкторіальних, біохімічних, антигенних властивостей і молекулярно-генетичного профілю *B. ovis*, установлення їхніх відмінностей у порівнянні з референтним штамом.

Матеріали та методи. Для виконання досліджень було відібрано 30 штамів *B. ovis*, ізолюваних на території України, що мають відмінні просторово-часові характеристики (табл. 1). Штами тривалий час підтримувалися на м'ясо-пептонному-глюкозо-гліцериновому агарі з 10 % сироватки ВРХ (МППГГАС). Шість штамів *B. ovis* відновлено з ліофільного стану. Як контроль використовували штами *B. ovis* 63/290 (ATCC 25840, наданий Dr. Claire Ponsart з референс-лабораторії бруцельозу, ANSES, Франція) та *B. abortus* 187/99 (VLA, Weybridge, UK) як R- та S-форми бруцел відповідно.

Згідно з архівними даними всі штами були виділені з патологічного матеріалу, відібраного від баранів, крім штаму 68/Ж, який було отримано з абортованого плоду від вівці. Деліофілізацію штамів проводили шляхом розчинення вмісту ампул у 1 см³ 0,85 %-го натрію хлориду (рН = 7,2) і висівали у пробірки з декстрозно-сироваточним агаром, МППГГАС і МППГГБ. Штами вирощували за температури 37 °С в умовах термостату впродовж п'яти діб.

Таблиця 1 — Перелік штамів *B. ovis*, використаних у дослідженнях

№ з. п.	Інв. № штаму	Рік виділення	Область	№ з. п.	Інв. № штаму	Рік виділення	Область
1	65/65939	1973	Дані відсутні	16	159/8406	1991	Дані відсутні
2	66/94	1973	Одеська	17	162/08337	1993	АР Крим
3	67/Б	1976	Одеська	18	166/13575	1993	Чернівецька
4	68/Ж	1974	Луганська	19	168/1807	1994	Одеська
5	71/10	1975	Луганська	20	169/87	1994	Харківська
6	74/139	1975	Луганська	21	175/1257	2002	Херсонська
7	76/982	1976	Одеська	22	178/00440	2009	Херсонська
8	78/3131	1976	Одеська	23	179/00441	2009	Херсонська
9	83/7315	1976	Харківська	24	181/6967	2010	Харківська
10	103/33479	1978	Одеська	25	182/Тайсон	2010	Харківська
11	154/8206	1990	Закарпатська	26	183/13206	2011	Харківська
12	155/8162	1991	Закарпатська	27	184/03785	2011	Харківська
13	156/7808	1991	Закарпатська	28	185/03377	2011	Харківська
14	157/4151	1991	Закарпатська	29	186/21116	2017	Хмельницька
15	158/04496	1991	Закарпатська	30	-/644	2019	Харківська

Перевірку чистоти росту культур проводили візуально та фарбуванням мазків за Козловським і Грамом. Продукцію сірководню виявляли за допомогою тест-смужок з оцтовокислим свинцем, розміщених у пробірках з висівами культур. Оксидазну активність штамів досліджували за допомогою тест-смужок «Окситест», Lachema. Уреаазну активність досліджували висівами культур на МПБ зі сечовиною. Фарбування колоній за Уайт-Вільсоном 5-добових культур здійснювали 0,05 %-м розчином кристалвіолету впродовж 30 с. Для виявлення здатності штамів рости в присутності анілінових фарб суспензії культур у

концентрації 10^9 КУО/см³ висівали бактеріологічною петлею на напіврідкий агар (НРА) з фуксином (1:50 000 та 1:100 000) та НРА з тіоніном (1:25 000, 1:50 000, 1:100 000). Облік росту проводили кожні 2 доби впродовж 6 діб. Для проведення реакції термоаглютинації бактеріальну масу дводобових культур змивали з агару стерильним фізрозчином (рН = 7,2) та стандартизували до концентрації 2×10^9 КУО/см³ за оптичним стандартом каламутності 10 МО. Завісі прогрівали на водяній бані за температури 90 °С упродовж 45 хв. Облік реакції проводили через 1 та 24 год. Пробу з трипафлавіном проводили шляхом емульгування бактеріологічною петлею дводобової агарової культури на предметних скельцях у краплі 0,2 %-го розчину трипафлавіну (1:500) на 0,85 %-му NaCl. Аглютинабельні властивості штамів *Brucella* досліджували у пластинчатій реакції аглютинації на предметних скельцях зі специфічними аглютинуючими S- та R-сироватками [1, 5].

Для проведення молекулярно-генетичних досліджень готували інактивовану панель зразків штамів: змиви агарових культур стерильним фізіологічним розчином були стандартизовані до концентрації 10^9 КУО/см³ (за стандартом каламутності 10 МО) та інактивовані прогріванням у твердотільному термостаті за температури 95 °С упродовж 15 хв. Отриманий матеріал перевіряли на повноту інактивації шляхом висіву суспензій на відповідні середовища (режим інкубації: 37 °С упродовж 10 діб). Перевірені суспензії центрифугували, надосадову рідину піддавали дослідженню в ПЛР. Для видової диференціації штамів проводили дослідження за Bruce-Ladder ПЛР, використовуючи протокол, рекомендований авторами [8].

Результати досліджень. Проведено аналіз складу колекції культур *B. ovis*, що знаходяться у лабораторії вивчення бруцельозу ННЦ «ІЕКВМ» з 1973 р. та які переважно виділяли на території Харківської, Одеської та Закарпатської областей. Загалом досліджено 24 штами, які зберігаються за температури 5 ± 1 °С на МППГГАС з періодичністю пересіву 1,5–2 місяці, а також вивчено життєздатність шести ліофілізованих штамів (68/Ж, 83/7315, 103/33479, 74/139, 66/94, 71/10), що зберігалися за температури $6 \pm 2,0$ °С понад 35 років. Після проведення деліофілізації встановлено наявність типового росту культур штамів 74/139, 83/7315 і 103/33479 на твердих і рідких поживних середовищах. Під час відновлювання штамів 66/94 і 71/10 спостерігали ріст сторонньої мікрофлори у першу добу інкубації, при цьому типових для бруцел колоній не виявляли. Також проведено роботу з клонування й очищення штаму 68/Ж.

Установлено, що через 48–72 год інкубації за температури $37 \pm 1,0$ °С у присутності 10 % CO₂ на ТСАС і МППГГАС усі штами формували круглі випуклі напівпрозорі колонії з маслянистим блиском. Під час перегляду під стереоскопічним мікроскопом колонії мали характерну дрібнозернисту шорстку структуру та сіро-блакитний колір у прохідному світлі. На МППГГБ штами росли у вигляді легкої опалесценції та осаду у вигляді пункту або аглютинату. У мазках 3-добових культур, пофарбованих за Козловським, Грамом, бактерії мали форму коків і дрібних паличок червоного кольору. 24 культури штамів *B. ovis* аглютинувалися у трипофлавіновій пробі та реакції термоаглютинації, не проявляли оксидазну й уреазну активність (табл. 2).

Таблиця 2 — Біохімічні та антигенні властивості досліджених штамів *B. ovis*

№ з. п.	Інв. № штаму	Продукція H ₂ S	Окситест	Уреаза	Трипо-флавінова проба	Реакція термоаглютинації	Моноспецифічні сироватки	
							S	R
1	65/65939	—	—	—	+	+	—	+
2	67/Б	—	—	—	+	+	—	+
3	68/Ж	+	+	+	—	—	+	—
4	74/139	—	—	—	+	+	—	+
5	76/982	—	—	—	+	+	—	+
6	78/3131	—	+	+	—	—	+	—
7	83/7315	—	—	—	+	+	—	+
8	103/33479	—	—	—	+	+	—	+
9	154/8206	—	—	—	+	+	—	+
10	155/8162	—	—	—	+	+	—	+
11	156/7808	—	—	—	+	+	—	+

№ з. п.	Інв. № штаму	Продукція H ₂ S	Окситест	Уреаза	Трипо-флавінова проба	Реакція термоаглютинації	Моноспецифічні сироватки	
							S	R
12	157/4151	—	+	+	—	—	+	+
13	158/04496	—	—	—	+	+	—	+
14	159/8406	—	—	—	+	+	—	+
15	162/08337	—	—	—	+	+	—	+
16	166/13575	—	—	—	+	+	—	+
17	168/1807	—	—	—	+	+	—	+
18	169/87	—	+	+	+	+	+	+
19	175/1257	—	—	—	+	+	—	+
20	178/00440	—	—	—	+	+	—	+
21	179/00441	—	—	—	+	+	—	+
22	181/6967	—	—	—	+	+	—	+
23	182/Тайсон	—	—	—	+	+	—	+
24	183/13206	—	—	—	+	+	—	+
25	184/03785	—	—	—	+	+	—	+
26	185/03377	—	—	—	+	+	—	+
27	186/21116	—	—	—	+	+	—	+
28	—/644	—	—	—	+	+	—	+
29	63/290 (R-форма)	—	—	—	+	+	—	+
30	187/99 (S-форма)	+	+	+	—	—	+	—

Примітки: «+» — ріст; «—» — відсутність росту

Загалом за культурально-морфологічними властивостями зразки штамів, що підтримувались на твердих поживних середовищах, а також у ліофільному стані, не відрізнялися.

Колонії 27 штамів на чашках Петрі, пофарбовані за Уайт-Вільсоном, мали синьо-фіолетове забарвлення дрібних колоній і червоно-фіолетове — крупних, окрім штаму 68/Ж, колонії якого мали лимонно-жовтий центр із блакитно-фіолетовою периферією.

На НРА з тіоніном усі штами давали характерний ріст «за ходом уколу» та редукували колір середовища (з синього на жовто-зелений або жовтий). На НРА з фуксином росли 4 штами 78/3131, 157/4151, 169/87, 68/Ж (табл. 3) і контрольний штам *B. abortus* 187/99 (S-форма).

Таблиця 3 — Властивості штамів росту у присутності анілінових фарб

№ з. п.	Інв. № штаму	НРА основний фуксин		НРА тіонін		
		1:100 000	1:50 000	1:100 000	1:50 000	1:25 000
1	65/65939	—	—	#	—	—
2	67/Б	—	—	#	+++	—
3	68/Ж	+++	++	#	#	—
4	74/139	—	—	#	#	—
5	76/982	—	—	#	#	—
6	78/3131	+++	++	#	+++	—
7	83/7315	—	—	#	++	—
8	103/33479	—	—	#	++	—
9	154/8206	—	—	#	#	—
10	155/8162	—	—	#	#	—
11	156/7808	—	—	#	#	—
12	157/4151	+++	++	#	+++	—
13	158/04496	—	—	#	#	—
14	159/8406	—	—	#	#	—

№ з. п.	Інв. № штаму	НРА основний фуксин		НРА тіонін		
		1:100 000	1:50 000	1:100 000	1:50 000	1:25 000
15	162/08337	—	—	#	#	—
16	166/13575	—	—	#	#	—
17	168/1807	—	—	#	+++	—
18	169/87	+++	++	#	+++	—
19	175/1257	—	—	#	#	—
20	178/00440	—	—	#	+	—
21	179/00441	—	—	#	—	—
22	181/6967	—	—	+++	++	—
23	182/Тайсон	—	—	#	+++	—
24	183/13206	—	—	#	++	—
25	184/03785	—	—	#	+++	—
26	185/03377	—	—	#	+++	—
27	186/21116	—	—	#	#	—
28	—/644	—	—	#	+++	—
29	63/290 (R-форма)	—	—	#	+++	—
30	187/99 (S-форма)	#	++	—	—	—

Примітки: «+» — ріст, редукції немає; «++» — ріст, редукція невелика; «+++» — ріст, редукція неповна; «#» — ріст, редукція повна.

У результаті вивчення антигенних властивостей було встановлено, що 24 штами мають бруцельозний R-антиген за відсутності S-антигена, про що свідчить чітка позитивна реакція в ПРА з позитивною R-бруцельозною сироваткою та негативна реакція з S-сироваткою.

Установлено зміну типових властивостей штамів 78/3131, 157/4151, 169/87 і 68/Ж, а саме спостерігали утворення уреазі та продукування цитохром-оксидази, ріст культури не тільки у присутності тіоніну, що є характерним для R-форм, а й на НРА з фуксином (1:50 000 та 1:100 000). H₂S продукував лише штам 68/Ж. Як контрольні штами використали *B. ovis* 63/290 (R-форма) та *B. abortus* 187/99 (S-форма). У результаті вивчення антигенних властивостей було встановлено, що зазначені чотири штами мають бруцельозний S-антиген за відсутності R-антигена. Це може бути пов'язаним з тим, що раніше використовували застарілу класифікацію, де вважали, що *B. ovis* володіє стійкістю до анілінових барвників.

Для ідентифікації чотирьох штамів бруцел, які не відповідали за своїми біохімічними властивостями виду *B. ovis*, проводили Bruce-Ladder ПЛР (рис.).

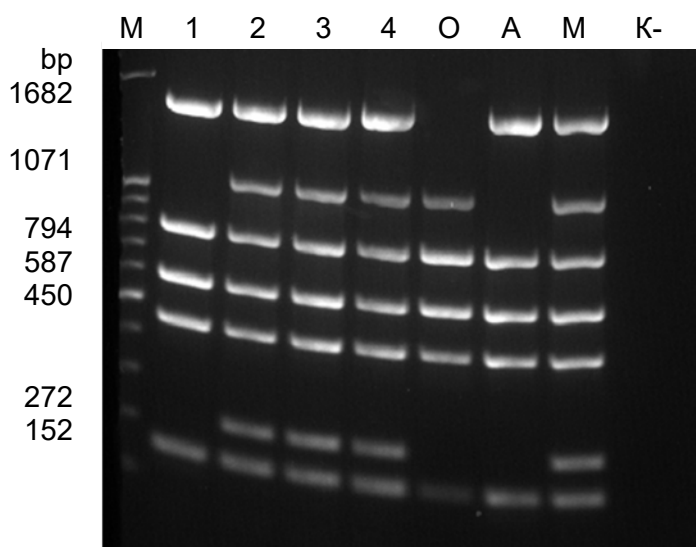


Рис. Результати типування штамів бруцел за Bruce-Ladder ПЛР: М — маркер; К — негативний контроль; 1 — штам 68/Ж; 2 — штам 78/3131; 3 — штам 157/4151; 4 — штам 169/87; О — *B. ovis* 63/290; А — *B. abortus* 187/99; М — *B. melitensis* Rev-1.

Виходячи з отриманих даних, у штаму 68/Ж виявили характерні для виду *B. abortus* делеції в генах *omp31* і *ABC transporter binding protein*, а також була відсутня делеція в гені *wboA*, яка є типовою для виду *B. ovis*. Штами 78/3131, 157/4151 та 169/87 мали характерну для

виду *B. melitensis* делецію в гені *omp31*. Крім того, спостерігали утворення специфічного амплікону довжиною 218 п. н., який дозволив віднести дані штами до *B. melitensis* Rev-1.

Цей штам широко використовують для вакцинації під час профілактики бруцельозу овець у багатьох країнах світу, та при цьому, ураховуючи, що для виготовлення вакцини штам не інактивують, можна передбачити його появу в зразках клінічного матеріалу від вакцинованих тварин [9, 10]. Відомо, що вакцину на основі *B. melitensis* Rev-1 ніколи не використовували на території України, та ймовірно потрапляння цього штаму в країну могло відбутися в результаті завезення вакцинованих тварин. Для більш детального охарактеризування зазначених штамів існує необхідність у повногеномному секвенуванні.

Отже, одним з важливих напрямів підтримання колекцій мікроорганізмів є встановлення видової приналежності штамів, а також визначення їхньої автентичності, особливо за тривалого зберігання та в процесі відтворення із застосуванням новітніх методів досліджень та керуючись вимогами сучасної систематики бактерій [11]. Було встановлено, що культури бруцел з колекції мікроорганізмів ННЦ «ІЕКВМ» належать до видів *B. ovis*, *B. melitensis* і *B. abortus*.

Висновки. Проведено біохімічні, культуральні, антигенні та молекулярно-генетичні дослідження архівних штамів бруцел, яких раніше було віднесено до виду *B. ovis*. Отримані дані свідчать про стабільність основних властивостей бруцел за тривалого зберігання як у разі багаторазового пасажування, так і утримання колекції у ліофільно висушеному стані. Визначення автентичності штамів, що зберігаються впродовж тривалого часу, із застосуванням новітніх методів досліджень є невід'ємною частиною належного підтримання колекції мікроорганізмів.

Список літератури

1. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 3.8.7. Ovine epididymitis (*Brucella ovis*) (version adopted in May 2015). In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE, 2018. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.07_OVINE_EPID.pdf.
2. Gouletsou P. G., Fthenakis G. C. Microbial diseases of the genital system of rams or bucks. *Veterinary Microbiology*. 2015. Vol. 181, No. 1–2. P. 130–135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.016>.
3. Blasco J. M. *Brucella ovis*. In: Nielsen K. H., Duncan J. R. (eds) *Animal brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990. P. 352–378. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781351069687>.
4. Бусол В. А., Бабкин А. Ф., Жованик П. Н. Бруцеллёз сельскохозяйственных животных. Киев: Урожай, 1991. 176 с.
5. Alton G. G. et al. Techniques for the brucellosis laboratory. Paris: INRA, 1988. 190 pp. ISBN: 9782738000422.
6. Olsen S. C., Palmer M. V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology*. 2014. Vol. 51, No. 6. P. 1076–1089. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985814540545>.
7. Бабкін А. Ф., Обуховська О. В. Бруцельоз: сучасні аспекти епізоотології. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2012. Вип. 96. С. 204–205. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2012_96_81.
8. López-Gofí I. et al. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008. Vol. 46, No. 10. P. 3484–3487. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00837-08>.
9. Coelho A. M. et al. Impact of *B. melitensis* Rev-1 vaccination on brucellosis prevalence. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2015. Vol. 39, No. 3. P. 261–270. DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-1408-27>.
10. Ponsart C. et al. *Brucella melitensis* Rev.1 vaccination generates a higher shedding risk of the vaccine strain in alpine ibex (*Capra ibex*) compared to the domestic goat (*Capra hircus*). *Veterinary Research*. 2019. Vol. 50, No. 1. P. 100. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0717-0>.
11. Sanogo M. et al. Importance of identification and typing of brucellae from West African cattle: a review. *Veterinary Microbiology*. 2013. Vol. 164, No. 3–4. P. 202–211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.02.009>.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF *BRUCELLA OVIS* STRAINS ISOLATED ON THE TERRITORY OF UKRAINE DURING 1973–2019

Marchenko N. V., Lymanska O. Yu., Kutsenko V. A., Gerilovych A. P., Bolotin V. I.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The article presents data on the biological properties of *Brucella* strains, which were kept in the collection of microorganisms of NSC 'IECVM' previously and determined as *Brucella ovis* by biochemical tests. It was found that during long-term storage strains did not lose their properties according to passports. Four strains 78/3131, 157/4151, 169/87, and 68/Ж grew not only in the presence of thionine, which is characteristic of R-forms, but also in the media with fuchsin (1:50,000 and 1:100,000). When studying the antigenic properties, it was found that these strains have *Brucella* S-antigen and the absence of R-antigen. Additionally, molecular genetic typing revealed that four strains belonged to other species of *Brucella*

Keywords: ovine infectious epididymitis, PCR

ЕПІЗООТИЧНА СИТУАЦІЯ ЩОДО ОСОБЛИВО НЕБЕЗПЕЧНИХ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ СЕРЕД ПТАХІВ ПІВДНЯ УКРАЇНИ

Богач М. В., Селіщева Н. В., Лизогуб Л. Ю., Стегній О. О.

Одеська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Одеса, Україна, e-mail: bogach_nv@ukr.net

Салієва Н. Є.

Випробувальний центр Одеської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів, Одеса, Україна

Метою роботи був моніторинг особливо небезпечних інфекцій птиці на Півдні України. Дослідження проводили на Одеській дослідній станції Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» та у Випробувальному центрі Одеської регіональної державної лабораторії державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. Труп загиблої птиці, піддавали патологоанатомічному розтину. Для проведення досліджень відбирали біологічний матеріал. Серологічні дослідження на НХ проводили за допомогою РЗГА з дозою вірусу 4 ГАО у титрі 1:8 і вище. Додатково бактеріологічними дослідженнями визначали наявність бактеріальних асоціантів. Серологічними дослідженнями 365 проб крові від свійської птиці зі 73 населених пунктів, 16 проб від дикої та 18 проб від синантропної птиці Одеської області, антитіл до вірусу грипу птиці підтипу H5 не виявили. Установили наявність сформованого гуртового імунітету щодо збудника ньюкаслської хвороби у присадибних господарствах 118 населених пунктів та у 10 промислових птахогосподарствах (серопозитивність складає 80–100 %). Антитіл проти збудника ньюкаслської хвороби у сироватках крові від дикої птиці Одеської області не виявили. У трьох господарствах двох населених пунктів у літньо-осінній період виявили окремі спалахи захворювання декоративних голубів на НХ, летальність склала 50–70 %, під час дослідження 15 проб крові від голубів виявлено антитіла до вірусу НХ (титр антитіл 4,0–7,1 log₂). Патологоанатомічними дослідженнями 28 трупів птиці виявили зміни, характерні для інфекційного ларинготрахеїту курей, хвороби бактеріальної (туберкульоз, пастерельоз, ешерихіоз) і протозойної (трихомоноз курей) етіології. Моніторинг особливо небезпечних вірусних інфекцій птиці на Півдні України свідчить про стабільність епізоотичної ситуації. Установлено відсутність гемаглютинуючих антитіл до вірусу грипу птиці підтипу H5 у популяціях дослідженої птиці різних видів і наявність сформованого гуртового імунітету щодо збудника ньюкаслської хвороби; серопозитивність складає 80–93 %. Виявлено циркуляцію вірусу НХ серед декоративних голубів

Ключові слова: високопатогенний грип птиці, ньюкаслська хвороба, реакція затримки гемаглютинації

Транскордонні інфекційні захворювання, до яких відносяться орто- та параміксовірусні інфекції птиці, а саме високопатогенний грип птиці (ВПГП), ньюкаслська хвороба (НХ), параміксовірусна інфекція птиці (ПМВ) — це особливо небезпечні захворювання, які характеризуються високою контагіозністю та високою ймовірністю занесення на території сусідніх країн і поширення серед сприйнятливих поглов'я. Тому Міжнародне епізоотичне бюро (МЄБ) особливу увагу приділяє постійному епізоотологічному моніторингу цих захворювань, контролю їх виникнення та поширення, а також розробці сучасних діагностичних тест-систем і засобів специфічної профілактики [1]. Епізоотична ситуація щодо грипу птиці показує, що найбільша кількість уражених країн зафіксована в Європі — 22 країни (41 % від усіх країн у цьому регіоні). Епідемічне розповсюдження в Європі мають підтипи H5N1, H5N5, H5N6, H5N8, віруси типів В і С [2]. Нині Україна є благополучною щодо високопатогенного грипу птиці, але у

2005–2008 рр. спостерігали дві хвилі інфекції, які спричинялися вірусом підтипу H5N1 на території АР Крим серед поголів'я свійської птиці, третя хвиля була зафіксована у 2016–2017 рр. на території Одеської, Миколаївської, Херсонської, Чернівецької, Тернопільської областей та була спричинена новим високопатогенним вірусом грипу птиці підтипу H5N8 [3]. Ньюкаслська хвороба широко поширена у багатьох країнах світу. Це захворювання спричинюють пташині параміксовіруси типу I. Вірус НХ патогенний для більш ніж 240 видів птахів, розповсюджується через прямі контакти між інфікованими та здоровими птахами, є збудником небезпечної інфекційної хвороби серед домашніх птахів через високу захворюваність та смертність [4–5]. Спалахи НХ починаючи з 2017 р. зареєстровано у 5 країнах (Румунія, Болгарія, Намібія, Швеція, Ізраїль) та знищено понад 330 тис. гол. сільськогосподарської птиці. Україна вважалася вільною від ньюкаслської хвороби з 1992 р. Останній офіційно зареєстрований випадок захворювання було встановлено у січні 2006 р. на одній із птахофабрик Харківської області. Після проведеного комплексу протиепізоотичних заходів з червня 2007 р. територія України за даними Державного комітету ветеринарної медицини та МЕБ є вільною від ньюкаслської хвороби [6]. З огляду на надзвичайне соціально-економічне та епідеміологічне значення, географічне положення України і зокрема її Південного регіону, наявність ризиків занесення орто- та параміксовірусних інфекцій, актуальним є постійний широкомасштабний епізоотологічний моніторинг щодо виділення збудників грипу птиці та ньюкаслської хвороби для своєчасного запобігання їх поширенню.

Мета роботи був моніторинг особливо небезпечних інфекцій птиці на Півдні України.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у 2019 р. в лабораторії епізоотології, паразитології, моніторингу хвороб тварин та провайдингу Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ» та у Випробувальному центрі Одеської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. За основу оцінки прояву кожного епізоотичного процесу брали епізоотологічний аналіз та результати лабораторної діагностики. Трупі птиці, які за життя мали клінічні ознаки параміксовірусної інфекції, піддавали патологоанатомічному розтину. Для проведення серологічних і бактеріологічних досліджень відбирали кров, внутрішні органи (селезінка, печінка, нирки, легені, трахея), кишечник і головний мозок. Серологічні дослідження на НХ проводили за допомогою реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) з використанням діагностиків виробництва ДНКІБШМ (Україна) з дозою вірусу 4 ГАО в титрі 1:8 і вище. Додатково бактеріологічними дослідженнями визначали наявність бактеріальних асоціантів.

Результати досліджень. Епізоотологічний моніторинг циркуляції вірусних інфекцій птиці проводили в господарствах різних форм власності Одеської області. Зокрема, на грип досліджено 365 проб сироваток крові від свійської птиці (кури, індики, качки) зі 73 населених пунктів і 205 проб — з двох птахогосподарств, 16 проб — від диких птахів, 18 проб — від синантропних птахів (табл. 1). За результатами досліджень в РЗГА на ВПГП підтипу H5 встановлено відсутність гемаглютинуючих антитіл у всіх пробах, що свідчить про відсутність циркуляції вірусу ВПГП у популяціях дослідженої птиці.

Таблиця 1 — Результати серологічного моніторингу птиці Одеської області щодо ВПГП

Показники	Досліджено за допомогою РЗГА		Результати досліджень
	гол.	%	
Кури	291	79,8	Негативно
Індики	25	6,8	Негативно
Качки	15	4,1	Негативно
Синантропна птиця (ворона, фазан, баклан, голуб, грак)	18	4,9	Негативно
Дика птиця (качка сіра, качка чорна, крижень, гуска сіра, лисуха, лиска, баклан, перепілка)	16	4,4	Негативно
Усього	365	100	Негативно

Аналіз результатів серологічних досліджень показав наявність сформованого гуртового імунітету щодо збудника НХ у присадибних господарствах 118 населених пунктів і в 10 промислових птахогосподарствах (серопозитивність складала 80–93 %) (табл. 2).

Таблиця 2 — Результати серологічного моніторингу птиці Одеської області щодо НХ

Вид птиці	Дослід- жено, проб	Наявність антитіл до вірусу НХ в титрах 1:8 і вище		Низькі титри антитіл до вірусу НХ (0–1:4)	
		гол.	%	гол.	%
Свійська птиця: кури індики	2206 5	1836 5	83,2 100	370 –	16,8 –
Промислова птиця: кури	240	223	92,9	17	7,0
Синантропна птиця (ворона, голуб)	16	–	–	–	–
Дика птиця (чайка, баклан, кряква, качка)	18	–	–	–	–
Всього досліджено	2485				

Примітка. «–» — відсутність антитіл.

Дані досліджень щодо НХ свідчать про наявність імунітету у вакцинованих курей на рівні 83,2 % (свійська птиця) та 92,9 % (промислова птиця) і слабку напруженість імунітету в індиків приватного сектору (73,7 %). Останнє дає підставу для ствердження про недостатній захист індиків проти можливого інфікування польовим вірусом НХ.

У результаті дослідження диких (чайка, баклан, чапля, сойка, кряква, качка) і синантропних (грак, ворона, сорока) птахів антитіл у сироватках крові проти збудника НХ не виявили.

У 3 присадибних господарствах 2 населених пунктів у літньо-осінній період виявили окремі спалахи захворювання молодняка голубів на НХ, летальність склала 50–70 %. В одному з вищезазначених господарств птиця захворіла після повернення з виставки декоративних голубів. Захворівши, птиця ставала в'ялою, відмічали сонливість, підвищення температури тіла, погіршення апетиту, підвищену спрагу, у 60 % захворілих спостерігали розширення зобу, витікання з ротової порожнини тягучого слизу. Через 3–5 діб виникали порушення координації руху та розлад функції кишечника — діарея з виділеннями слизистої, білуватої, водянистої рідини, у деяких випадках яскраво-зеленого кольору. У подальшому розвивались нервово-паралітичні ознаки (скривлення шиї, ураження ніг, тремор, дзьоб направлений вверх, голуб здійснював кругові рухи на місці («вертячка голубів»)). Під час злітання зграї деякі голуби падали на землю та здійснювали нервово-паралітичні рухи, через 7–15 діб наступала загибель птиці. Серологічними дослідженнями встановлена значна серопозитивність декоративних голубів щодо НХ, тоді як клінічні ознаки захворювання спостерігали не у всіх птахів, тобто проявлялася субклінічна форма інфекції (табл. 3).

Таблиця 3 — Результати серологічного моніторингу декоративних голубів Одеської області щодо НХ

Вид птиці	Титри антитіл	Кількість позитивних проб	Середній титр антитіл, log ₂
Голуби (5 гол.)	2 проби — 1:32 1 проба — 1:4	2	4,0
Молодняк голубів (10 гол.)	1 проба — 1:256 9 проб — 1:128	10	7,1

У результаті дослідження за допомогою РЗГА 15 сироваток крові у декоративних голубів та їхнього молодняка було виявлено антитіла до НХ (середній титр — 4,0 і 7,1 log₂ відповідно).

Під час розтину 15 трупів загиблих голубів, які за життя мали клінічні ознаки активної інфекції та у сироватках крові яких були наявні постінфекційні антитіла до НХ, патологоанатомічні зміни встановлено у 9 випадках серед молодняка (60,0 %): крововиливи у вивідних протоках залоз м'язового відділу шлунка, на переході із залозистого шлунка в м'язовий, на цикальних залозах, збільшення селезінки, холецистит, ентерит тонкого кишечника. Бактеріологічними дослідженнями біологічного матеріалу від голубів виділено *E. coli*. Патологоанатомічними дослідженнями 28 трупів птиці з різних господарств Одеської області

виявили зміни, характерні для вірусних інфекцій (НХ — серед голубів, інфекційний ларинготрахеїт — серед курей), хвороби бактеріальної (туберкульоз, пастерельоз, ешерихіоз) і протозойної (трихомоноз курей) етіології.

Висновки. 1. Епізоотологічний моніторинг щодо особливо небезпечних вірусних інфекцій (ВППГ та НХ) свійської, синантропної та дикої птиці на Півдні України у 2019 р. дав можливість визначити стабільність епізоотичної ситуації стосовно цих захворювань.

2. Установлено відсутність гемаглютинуючих антитіл до грипу птиці підтипу Н5, що свідчить про відсутність циркуляції вірусу ВППГ у популяціях дослідженої птиці різних видів і наявність сформованого гуртового імунітету щодо збудника ньюкаслської хвороби; серопозитивність складає 80–93 %.

3. Виявлено циркуляцію вірусу НХ серед декоративних голубів.

Список літератури

1. Стегній Б. Т. та ін. Епізоотологічний моніторинг, прогнозування, реагування при трансмісивних хворобах тварин і науковий супровід проблеми в Україні. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2014. Вип. 98. С. 5–11. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2014_98_3.
2. Музика Д. В. та ін. Вископатогенний грип птиці у світі та Україні. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 198–201. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2017_103_48.
3. Гладій М. В. та ін. Ризики транскордонного заносу емерджентних захворювань тварин і птиці в Україну та проблеми біобезпеки і біозахисту в контексті концепції «Єдине здоров'я». *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2018. Вип. 104. С. 28–34. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2018_104_6.
4. Стегній Б. Т. та ін. Емерджентні інфекції птиці: грип та ньюкаслська хвороба. Епізоотологія, моніторинг, діагностика та профілактика. Київ: Аграрна наука, 2012. 304 с. ISBN: 9789665403265.
5. Рула О. М. та ін. Біологічні властивості ізоляту вірусу ньюкаслської хвороби НХ/курка/Харків/66/2007. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 69–73. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2017_103_21.
6. OIE (World Organisation for Animal Health). World Animal Health Information System. URL: <https://wahis.oie.int>.

EPIZOOTIC SITUATION CONCERNING ESPECIALLY DANGEROUS VIRAL INFECTIONS AMONG BIRDS OF SOUTH UKRAINE

Bogach M. V., Selishcheva N. V., Lyzohub L. Yu., Stegnyy O. O.
Odesa Experimental Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Odesa, Ukraine

Salieva N. Ye.

Testing Center of the Odesa Regional State Laboratory of the State Service of Ukraine on Food Safety and Consumer Protection, Odesa, Ukraine

Aim of the work was monitoring of especially dangerous and economically significant poultry infections in the South of Ukraine. The research was conducted at the Odessa Research Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine" and in the Testing Center of the Odessa Regional State Laboratory of the State Service of Ukraine on Food Safety and Consumer Protection. The corpses of dead birds were subjected to autopsy; meanwhile biological material was picked up for research. Serological tests for Newcastle disease were performed in HIT with a virus dose of 4 UHA in a titer of 1:8 and higher. In addition to common bacteriological studies the presence of bacterial associates was determined. Serological tests of 365 samples of blood from poultry from 73 settlements, 16 samples from wild and 18 samples from synanthropic birds of Odessa Region, did not reveal antibodies to avian influenza virus of subtype H5. The presence of the formed group immunity against the causative agent of Newcastle disease was detected in the farmsteads of 118 settlements and in 10 industrial poultry farms (seropositivity is 80–100%). Antibodies against the pathogen of Newcastle disease in the blood sera from wild birds from Odessa Region were not detected. In the summer-autumn season, some outbreaks of the Newcastle disease among ornamental pigeons were detected in three farms of two settlements. Mortality was 50–70%. Studying of 15 blood samples from pigeons detected antibodies to Newcastle disease virus (antibody titer 4.0–7.1 log₂). Autopsy of 28 poultry carcasses revealed changes characteristic of infectious laryngotracheitis of chickens, as well as some diseases of bacterial (tuberculosis, pasteurellosis, escherichiosis) and protozoan (trichomoniasis of chickens) etiology. Monitoring data on particularly dangerous viral infections of poultry in the South of Ukraine indicate the stability of the epizootic situation. The absence of hemagglutinating antibodies to avian influenza virus of the H5 subtype in the populations of the studied birds of different species and the presence of the formed group immunity against the Newcastle disease pathogen were established; seropositivity is 80–93 %. The circulation of Newcastle disease virus among ornamental pigeons has been established

Keywords: highly pathogenic avian influenza, Newcastle disease, hemagglutination inhibition test

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:616.98:578.828.5:636.22/.28:636.92

DOI 10.36016/VM-2020-106-4

ГЕМАГЛЮТИНУЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЗБУДНИКІВ ПАРАГРИПУ-3, КОРОНАВІРУСНОЇ ТА РОТАВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Корнейков О. М., Бородай Н. І., Олешко А. Ю., Перфілова С. І.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: korneykov@ukr.net

Аль Джабарі Мунір

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Метою роботи було визначення гемаглютинуючої активності різних штамів збудників парагрипу-3, корона- та ротавірусної інфекцій ВРХ. Напрацювання гемаглютининів вірусів проводили шляхом інфікування перещеплюваних культур клітин вірусами, визначення їхньої інфекційної активності за цитопатичною дією, з подальшим встановленням гемаглютинуючої активності з еритроцитами різних видів тварин. Установлено, що в межах одного виду вірусу можуть існувати штами, які мають різну гемаглютинуючу активність. Доведено, що найбільш придатними для виявлення гемаглютининів коронавірусу є еритроцити миші, парагрипу-3 — морської свинки, ротавірусу ВРХ — півня. Установлено залежність між інфекційною активністю вірусу парагрипу-3, корона, ротавірусів та їхньою гемаглютинуючою властивістю — найбільший титр гемаглютининів спостерігається за умов інфекційної активності збудників парагрипу-3, рота- та коронавірусів $7,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ та вище. Тривале зберігання збудників парагрипу-3, рота- та коронавірусів ВРХ за температури мінус 18°C та нижче не чинило негативного впливу на їхню гемаглютинуючу властивість, на відміну від зберігання означених вірусів за температури мінус 4°C або багаторазової дефростації

Ключові слова: інфекційна активність, цитопатична дія, пневмоентерит

Успішна боротьба з інфекційними пневмоентеритами великої рогатої худоби (ВРХ) неможлива без встановлення етіологічного значення збудників, що виділяються під час спалахів інфекційних хвороб [1]. Знання щодо біологічних властивостей того чи іншого збудника дозволяє не тільки розуміти особливості патогенного впливу вірусу на макроорганізм, а і своєчасно реагувати на аналогічні випадки шляхом впровадження в господарства заходів профілактики та боротьби, оснований на актуальних для сьогодення засобах діагностики та специфічної профілактики захворювань [2, 3]. Саме наявність у деяких вірусів поверхневих антигенів — гемаглютининів — є одним з факторів їхньої патогенності. Означені глікопротеїни призводять до інтоксикації організму тварини та є складовою, що характеризує інтенсивність патогенного впливу вірусу [4]. До того ж, слід враховувати, що означені поверхневі глікопротеїни відіграють не останню роль у системі діагностики захворювань вірусної етіології. Так, фахівцями ветеринарної медицини та науковцями широко використовуються гемаглютинуючі властивості вірусу парагрипу-3 (ПГ-3), рота- та коронавірусів для лабораторної діагностики цих захворювань (реакції гемаглютинації та затримки гемаглютинації). Зважаючи на вищенаведене, слід зазначити, що гемаглютинуючі властивості відрізняються не тільки у різних вірусів, але навіть у штамів одного й того ж збудника [5]. Так, у межах одного виду вірусу можуть існувати штами, що мають на поверхні оболонки гемаглютинини та ті, що не мають означеного глікопротеїну.

Саме тому, **метою** нашої роботи було встановлення наявності та визначення гемаглютинуючої активності у різних штамів збудників ПГ-3, корона- та ротавірусної інфекцій ВРХ.

Матеріали та методи. Для вивчення гемаглютинуючих властивостей вірусу ПГ-3 та збудників рота-, коронавірусної інфекцій використано еритроцити різних видів тварин та гемаглютинини, отримані з різних штамів та ізолятів означених вірусів.

Еритроцити тварин отримували з крові (миші, півня, морської свинки, кролів) шляхом знекровлення тварин (миші) або у відповідності до правилами відбору проб крові від тварин [6]. Кров, відібрану в розчин Альсівера, центрифугували протягом 10 хв зі швидкістю обертання ротору від 1 000 до 2 000 об./хв. Осад еритроцитів ресуспендували 10-кратним об'ємом 0,2 М фосфатнобуферного фізіологічного розчину (ФБФР). Означену процедуру повторювали тричі, а в подальшому готували суспензію еритроцитів різної концентрації (0,5, 0,7 і 1,0 %) ретельно змішуючи їх з ФБФР. Експериментальні дослідження на тваринах проведені з урахуванням основних принципів біоетики.

З метою отримання гемаглютинінів вірусів використовували польові ізоляти вірусів (ПГ-3) та штами (ПГ-3, рота- та коронавірус), що довгостроково (10–20 років) зберігаються в депозитарії ННЦ «ІЕКВМ». З метою підвищення рівня гемаглютинінів вірусів з низькою інфекційною активністю проводили їх концентрацію за допомогою поліетиленгліколю (ПЕГ). З цією метою використовували ПЕГ 50 %-ї концентрації з молекулярною вагою 6 000, шляхом додавання його до вірусвміщуючої рідини (до кінцевої концентрації 6 %), залишаючи суміш на 18 год за температури 4 °С. У подальшому отриману суміш центрифугували за режимом 5–10 тис. об./хв впродовж 25–40 хв. Осад ресуспендували в 1:50–1:100 початкового об'єму в фізіологічному розчині, що вміщує 0,025 % ЕДТА та повторно центрифугували за 4 тис. об./хв. Надосадову рідину використовували як гемаглютинуючий препарат, зберігаючи його за температури 4 °С.

Реакція гемаглютинації ставилась мікрометодом на полістиролових плашках з лунками U-подібної форми. До постановки реакції в усі лунки полістиролової плашки вносили 50 мкл фосфатного буферу, а в крайні лунки — по 50 мкл досліджуваного препарату, після чого робили двократні розведення. У подальшому до кожної лунки з відповідним гемаглютинуючим препаратом додавали 50 мкл суспензії еритроцитів різної концентрації, отриманих від різних тварин. З метою контролю чистоти лунок, якості еритроцитів і визначення часу їхнього осідання в один ряд плашки вносили еритроцити без гемаглютинуючого препарату. Після ретельного струшування плашок залишали їх за кімнатної температури до повного осідання еритроцитів (визначали за контрольними лунками). Реакцію враховували після повного осідання еритроцитів у контрольних лунках. Реакція вважалась позитивною у разі утворення аглютинованими еритроцитами рівномірного осаду, що схожий на «парасольку». За відсутності гемаглютинації еритроцити осідають в центрі лунки, утворюючи осад, що схожий на «гудзик» [7].

З метою визначення впливу температурного фактору на гемаглютинуючі властивості різних збудників вірусів пневмоентеритів ВРХ досліджено вплив тривалого зберігання означених вірусних антигенів (1 місяць) за температури мінус 18 °С та мінус 4 °С, а також за умов багаторазової дефростації (1–3) за означених температур.

Результати досліджень та обговорення. Проведеними дослідженнями встановлено, що збудник парагрипу-3 ВРХ проявляє свої гемаглютинуючі властивості лише по відношенню до еритроцитів морської свинки. Під час визначення гемаглютинуючої активності вірусу ПГ-3 встановлено пряму залежність між концентрацією еритроцитів і здатністю збудника до аглютинації еритроцитів. Слід зазначити, що здатність вірусу ПГ-3 штаму М-87 аглютинувати еритроцити морської свинки спостерігали лише у разі його використання в нативному вигляді незалежно від їхньої концентрації (табл. 1).

Натомість штам ЗКСМ вірусу ПГ-3 проявляв свої гемаглютинуючі властивості по відношенню до еритроцитів морської свинки у розведенні від нативного до 1:256. Слід зазначити, що найбільшу гемаглютинуючу активність означеного збудника спостерігали з еритроцитами морської свинки в їх розведенні 1,0 %, причому відмічено пряму кореляцію між проявом гемаглютинуючої активності вірусу ПГ-3 та рівнем його інфекційної активності — за збільшення інфекційної активності збудника до 7,5 lg ТЦД₅₀/см³ та вище, відповідно його цитопатичної дії на перещеплювані культури клітин, збільшувалась його гемаглютинуюча активність (до 1:256 за використання еритроцитів морської свинки у 1,0 %-му розведенні). Найнижчу гемаглютинуючу активність спостерігали в ізолюваного вірусу ПГ-3 — відмічено його здатність аглютинувати еритроцити морської свинки лише в нативному стані.

Що стосується особливостей прояву гемаглютинуючих властивостей збудників вірусних ентеритів ВРХ — рота- та коронавірусів, то проведеними дослідженнями встановлено, що діагностичне значення мають лише ротавірус штаму 238 і коронавірус штаму ВС-1 (табл. 2).

Таблиця 1 — Дослідження гемаглютинуючих властивостей польових ізолятів і виробничих штамів вірусів ПГ-3

Вірус	Інфекційна активність вірусу, Іg ТЦД ₅₀ /см ³	Еритроцити	Титр гемаглютининів за розведення еритроцитів, %		
			0,5	0,7	1,0
Штам ЗКСМ	7,0	білої миші	—	—	—
		морської свинки	1:32	1:64	1:64
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
	7,5	білої миші	—	—	—
		морської свинки	1:64	1:256	1:256
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
Штам М-87	5,4	білої миші	—	—	—
		морської свинки	нат.	нат.	нат.
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
	7,0	білої миші	—	—	—
		морської свинки	нат.	нат.	нат.
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
Ізолят вірусу ПГ-3	4,4	білої миші	—	—	—
		морської свинки	нат.	нат.	нат.
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—

Примітка. Нат. — у нативному стані, тобто таке, що не підлягало розведенню.

Таблиця 2 — Результати визначення гемаглютинуючих властивостей збудників рота- та коронавірусної інфекцій з еритроцитами різних видів тварин

Вірус	Інфекційна активність вірусу, Іg ТЦД ₅₀ /см ³	Еритроцити	Титр гемаглютининів за розведенні еритроцитів, %		
			0,5	0,7	1,0
Коронавірус штаму ВС-1	6,7	білої миші	1:16	1:16	1:32
		морської свинки	—	—	—
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
	7,4	білої миші	1:16	1:64	1:64
		морської свинки	—	—	—
		півня	нат.	1:2	1:2
		кроля	—	—	—
Ротавірус штаму 238	5,0	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	1:16	1:16	1:16
		кроля	—	—	—
	7,2	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	1:64	1:128	1:128
		кроля	—	—	—
Ротавірус штаму Tiverval	5,2	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	—	нат.	нат.
		кроля	—	—	—

Продовження табл. 2

Ротавірус штаму Tiverval	7,4	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	нат.	1:2	1:4
		кроля	—	—	—
Ротавірус штаму Lincoln	6,0	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—
	6,8	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	—	нат.	—
		кроля	—	—	—
Ротавірус штаму 480	6,7	білої миші	—	—	—
		морської свинки	—	—	—
		півня	—	—	—
		кроля	—	—	—

Примітка. Нат. — у нативному стані, тобто таке, що не підлягало розведенню.

Наявні в музеї ННЦ «ІЕКВМ» штами ротавірусу ВРХ Tiverval і Lincoln, які зберігалися впродовж тривалого часу, мали рівень гемаглютинину лише за їх дослідження в нативному стані (Lincoln) або з низьким розведенням (Tiverval). Гемаглютиніни штаму ротавірусу 480 за випробування з еритроцитами різних лабораторних тварин виявити не вдалось. За результатами проведених досліджень установлено, що збудник коронавірусу ВРХ штаму ВС-1 здатний аглютинувати еритроцити білої миші та, у меншій мірі, півня. Натомість ротавірус штаму 238 аглютинував лише еритроцити півня. Як і з попередніми збудниками встановлено пряму залежність між рівнем гемаглютинації вірусів та їхньою інфекційною активністю та концентрацією еритроцитів, що використовувались — найбільший рівень гемаглютинації коронавірусу ВРХ штаму ВС-1 спостерігали за його інфекційної активності 7,4 Іг ТЦД₅₀/см³ та концентрації еритроцитів 0,7–1,0 % — 1:64 з еритроцитами білої миші та 1:2 — з еритроцитами півня. Аналізуючи отримані дані щодо ротавірусу ВРХ штаму 238 отримано аналогічні дані, а саме — за інфекційної активності означеного збудника 7,2 Іг ТЦД₅₀/см³ його здатність аглютинувати еритроцити півня (0,7–1,0 %) проявлялась у розведенні вірусу 1:128.

За результатами визначення впливу температурного фактору на гемаглютинуючі властивості різних збудників вірусів пневмоентеритів ВРХ встановлено, що тривале зберігання означених вірусних антигенів (1 місяць) за температури мінус 18 °С не чинило негативного впливу на їхні гемаглютинуючі властивості (табл. 3).

Таблиця 3 — Вплив тривалого заморожування та послідовних дефростацій на гемаглютинуючі властивості збудників пневмоентеритів ВРХ

Вірус	Титр ГА до заморожування	Зберігання за температури мінус 4 °С				Зберігання за температури мінус 18 °С			
		1 міс.	Дефростація			1 міс.	Дефростація		
			1	2	3		1	2	3
ПГ-3 штаму ЗКСМ	1:256	1:128	1:128	1:32	1:32	1:256	1:256	1:64	1:64
Коронавірус штаму ВС-1	1:64	1:64	1:64	1:16	1:16	1:64	1:64	1:32	1:16
Ротавірус штаму 238	1:128	1:128	1:64	1:32	1:16	1:128	1:128	1:32	1:32
Ротавірус штаму Tiverval	1:4	нат.	—	—	—	1:4	1:2	нат.	—

Примітка. Нат. — у нативному стані, тобто таке, що не підлягало розведенню.

Натомість тривале зберігання вірусних антигенів за температури мінус 4 °С призводило до зниження рівня гемаглютинину у два рази впродовж одного місяця досліджень. Крім того, багаторазова дефростація антигенів, як за умов їх зберігання за температури мінус 4 °С, так і за

температури мінус 18 °С, призводило до зниження їхньої гемаглютинуючої активності у 2–4 рази.

Висновки. 1. Визначено, що найбільш придатними для виявлення гемаглютининів коронавірусу ВРХ є еритроцити миші, ротавірусу ВРХ — півня, парагрипу-3 — морської свинки.

2. Установлено пряму залежність між інтенсивністю прояву цитопатичного ефекту, а, як наслідок, інфекційної активності вірусів ПГ-3, рота-, коронавірусів та їхньою гемаглютинуючою активністю — найбільший титр гемаглютининів спостерігається за умов інфекційної активності збудників ПГ-3, рота- та коронавірусів 7,0 lg ТЦД₅₀/см³ та вище.

3. Зберігання вірусних антигенів впродовж 1 місяця за температури мінус 18 °С та нижче не мало негативного впливу на гемаглютинуючі властивості вірусів ПГ-3, рота- та коронавірусів ВРХ, на відміну від їх зберігання за температури мінус 4 °С або багаторазової дефростації.

Список літератури

1. Мищенко В. А., Думова В. В., Черных О. Ю. Особенности массовых ассоциированных респираторных заболеваний взрослого крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*. 2011. № 3. С. 13–15. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16363611>.
2. Fulton R. W. et al. Bovine viral diarrhea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2000. Vol. 64, No. 3. P. 151–159. PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189606>.
3. Ellis J. A. Bovine parainfluenza-3 virus. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2010. Vol. 26, No. 3. P. 575–593. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.08.002>.
4. Hägglund S. Epidemiology, detection and prevention of respiratory virus infections in Swedish cattle: With special reference to bovine respiratory syncytial virus: doctoral thesis. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2005. 59 pp. (Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, 2005: 121). URI: <https://res.slu.se/id/publ/13130>.
5. Бабин Ю. Ю. и др. Анализ вариабельности фрагмента гена гемагглютинина изолятов вируса гриппа подтипов H3 и H4, выделенных на территории РФ в 2008–2010 гг. *Ветеринария и кормление*. 2011. № 6. С. 8–10. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=20360934>.
6. Правила відбору зразків патологічного матеріалу, крові, кормів, води та пересилання їх для лабораторного дослідження: затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Мінсільгосппроду України (наказ № 15-14/111 від 15.04.1997 р.). 35 с.
7. Головкин А. Н. и др. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справ. пособие. Харьков: HTMT, 2007. 512 с.

HEMAGGLUTINATING PROPERTIES OF BOVINE PARAINFLUENZA-3, CORONAVIRUS AND ROTAVIRUS INFECTIONS' PATHOGENS IN CATTLE

Kornieikov O. M., Borodai N. I., Oleshko A. Y., Perfilova S. I.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Al Jabari Munir

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The purpose of the work was to determine the hemagglutinating activity of different strains of bovine parainfluenza-3, coronavirus and rotavirus infections' pathogens in cattle. Accumulation of hemagglutinins of viruses was carried out by infecting cell cultures with viruses, determining their infectious activity by cytopathic action, followed by the establishment of hemagglutinating activity with erythrocytes of different species of animals. It has been established that within one type of virus there may be strains that have different hemagglutinating activity. It has been proved that within one type of virus there may be strains that have different hemagglutinating activity. It has been established that for the detection of coronavirus hemagglutinins mouse erythrocytes are the most suitable, bovine parainfluenza-3 virus hemagglutinins — guinea pig erythrocytes, rotavirus hemagglutinins — rooster erythrocytes. The relationship between the infectious activity of parainfluenza-3 virus, corona-, rotaviruses and their hemagglutinating properties has been established — the highest hemagglutinin titer was observed under the conditions of infectious activity of bovine parainfluenza-3 virus, corona-, rotaviruses in 7.0 lg TCD₅₀/cm³ and higher. Long-term storage of bovine parainfluenza-3, coronavirus and rotavirus infections' pathogens at a temperature of minus 18 °С and lower did not have a negative effects on their hemagglutinating properties, in contrast to the storage of these viruses at a temperature of minus 4 °С or repeated defrosting

Keywords: *infectious activity, cytopathic action, pneumoenteritis*

УДК 619:616.98:578.828.5:636.22/.28:636.92

DOI 10.36016/VM-2020-106-5

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СПУМАВІРУСУ ВРХ НА МОДЕЛІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

Горбатенко С. К.¹, Солодянкін О. С.¹, Горбатенко В. П.², Коваленко Л. В.¹,
Рудова Н. Г.¹, Кузнецова О. В.¹, Мягих Н. В.¹, Зданевич П. П.¹

¹ Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: st.gorbatenko@gmail.com

² Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Генетичний матеріал польового ізоляту пінистого вірусу великої рогатої худоби інокульовано підшкірно кролям (5 дослідних і 5 інтактних особин). На молекулярно-генетичному, клітинному та біохімічному рівні вивчали вплив генетичного матеріалу на організм дослідних тварин. Установлено, що персистенція збудника спумавірусної інфекції за результатами молекулярно-генетичного дослідження (ПЛР) становить 60 діб. Зафіксовано перерозподіл клітин лейкоцитарної фракції у бік лімфоцитозу (80–88 %). Через 60 діб після зараження, порівняно з показниками контролю, відмічено зниження концентрації ЦІК на 22,2 % ($p \leq 0,05$) та тенденцію до зниження серомукоїдів (на 6,5 %). По завершенні досліду встановлено статистично вірогідне зниження концентрації ЦІК та підвищення рівня серомукоїдів на 21,5 і 17,6 % відповідно, а також тенденцію до зниження рівня глобулінів, який становив 15,5 %. Результати гематологічного та біохімічного аналізу свідчать про розвиток імуносупресивного стану під впливом інокульованого матеріалу

Ключові слова: ПЛР, гематологічні та біохімічні показники, імуносупресія

Спумавірусна інфекція, що спричинюється пінистим вірусом ВРХ (bovine foamy virus, BFV) має значне поширення у країнах світу з розвиненим скотарством [1–3, 5]. Зважаючи на те, що спумавірусна інфекція, як представник повільної, або мінорної інфекції, становить загрозу здоров'ю поголів'я тварин, обумовлюючи імунодефіцитний стан, який знижує ефективність лікувально-профілактичних засобів, обумовлює зниження обсягів та якості тваринницької продукції, наявність цього вірусу серед поголів'я тварин ускладнює реалізацію планових або вимушених ветеринарно-санітарних програм [2–4]. Фахівці ветеринарної медицини, що переймаються обслуговуванням тваринницьких господарств, повинні бути чітко обізнаними у питаннях епізоотичного стану поголів'я, оскільки плани протиепізоотичних заходів мають за підґрунтя базову характеристику імунного статусу тварин, що перебувають у тій чи іншій зоні [3–5]. Вітчизняні діагностичні засоби, що сьогодні можуть використовуватись у моніторингових обстеженнях поголів'я стосовно спумавірусної інфекції великої рогатої худоби, обмежуються лише молекулярно-генетичними методами, що не може забезпечувати запити ветеринарної практики. Першочерговим завданням у зв'язку з цим є розробка засобу ретроспективної діагностики захворювання, а це передбачає вивчення біологічних властивостей збудника та накопичення вірусної маси [5–7].

У зв'язку з цим, **метою** роботи було проведення дослідження у напрямку вивчення на клітинно-гуморальному та біохімічному рівні впливу збудника мінорної інфекції, а саме спумавірусу, на організм лабораторних тварин (кролів).

Матеріал і методи. Дослід проведено на 10 кролях масою 2–2,5 кг, розділених на 2 групи: перша група, п'ять особин, дослідна — кожному кролю введено одноразово підшкірно 1 см³ нативної крові від тварини-донора, у якій встановлено наявність генетичного матеріалу BFV. Друга група, п'ять особин — контроль. Спостереження за станом дослідних кролів проводили шляхом візуального контролю життєздатності організмів після зараження, а також проведенням гематологічного, біохімічного та молекулярно-генетичного аналізу проб крові. Проби крові відбирали та піддавали дослідженню через кожні 15 діб.

Для детекції провірусної ДНК BFV використано системи праймерів Int1–Int2 (зовнішня пара, довжина ампліфікованого продукту становить 430 п.н.) та Int3–Int4 (внутрішня пара, довжина ампліфікованого продукту 221 п. н.) шляхом «гніздового» варіанту ПЛР згідно з рекомендаціями розробників [7]. Для проведення зворотної транскрипції та отримання кДНК використано ревертазу MMLV згідно з рекомендаціями виробника. Ампліфікацію проведено на ампліфікаторі Biometra (США). Візуалізацію результатів ПЛР-аналізу було проведено шляхом горизонтального гель-електрофорезу у 1,5–2 %-му агарозному гелі.

Гематологічні дослідження проводили у відповідності до розробленої науковцями лабораторії вивчення лейкозу ННЦ «ІЕКВМ» стандартної операційної процедури Л-01С-2013 «Проведення гематологічного дослідження периферійної крові тварин». У відповідності з методикою вивчали зміни у чисельності лейкоцитарної фракції дослідних тварин, чисельність і співвідношення клітинних елементів лейкоцитарної фракції у мазках, підданих фарбуванню за Романовським-Гімза, а саме плазмочитів, лімфоцитів, сегментоядерних гранулоцитів — еозінофілів, базофілів, нейтрофілів, атипичних та молодих форм вищеозначених клітин. У динаміці вивчали рівень гемоглобіну гематиновим методом по Салі та швидкості осадження еритроцитів (ШОЕ).

Біохімічні дослідження сироватки крові проводили з визначенням стартових показників стосовно рівня загального білка спектрофотометрично, білкового профілю (альбуміни, глобуліни) — за допомогою стандартних наборів реактивів виробництва фірми «Реагент» (Україна). Визначали концентрацію неспецифічних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси за методом Гриневича та Алферова, серомукоїдів — за методом Веймера та Мошина.

Результати досліджень. Під час молекулярно-генетичного дослідження проб крові від кролів дослідної групи через п'ятнадцять діб після інокуляції генетичний матеріал BFV було виявлено у чотирьох особин (№№ 1, 3, 4, 5) з п'яти. Дослідженням через 30 діб після інокуляції позитивний результат щодо виявлення генетичного матеріалу вищеозначеного збудника встановлено у двох особин (№ 3 та № 5). Третім дослідженням (через 45 діб після початку дослідів) отримано аналогічні результати відносно другого — генетичний матеріал знову виявлено у пробах крові дослідних тварин № 3 та № 5. Через два місяці після інокуляції (четверте дослідження) генетичний матеріал BFV збудника встановлено лише у пробі крові однієї дослідної тварини, а саме кроля № 3.

Установлено, що стартові показники крові кролів дослідної групи (гемоглобін, кількість еритроцитів та лейкоцитів, формула крові) були в межах норми: Hb — 10–13 г/дл, еритроцити — $6,2\text{--}7,2 \times 10^6/\text{мл}$, лейкоцити — $3,5\text{--}7,8 \times 10^3/\text{мл}$, ШОЕ — 1–3 мм/год. Як у попередньому розділі, спостереження проводили упродовж дослідів. Установлено, що показник швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) у дослідній групі в порівнянні з контролем суттєво підвищився на 30-ту добу після експериментального зараження, однак під час наступного відбору крові (45 діб) спостерігалася тенденція до зниження значень цього показника і до кінця експерименту значення ШОЕ залишались у межах норми. У цьому часовому проміжку (30–45 діб після зараження) спостерігалось підвищення концентрації гемоглобіну в усіх кролів дослідної групи в порівнянні з контрольною групою, у яких таких змін гематологічних показників не спостерігалось.

Відбір крові через 30 днів після зараження показав збільшення кількості лейкоцитів (до $9,8\text{--}9,9 \times 10^3/\text{мл}$). Виходячи з розрахунків лейкоцитарної формули відбулось це за рахунок підвищення кількості паличкоядерних гранулоцитів. Також незначно збільшилися показники гемоглобіну в усіх кролів дослідної групи (до 15–17 г/дл) в порівнянні з контрольною групою, в якій таких змін гематологічних показників не спостерігалось. Зросли показники швидкості осідання еритроцитів до 3–4 мм/год. Подібні зміни є характерними для запальних процесів. Через місяць після експериментального зараження гематологічні показники крові дослідної групи кролів (лейкоцити, гранулоцити, ШОЕ) відновились до рівня початкових величин. Це свідчить про те, що наявність збудника спумавірусної інфекції в організмі кролів суттєво не впливає на гематологічні показники їхньої крові, хоч звертає на себе увагу перерозподіл елементів лейкоцитарної фракції у бік значного (до 80–88 %) збільшення співвідношення лімфоцитів, що свідчить про розвиток імуносупресивного стану в організмі дослідних кролів.

Динаміку зміни співвідношення клітин лейкоцитарної фракції у період проведення дослідів наведено в табл. 1.

Таблиця 1 — Динаміка перерозподілу співвідношення клітин лейкоцитарної фракції (%)

Терміни проведення експерименту, діб	Рівень показників							
	с/я нейтрофіли		п/я нейтрофіли		базофіли		лімфоцити	
	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль
15	29,4 ± 2,6	25,4 ± 2,6	4,5 ± 1,2	5,6 ± 1,2	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,2	48,3 ± 4,0	47,6 ± 4,0
30	26,6 ± 3,3	23,4 ± 3,3	3,6 ± 1,4	3,8 ± 1,5	0,8 ± 0,4	2,2 ± 0,3	59,1 ± 3,0	52,2 ± 3,0
45	19,4 ± 2,6	27,1 ± 1,9	4,5 ± 1,1	4,1 ± 0,7	0,5 ± 0,3	3,2 ± 0,6	67,3 ± 4,0	49,4 ± 5,0
60	18,7 ± 2,2	24,6 ± 2,4	5,8 ± 1,4	4,3 ± 1,1	0,8 ± 0,4	2,6 ± 0,5	85,2 ± 5,0	51,3 ± 4,0
75	21,2 ± 3,5	26,4 ± 3,7	3,8 ± 1,5	3,2 ± 0,2	0,9 ± 0,4	1,8 ± 0,3	80,6 ± 3,0	47,6 ± 3,0
90	23,7 ± 2,3	30,3 ± 2,1	3,3 ± 1,2	4,4 ± 1,2	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,2	81,8 ± 4,0	49,1 ± 5,0
105	21,9 ± 3,9	32,5 ± 2,9	3,9 ± 0,7	5,5 ± 1,3	0,8 ± 0,3	1,8 ± 0,3	88,4 ± 3,0	50,6 ± 2,0
120	20,8 ± 2,7	33,4 ± 2,7	4,1 ± 1,1	5,9 ± 1,3	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,1	87,2 ± 5,0	49,4 ± 6,0

Аналізуючи отримані результати гематологічних досліджень та ураховуючи біохімічні показники у порівняльні часові періоди дослідів варто засвідчити, що після інокуляції в організм дослідних кролів генетичного матеріалу спумавірусу виражені зміни досліджуваних показників відбулися через 30 діб, коли спостерігалася тенденція до підвищення рівня загального білка на 9,4 % в основному за рахунок підвищення глобулінової фракції, уміст якої збільшився на 17,4 %, та зниження концентрації ЦІК на 8,6 % порівняно з відповідними показниками контрольної групи. При цьому статистично вірогідне підвищення встановлено щодо рівня серомукоїдів — на 21,2 %. Через 60 діб після зараження порівняно з показниками контролю відмічено зниження концентрації ЦІК на 22,2 % ($p \leq 0,05$) та тенденцію до зниження серомукоїдів (на 6,5 %). Під час останнього відбору крові (105-та доба дослідів) встановлено статистично вірогідне зниження концентрації ЦІК та підвищення рівня серомукоїдів на 21,5 та 17,6 % відповідно, а також тенденцію до зниження рівня глобулінів, яке склало 15,5 %.

Результати біохімічних досліджень проб крові в окремі часові періоди дослідів наведені в табл. 2.

Таблиця 2 — Біохімічні показники сироватки крові кролів в окремі періоди дослідів

№ з/п	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л	Циркуючі імунні комплекси, мг/мл	Серомукоїди, мг/мл
До інокуляції генетичного матеріалу					
Дослід					
1	83,1	59,3	23,8	0,15	0,22
2	59,6	44,8	14,8	0,13	0,22
3	76,9	52,4	24,5	0,13	0,25
4	74,8	49,7	25,1	0,11	0,26
5	72,9	51,1	21,8	0,12	0,22
M ± m	73,5 ± 4,7	49,5 ± 4,9	24,0 ± 0,7	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,008
Контроль					
6	71,2	55,2	16,0	0,11	0,22
7	65,3	45,5	19,8	0,12	0,22
8	75,8	53,1	22,7	0,10	0,23
9	67,0	48,3	18,7	0,10	0,23
10	70,6	54,5	16,1	0,11	0,22
M ± m	69,9 ± 1,2	51,3 ± 1,9	18,7 ± 1,3	0,11 ± 0,004	0,22 ± 0,002
30 діб після інокуляції					
Дослід					
1	81,8	54,1	27,7	0,13	0,29
2	77,2	52,9	24,3	0,11	0,28
3	74,4	45,0	29,4	0,14	0,27
4	81,2	47,0	34,2	0,10	0,27
5	69,8	47,6	22,2	0,15	0,26
M ± m	76,9 ± 2,4	49,3 ± 1,8	27,6 ± 2,4	0,126 ± 0,01	0,274 ± 0,006

№ з/п	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л	Циркулюючі імунні комплекси, мг/мл	Серомукоїди, мг/мл
Контроль					
6	73,6	45,2	28,4	0,12	0,21
7	71,2	45,8	25,4	0,14	0,24
8	69,5	44,0	25,5	0,15	0,21
9	67,1	50,6	16,5	0,13	0,22
10	70,1	48,2	21,9	0,15	0,25
M ± m	70,3 ± 1,3	46,8 ± 1,3	23,5 ± 2,3	0,138 ± 0,006	0,226 ± 0,008
105 діб після інокуляції					
Дослід					
1	64,2	45,9	18,3	0,11	0,24
2	61,7	45,3	16,4	0,12	0,30
3	71,2	47,0	24,2	0,11	0,29
4	75,8	50,0	25,8	0,14	0,32
5	70,0	45,3	24,7	0,14	0,32
M ± m	68,6 ± 2,8	46,7 ± 0,9	21,9 ± 1,9	0,124 ± 0,006	0,294 ± 0,016
Контроль					
6	64,2	45,3	18,9	0,16	0,32
7	79,3	47,0	32,3	0,15	0,26
8	63,2	45,3	17,9	0,18	0,22
9	75,8	46,5	29,3	0,16	0,24
10	78,7	48,2	30,5	0,14	0,21
M ± m	72,2 ± 3,2	46,5 ± 0,6	25,8 ± 2,5	0,158 ± 0,008	0,250 ± 0,022

Виходячи з біологічної ролі досліджених біомаркерів неспецифічного імунітету (ЦІК середньої молекулярної маси є індукторами клітинної ланки, а серомукоїди супресорами гуморальної ланки вродженого імунітету) можна зробити висновок, що експериментальне зараження кролів спумавірусом спричиняє незначну активізацію імунної системи через 30 діб після інфікування з подальшим вираженим пригніченням функціонального стану обох ланок неспецифічного імунітету кролів у наступні періоди дослідження.

Висновки. 1. Інокуляція кролям генетичного матеріалу збудника спумавірусної інфекції ВРХ спричиняє короточасну, до 60 діб, персистенцію за даними молекулярно-генетичного дослідження.

2. Персистенція збудника спумавірусної інфекції ВРХ не спричиняє в організмі кролів суттєвих гематологічних змін, хоча перерозподіл клітин лейкоцитарної фракції у бік виразного лімфоцитозу свідчить про розвиток імуносупресивного стану.

3. Експериментальне зараження кролів спумавірусом спричиняє незначну активізацію імунної системи через 30 діб після інфікування, стан якої змінюється у подальшому вираженим пригніченням обох функціональних ланок неспецифічного імунітету.

4. Генетичний матеріал збудника спумавірусної інфекції спричиняє за інокуляції у кролів прояв імуносупресії при лейкоцитозі та перерозподілі лейкоцитарної фракції у бік значного (80–88 %) лімфоцитозу, зниження концентрації ЦІК, рівня глобулінів та підвищення серомукоїдів.

Список літератури

1. Красникова Е. С. Эпизоотическая ситуация по вирусному иммунодефициту крупного рогатого скота в городе Саратове и Саратовской области. *Вестник ветеринарии*. 2011. № 4 (59). С. 70–71. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=17069902>.
2. Romen F. W. et al. Serological detection system for identification of cows shedding bovine foamy virus via milk. *Virology*. 2007. Vol. 364, No. 1. P. 123–131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.009>.
3. Murray S. et al. Expanded tissue targets for foamy virus replication with simian immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *Journal of Virology*. 2006. Vol. 80, No. 2. P. 663–670. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.80.2.663-670.2006>.

4. Pamba R., Jeronimo C., Archanbault D. Detection of bovine retrospumavirus by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*. 1999. Vol. 78, No. 1–2. P. 199–208. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(98\)00179-7](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(98)00179-7).
5. Колотвин В. В. Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота: индикация инфекции и распространённость в хозяйствах Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23, 16.00.03 / Всерос. науч.-исслед. ин-т эксперим. вет. им. Я. П. Коваленко. Москва, 2007. 22 с. URL: <https://search.rsl.ru/ru/record/01003053744>.
6. Pinto-Santini D. M., Stenbak C. R., Linial M. L. Foamy virus zoonotic infections. *Retrovirology*. 2017. Vol. 14, No. 1. P. 55. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12977-017-0379-9>.
7. Materniak M. et al. Similar patterns of infection with bovine foamy virus in experimentally inoculated calves and sheep. *Journal of Virology*. 2013. Vol. 87, No. 6. P. 3516–3525. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.02447-12>.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BOVINE FOAMY VIRUS ON THE MODEL OF LABORATORY ANIMALS

Gorbatenko S. K.¹, Solodiankin O. S.¹, Gorbatenko V. P.², Kovalenko L. V.¹,
Rudova N. G.¹, Kuznetsova O. V.¹, Miahkykh N. V.¹, Zdanevych P. P.¹

¹ National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

² Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Genetic material of the field isolate of bovine foamy virus was inoculated subcutaneously in rabbits (5 experimental and 5 intact animals). The influence of genetic material on the organism of experimental animals was studied at the molecular-genetic, cellular, and biochemical levels. It has been established that the persistence of the causative agent of spumavirus infection according to the results of molecular and genetic research (PCR) is 60 days. Redistribution of cells of leukocyte fraction towards lymphocytosis (80–88%) was recorded. Decrease in the concentration of circulating immune complexes by 22.2% ($p \leq 0.05$) and a tendency to decrease in the seromucoid concentration (by 6.5%) were found on 60th day after infection compared with control indicators. At the end of the experiment it was established a statistically significant decrease in the concentration of circulating immune complexes and an increase in seromucoid level by 21.5% and 17.6% respectively, as well as a tendency to decrease in the level of globulins, which was 15.5%. The results of hematological and biochemical analysis indicate the development of immunosuppressive state under the influence of the inoculated material

Keywords: PCR, hematological and biochemical indicators, immunosuppression

3. ЕПІЗОТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98-084:579:615.243:615.33:615.371:636.22/28

DOI 10.36016/VM-2020-106-6

ДОЦІЛЬНІСТЬ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ, АНТИБІОТИКІВ І ВАКЦИН ЗА АСОЦІЙОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Гадзевич О. В., Гадзевич Д. В., Стегній Б. Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: olgagadzevych@gmail.com

У статті наведено результати визначення доцільності та ефективності застосування вакцини і пробіотиків для профілактики асоційованих інфекцій у господарстві з високим рівнем патологій у тварин бактеріальної етіології та циркуляцією полірезистентних збудників. Захворюваність телят на пневмоентерити становила 38,0 %, корів на різні форми маститів — 48,2 %, ендометрити — 76,2 %. Від хворих тварин ізолювали збудник ешерихіозу (*Escherichia coli*), стафілококозу (*Staphylococcus aureus*), анаеробної ентеротоксемії (*Clostridium perfringens*) та ряд умовно-патогенних мікроорганізмів, які приймали участь в ускладненні асоційованого перебігу інфекцій. Виділена мікрофлора була резистентною до препаратів пеніцилінового ряду, аміноглікозидів, макролідів, амфеніколів, лінкозамідів, цефалоспоринів та навіть деяких фторхінолонів. Крім того, встановлено, що пробіотичні культури роду *Bacillus* мали більш виражену антагоністичну активність до виділених збудників, тому їх доцільно було використовувати при спалахах інфекційних хвороб для витіснення патогенної мікрофлори з вогнища інфекції. При профілактиці захворювання та нормалізації мікрофлори після застосування антибактеріальних препаратів доцільним було застосування пробіотиків на основі лактобацил, оскільки вони мали найвищі показники адгезії (від $6,4 \pm 0,6$ до $8,9 \pm 0,4$). Після вакцинації захворюваність корів була нижчою ніж у контрольній групі, зокрема на мастити — на 15–25 %; на затримку посліду — на 15–32,7 %, на ендометрити — на 17–30 %. Дворазова вакцинація сухостійних корів забезпечила формування колострального імунітету у телят і зменшення на 20 % захворюваності телят на респіраторні та шлунково-кишкові хвороби. Крім того, вакцинація корів сприяла покращенню якості молока за ступенем його обсіменіння бактеріальної мікрофлори

Ключові слова: пневмоентерити, мастити, ендометрити

У структурі інфекційних захворювань провідне місце займають асоційовані інфекції [1–3]. Тому, під час проведення протиепізоотичних заходів необхідно враховувати ступінь взаємовідносин між окремими співчленами мікробних асоціацій. Взаємодіючи як синергісти, мікроорганізми в організмі сприйнятливих тварин спричиняють асоційовані хвороби, що супроводжуються великою питомою вагою загибелі молодняку, завдаючи значних економічних збитків тваринництву [1]. У разі перебігу захворювань у тварин в асоційованій формі виникають труднощі під час постановки діагнозу, вибору засобів лікування та профілактики хвороб [1–3]. Крім інфекційних чинників, на перебіг хвороби впливає ряд факторів неінфекційного характеру, зокрема стрес-фактори [3]. У разі виключення якогось фактору або популяцій мікроорганізмів з інфекційного процесу рівновага порушується, у такому випадку тварини можуть і не захворіти або клінічні ознаки захворювання будуть менш вираженими, а його перебіг легким і нетривалим [1, 2]. Крім того, відомим є той факт, що перебіг інфекційних захворювань та їхня важкість залежить від порушення мікроекологічного балансу живого організму, у тому числі за рахунок нераціональної антибіотикотерапії [1, 3]. Для лікування інфекційних захворювань тварин біопромисловістю запропоновано значний перелік антибактеріальних препаратів, пробіотичні препарати, зокрема закордонного та вітчизняного виробництва. Для специфічної профілактики інфекційних захворювань тварин, асоційованої етіології здебільшого пропонуються полівалентні вакцини. Проте, поширення інфекційних захворювань не знижується, а економічні збитки

господарств від зниження продуктивності або загибелі тварин, витрат на лікування та профілактику є суттєвими. Усе це пов'язано з невисокою ефективністю біопрепаратів і високою антибактеріальною резистентністю збудників, що спричиняють захворювання. Невисока ефективність імунобіологічних препаратів пояснюється переважно невідповідністю сероваріантного складу штамів вакцин до епізоотичних збудників захворювання у тваринницьких господарствах України. Антибіотикорезистентність збудників, що спричиняють інфекційні захворювання у тваринницьких господарствах України пояснюється насамперед нераціональним, безсистемним і безконтрольним використанням антибактеріальних препаратів [1–3]. Тому, стратегія діагностики та профілактики повинна бути науково обґрунтованою, а діагностичні та профілактичні засоби повинні розроблятися з урахуванням епізоотичної ситуації у тваринницьких господарствах України та усіх етіологічно-значимих інфекційних агентів у складі паразитоценозу.

Метою досліджень було визначення доцільності та ефективності застосування пробіотиків, антибіотиків і вакцин за асоційованих бактеріальних інфекційних захворювань великої рогатої худоби.

Матеріали та методи. Під час проведення досліджень використовували наступні методи: епізоотологічний; збір анамнезу; клінічні, патологоанатомічні; бактеріологічні; статистичні. Відбір матеріалу, епізоотологічні, клінічні та лабораторно-діагностичні дослідження проводили згідно з чинними настановами за загальноприйнятими методиками [4–8]. Виділення та ідентифікацію мікроорганізмів проводили у лабораторії вивчення бактеріальних хвороб тварин ННЦ «ІЕКВМ». Для виділення мікроорганізмів з матеріалу та вивчення їхніх культуральних властивостей використовували прості та селективні поживні середовища виробництва ТОВ «Фармактив» (Україна), ФБУН ГНЦ (Оболонск, Російська Федерація) та «HiMedia Laboratories Pvt. Limited» (Індія). Для виділення ентеробактерій використовували середовище Ендо, Плоскірева, Левіна, MacConkey, вісмут-сульфітний агар, Олькеницького; для стафілококів — кров'яний агар, сольовий агар, середовище Чистовича, жовтково-сольовий агар, молочно-жовтково-сольовий агар; для стрептококів — середовища, що утримують глюкозу (1 %), кров (5–10 %) та сироватку крові (10–20 %); для анаеробів — Кітта–Тароцці, анаеробний агар по Бревер, агар L.D. з ескуліном (для анаеробів), агар Фогета-Фредетта, 10 %-й кров'яний агар з антибактеріальними речовинами, кров'яний еритрит агар та вугільний еритрит агар. Бактеріологічні та серологічні дослідження проводили з використанням сучасних методик [4–8]. Виділення та ідентифікацію бактерій проводили згідно «Bergey's Manual of Systematics Bacteriology» [6, 7]. Для проведення бактеріологічних досліджень відбирали патологічний та біологічний матеріал від хворих тварин. За результатами лабораторних досліджень вивчали властивості мікроорганізмів, а саме: культурально-морфологічні, тінкторіальні, імунобіологічні, біохімічні та антагоністичні, встановлювали вірулентність.

Для визначення доцільності та ефективності застосування різних засобів терапії та профілактики асоційованих бактеріальних пневмоентеритів провели аналіз чутливості збудників захворювань до антибактеріальних і пробіотичних препаратів, які широко використовуються у скотарських господарствах України. За результатами епізоотологічного обстеження господарства визначили групи пріоритетних препаратів, які ветеринарні лікарі застосовували під час спалахів захворювань у господарствах. За результатами бактеріологічних досліджень визначали чутливість збудників захворювань до препаратів. Тести на чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів проводили з чистою культурою бактерій. Для визначення антибіотикочутливості виділених мікроорганізмів використовували набори з антибактеріальними препаратами виробництва ТОВ «Аспект» (Україна) та «HiMedia» (Індія). Для визначення чутливості використовували поживне середовище Мюллера–Хінтона. Чутливість визначали до препаратів пеніцилінового ряду (амоксцилін, бензилпеніцилін, ампіцилін, амоксиклав); цефалоспоринового ряду (цефазолін, цефалексин, цефотаксим, цефтазидим); макролідів (еритроміцин, азитроміцин, тілозин); лінкозамідів (лінкоміцин, кліндаміцин); препаратів фторхінолону (офлоксацин, енрофлоксацин, ципрофлоксацин, гатифлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин); аміноглікозидів (гентаміцин, канаміцин, амікацин); тетрациклінів (тетрациклін, доксициклін, окситетрациклін), амфеніколів (хлорамфенікол (левоміцетин), поліміксинів (колістин) та інших (фосфоміцин). Результат антибіотикограми визначали за трьома категоріями: чутлива, помірно стійка та стійка (резистентна) культура відповідно до критеріїв,

наведених у наказі № 167 «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» та рекомендацій Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST, версія 8.0). Під час оцінки активності антибіотиків урахували критерії виробника дисків. Контроль якості середовищ і дисків з антибіотиками проводили з використанням тест-мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Усі досліди супроводжувалися відповідними контролюями: контролем середовища на стерильність; контролем росту культури в середовищі.

Антагоністичну активність пробіотичних бактерій до патогенної мікрофлори визначали методом перпендикулярних штрихів. Суть методу перпендикулярних штрихів полягає в наступному: на підсушені чашки Петрі зі середовищем МПА петлею висівали штрихом суспензії добових тест-культур мікроорганізмів у концентрації 1 млрд м. к./см³ ізотонічного розчину NaCl. Посіви інкубували в термостаті за температури 37 °С впродовж 24 год. Через добу перпендикулярним штрихом до отриманих полос росту тест-культур відступив на 1–2 мм підсіювали суспензію одностових культур дослідних мікроорганізмів у концентрації 1 млрд м. к./см³ ізотонічного розчину NaCl. Досліди проводили в трьох повтореннях. Результати враховували через 18 год інкубування шляхом обліку величини зони пригнічення росту дослідних культур (вимірюючи ці зони лінійкою: від культури до початку росту дослідних культур, в мм). Контролем росту дослідних культур був їх паралельний посів штрихом на чашки Петрі з МПА без тест-культур. Визначали діаметр зони затримання росту (ДЗЗР) у мм та підраховували частку штамів, чутливих до пробіотичних культур (ДЗЗР більше 10 мм), помірно чутливих (ДЗЗР від 5 до 10 мм) та нечутливих мікроорганізмів (ДЗЗР від 0 до 5 мм).

Для вивчення адгезивних ознак бактерій використовували середній показник адгезії (СПА) — середня кількість мікробних клітин, прикріплених на одному еритроциті.

Для вивчення адгезивних властивостей використовували еритроцити великої рогатої худоби.

I етап — готували дослідні ізоляти бактерій. Мікроорганізми вирощували у рідких поживних середовищах за температури 37 °С впродовж доби; II етап — готували бактеріальну суспензію культур у концентрації 10⁹/см³ та еритроцитів — 10⁸/см³; III етап — бактеріальну завісь та еритроцити змішували та витримували у термостаті впродовж 3 год за температури 37 °С. Після закінчення інкубації робили мазки, які фарбували за Грамом або за Романовским–Гімзе та підраховували кількість мікробних клітин, які адгезувалися на еритроцитах [8].

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 7.0. Оцінку вірогідності різниці між порівнюваними показниками визначали за допомогою *t*-критерію Стьюдента [9, 10].

Результати досліджень та їх обговорення. Для виконання поставленої мети було підібране фермерське господарство, в якому проведено аналіз епізоотичної ситуації та встановлений етіологічний спектр збудників захворювань у тварин. Захворюваність телят на пневмоентерити становила 38,0 %, захворюваність корів на різні форми маститів — 48,2 %, ендометрити — 76,2 %. Від хворих тварин ізолювали збудників ешерихіозу (*Escherichia coli*), стафілококозу (*Staphylococcus aureus*), анаеробної ентеротоксемії (*Clostridium perfringens*) та ряд умовно-патогенних мікроорганізмів, які приймали участь в ускладненні асоційованого перебігу захворювань (табл. 1).

Таблиця 1 — Захворюваність тварин до вакцинації та етіологічний спектр збудників

Наявність захворювань	Захворюваність, %	Етіологічний спектр збудників, ізольованих від хворих тварин
Пневмоентерити у телят	38,0	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> (тип A), <i>Proteus mirabilis</i>
Захворюваність корів на різні форми маститів	48,2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Citrobacter freundii</i>
Захворюваність корів на різні форми ендометритів	52,4	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> (тип A), <i>Proteus mirabilis</i>

Для визначення засобів для етіотропної терапії провели дослідження з визначення чутливості виділених мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Установлено, що виділені збудники мають полірезистентність, зокрема є нечутливими до препаратів пеніцилінового ряду, аміноглікозидів, макролідів, амфеніколів, лінкозамідів, цефалоспоринових та навіть деяких фторхінолонів (табл. 2).

Таблиця 2 — Результати визначення антибіотикочутливості культур мікроорганізмів, виділених від тварин

Антибіотики	Вид мікроорганізмів			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
Препарати пеніцилінового ряду				
Амоксицилін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Ампіцилін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Бензилпеніцилін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Амоксиклав	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Цефалоспоринові				
Цефазолін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Цефотаксим	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Чутливі
Цефтазидим	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Цефалексин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Тетрацикліни				
Тетрациклін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Доксициклін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Окситетрациклін	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Макроліди				
Еритроміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Азитроміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Тілозин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Хінолони				
Левовфлоксацин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Енрофлоксацин	Чутливі	Помірно стійкі	Помірно стійкі	Чутливі
Ципрофлоксацин	Чутливі	Помірно стійкі	Помірно стійкі	Чутливі
Гатифлоксацин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Офлоксацин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Чутливі
Норфлоксацин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Помірно стійкі
Аміноглікозиди				
Гентаміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Канаміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Неоміцин	Резистентні	Резистентні	Помірно стійкі	Резистентні
Амікацин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Амфеніколи				
Хлорамфенікол	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Лінкозаміди				
Лінкоміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Кліндаміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Інші				
Фосфоміцин	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні
Колистин	Чутливі	Помірно стійкі	Резистентні	Резистентні
Фуразолідон	Резистентні	Резистентні	Резистентні	Резистентні

Крім того, було визначено активність пробіотичних культур роду *Bacillus* і *Lactobacillus* до виділених збудників. Активність визначали за показником антагоністичної активності та ступенем адгезії. Антагоністична активність за рівнем зони затримки росту була найбільш

вираженою у пробіотичних культур роду *Bacillus* і становила від $9,9 \pm 1,2$ до $13,5 \pm 0,9$ мм. Адгезивна активність була більш вираженою у пробіотичних культур роду *Lactobacillus* і становила від $6,4 \pm 0,6$ до $8,9 \pm 0,4$ (табл. 3).

Таблиця 3 — Активність пробіотичних штамів щодо виділених патогенних мікроорганізмів

Епізоотичні культури	Найменування пробіотичних штамів			
	<i>Bacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>	
	Середній показник адгезії	Антагоністичні властивості, зона затримки росту, мм	Середній показник адгезії	Антагоністичні властивості, зона затримки росту, мм
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3,9 \pm 0,5$	$14,5 \pm 0,9$	$8,9 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,5$
<i>Escherichia coli</i>	$4,9 \pm 1,0$	$10,5 \pm 0,7$	$8,2 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,5$
<i>Proteus mirabilis</i>	$2,9 \pm 0,7$	$9,9 \pm 1,2$	$6,4 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,2$

Таким чином, встановлено, що для хворих тварин та у разі спалаху захворювань краще застосовувати пробіотичні препарати, які містять у своєму складі штами роду *Bacillus*. У зв'язку з тим, що штами роду *Bacillus* мають більш виражену антагоністичну активність та будуть сприяти витісненню патогенної мікрофлори з організму хворих тварин. Крім того, вони мають більш транзитарну функцію, а саме не є представниками постійної мікрофлори та виводяться з організму. Парабіотичні культури роду *Lactobacillus* мають більш виражені адгезивні властивості та їх було рекомендовано використовувати для профілактики бактеріальних захворювань та після антибіотикотерапії.

Таким чином, безсумнівно антибактеріальні та пробіотичні препарати потрібно обирати з урахуванням епізоотичної ситуації, рівням захворюваності тварин і даних лабораторних досліджень щодо чутливості патогенів до них.

У зв'язку з тим, що у господарстві мала місце висока резистентність патогенної мікрофлори, яка спричиняє захворювання, лікування тварин було неефективним, а етіотропну терапію було важко підібрати. За таких обставин було прийняте рішення розподілити корів на групи та випробувати ефективність вакцинації. Для випробування було використано інактивовану вакцину, розроблену співробітниками ННЦ «ІЕКВМ» для профілактики економічно-значимих асоційованих бактеріальних хвороб рогатої худоби. До складу вакцини входять інактивовані епізоотично-актуальні штами *E. coli* (Att25+F41), *Staphylococcus aureus* № 44, *Streptococcus agalactiae* (B), *Streptococcus pyogenes* № 3, *Streptococcus pneumoniae* № 2, *Enterococcus faecalis* № 1 та *Salmonella Enteritidis* Аск 39.

Першій групі корів вакцину вводили одноразово за 30–45 діб до отелення. У цій групі було 90 тварин. Другій групі вакцину вводили дворазово. Перше щеплення проводили за 30–60 діб, друге за 15–30 діб до отелення. У даній групі було 110 тварин. Третя група тварин була контрольною (табл. 4).

Таблиця 4 — Вплив вакцинації на захворюваність великої рогатої худоби

Показники	Група тварин						Різниця між показниками дослідної та контрольних груп	
	I (n = 90)		II (n = 110)		III (n = 120)			
							I	II
	гол.	%	гол.	%	гол.	%	%	%
Затримка посліду	23	25	8	7,3	49	40	15	32,7
Різні форми маститів	24	27	19	17	51	42	15	25
Ендометрити	17	19	7	6	43	36	17	30
Респіраторні та шлунково-кишкові хвороби телят	28	30	11	10	36	30	0	20
Втрата продуктивності, неплідність та неефективність лікування захворювання репродуктивних органів	–	–	1	1	1	1	–	–

Вакцинація сприяла зниженню захворюваності тварин ($p \leq 0,01$). У першій групі тварин, яким вакцину вводили однократно за 30–45 діб до отелення, захворюваність корів була нижчою, ніж у контрольній групі, зокрема на мастити — на 15 %, затримку посліду — на 15 %, на ендометрити — на 17 %. Захворюваність телят на респіраторні та шлунково-кишкові хвороби між I групою тварин та контролем не мало суттєвих відмінностей.

У другій дослідній групі корів, яким вакцину вводили дворазово захворюваність корів на мастити була нижчою на 25 %, на затримку посліду — на 32,7 %, на ендометрити — на 30 %, ніж у контрольній групі тварин. Захворюваність телят на респіраторні та шлунково-кишкові хвороби була на 20 % нижчою порівняно до контролю.

У той час захворюваність тварин в контрольній групі залишилася стабільно високою для даного господарства, як перед дослідями.

Крім того, визначали вплив вакцинації на ступень обсіменіння молока в групах тварин (табл. 5).

Таблиця 5 — Вплив вакцини на ступень обсіменіння молока в групах тварин

Група тварин	Кількість МАФАМ, тис. КУО/см ³
I — вакциновані однократно до отелення	17,4 ± 1,3
II — вакциновані двократно до отелення	14,4 ± 2,2
III — вакциновані двократно до отелення та через 10–15 діб після отелення	10,4 ± 1,3
IV — контрольна	28,7 ± 5,5

Установлено, що в групі тварин, яким проводили вакцинацію однократно загальна кількість мікроорганізмів становила 17,4 ± 1,3 тис. КУО/см³. У групі тварин, яким проводили вакцинацію дворазово загальна кількість мікроорганізмів становила 14,4 ± 2,2 тис. КУО/см³. У групі контрольних тварин загальна кількість мікроорганізмів становила 28,7 ± 5,5 тис. КУО/см³. Було сформована ще дослідну групу з 10 корів, яким вакцину вводили третій раз (через 10–15 діб після отелення). У даній групі тварин кількість мікроорганізмів становила 10,4 ± 1,3 тис. КУО/см³. Таким чином, можна зазначити, що в групі вакцинованих тварин кількість мікроорганізмів є достовірно нижчою ($p < 0,01$), ніж в групі контрольних невакцинованих тварин. Найвищі показники якості молока за показником загального бактеріального обсіменіння були в групі тварин вакцинованих тричі (дворазово до отелення та через 10–15 діб після).

Висновки. 1. У господарстві, обраному для визначення ефективності вакцинації ізолювані збудники мали фактори патогенності та полірезистентність до антибактеріальних препаратів, зокрема до препаратів пеніцилінового ряду, аміноглікозидів, макролідів, амфеніколів, лінкозамідів, цефалоспоринов та деяких фторхінолонів.

2. Під час профілактики захворювання та нормалізації мікрофлори після застосування антибактеріальних препаратів доцільним є застосування пробіотиків на основі лактобацил, оскільки вони мають найвищі показники адгезії (від 6,4 ± 0,6 до 8,9 ± 0,4). Ефективним також буде їх призначення після застосування бацилярних препаратів, які належать до транзитних учасників кишкового мікробіоценозу та мають меншу адгезивну активність (від 2,9 ± 0,7 до 4,9 ± 1,0), ніж лактобактерії.

3. Для лікування хворих тварин та у разі спалаху захворювань краще застосовувати пробіотичні препарати, які містять у своєму складі штами роду *Bacillus*, які мають більш виражену антагоністичну активність (від 9,9 ± 1,2 до 13,5 ± 0,9 мм) та сприятимуть витісненню патогенної мікрофлори з організму хворих тварин.

4. Дослідженнями встановлено, що специфічна профілактика бактеріальних економічно-значимих хвороб є ефективною, захворюваність корів і телят у групах вакцинованих тварин є достовірно ($p \leq 0,01$) нижчою, ніж у групах невакцинованих тварин. За дворазової імунізації корів в об'ємі 10 см³ за 30–60 діб та 15–30 діб до отелення захворюваність корів на мастити в дослідній групі була нижчою на 25 %, на затримку посліду — на 32,7 %, на ендометрити — на 30 %, ніж у контрольній групі тварин.

5. Дворазова вакцинація сухостійних корів забезпечує формування колострального імунітету у телят і знижує на 20 % кількість проявів респіраторних та шлунково-кишкових інфекцій.

6. Вакцинація корів сприяє покращенню якості молока за ступенем обсіменіння молока бактеріальною мікрофлорою.

Список літератури

1. Гадзевич Д. В., Гадзевич О. В. Розповсюдження та біологічні властивості бактеріальних патогенів, що спричиняли економічно значимі захворювання тварин у скотарських господарствах України у 2016 році. *Ветеринарна медицина: міжвідом. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 183–188. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/103/3_42.pdf.
2. Турко І. Б. та ін. Шляхи розповсюдження стрептококової та стафілококової мікрофлори при маститі. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2010. Т. 12, № 2(44), ч. 1. С. 321–325. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2\(1\)_65](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2(1)_65).
3. Ряпосова М. В., Тарасенко М. Н. Этиологические факторы возникновения маститов у молочных коров. *Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве*: сб. матер. международ. науч.-практ. конф. мол. учёных и специалистов (Екатеринбург, 13 марта 2015 г.). Екатеринбург: ООО «Информационно-рекламное агентство Уральской Торговой Компании», 2015. С. 137–140. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23542581>.
4. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Москва: Медицина, 1978. 394 с.
5. Головка А. Н. и др. Микробиологические и вирусологические исследования в ветеринарной медицине: справ. пособие. Харьков: НТМТ, 2007. 512 с.
6. Bergey's Manual of Systematics Bacteriology. 2 ed. New York: Springer, 2005. Vol. 2: The Proteobacteria, pt. B: The Gammaproteobacteria. 1106 pp. DOI: <https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7>.
7. Bergey's Manual of Systematics Bacteriology. 2 ed. New York: Springer, 2009. Vol. 3: The Firmicutes. 1422 pp. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>.
8. Биргер М. О. и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е изд. Москва: Медицина, 1982. 464 с.
9. Ашмарин И. П., Воробьёв А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Государственное издательство медицинской литературы, 1962. 177 с.
10. Закс Л. Статистическое оценивание. Москва: Статистика, 1976. 598 с.

FEASIBILITY AND EFFICIENCY OF PROBIOTICS, ANTIBIOTICS AND VACCINES IN ASSOCIATED BACTERIAL INFECTIOUS DISEASES IN CATTLE

Hadzevych O. V., Hadzevych D. V., Stegnyy B. T.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

*The article presents the results of determining the feasibility and efficiency of the vaccine for the prevention of associated diseases in a farm with a high level of animal morbidity and the circulation of multidrug-resistant pathogens. The incidence of pneumoenteritis in calves was 38.0%, the incidence of various forms of mastitis and endometritis in cows was 48.2% and 76.2%, respectively. The causative agents of escherichiosis (*Escherichia coli*), staphylococcosis (*Staphylococcus aureus*), anaerobic enterotoxemia (*Clostridium perfringens*), and a number of opportunistic pathogens that were involved in complicating the associated course of the disease, were isolated from sick animals. The isolated microflora was resistant to penicillin drugs, aminoglycosides, macrolides, amphenicols, lincosamides, cephalosporins and even to some fluoroquinolones. In addition, it was found that probiotic cultures of the genus *Bacillus* had more pronounced antagonistic activity against isolated pathogens, so it is advisable to use them in disease outbreaks to displace pathogenic microflora from the source of infection. In the prevention of the disease and for normalization of the microflora after the use of antibacterial drugs, it is advisable to use probiotics based on lactobacilli, as they have the highest adhesion (from 6.4 ± 0.6 to 8.9 ± 0.4). Vaccination has contributed to a decrease in animal morbidity. The incidence in vaccinated cows was lower than in the control group, in particular the incidence of mastitis was lower by 15–25%; manure retention — by 15–32.7%, endometritis — by 17–30%. Double vaccination of dry cows provides the formation of colostral immunity in calves and 20% decrease in the incidence of respiratory and gastrointestinal diseases in calves. In addition, vaccination of cows helped to improve the quality of milk by the degree of its contamination with bacterial microflora*

Keywords: *pneumoenteritides, mastitides, endometritides*

УДК 619:616.98-036.22-07:579.852.13.083.1:636.22/28(477)

DOI 10.36016/VM-2020-106-7

ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ ТА ПЕРЕБІГУ КЛОСТРИДІОЗІВ У ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2019 РОЦІ

Дунаєв Ю. К., Гадзевич О. В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: dunaev2975@gmail.com

Дунаєва О. В.

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

Метою роботи було проаналізувати поширення та етіологічну роль клостридій у спричиненні захворювань ВРХ в Україні. Дослідження проведені у 16 скотарських господарствах України впродовж 2019 року з використанням епізоотологічного, клінічного, патологоанатомічного, бактеріологічного та статистичного методів дослідження. Бактеріологічному дослідженню піддавали біологічний матеріал від ВРХ, хворої на респіраторну патологію, ендометрит, мастит, шлунково-кишкові захворювання, з патологією суглобів та копит. Ідентифікацію ізольованих культур здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи». За результатами досліджень було селекційоновано 3 епізоотичні культури *Clostridium perfringens*, вивчено їхні культурально-морфологічні та вірулентні властивості. Клострідії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназну активність, продукували гемолізину, володіли токсигенними властивостями, патогенними для тварин, були виділені у 35,8 % випадків (у 76 зразках біологічного матеріалу). *Clostridium perfringens* було ізольовано від 23 хворих на ендометрит і від 15 хворих на мастит корів, 14 тварин з респіраторною патологією, 20 тварин з патологією шлунково-кишкового тракту та від 4 тварин з патологією суглобів і копит. Виділені збудники клостридіозів були полірезистентними до антибактеріальних препаратів, зокрема до пеніцилінів, тетрациклінів, амфеніколів макролідів, аміноглікозидів та деяких хінолонів. *Clostridium perfringens* найменшу резистентність мала до енрофлоксацину та цефотаксиму. До метронідазолу були резистентними 48,1 % виділених культур, до офлоксацину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину — 59,2 % збудників клостридіозу. Установлено, що збудники клостридіозів є широко розповсюдженими у скотарських господарствах України та мають епізоотичне значення в етіології шлунково-кишкових захворювань. Захворюванню сприяють багато факторів, а вакцинація є не завжди ефективною

Ключові слова: *Clostridium perfringens*, велика рогата худоба, антибіотики

Клострідіози завжди були та залишаються актуальною проблемою як у гуманній, так і у ветеринарній медицині [1–6]. Захворювання часто характеризуються важким перебігом і несприятливим прогнозом. Діагностика утруднена, а засоби специфічної профілактики є не завжди ефективними через наявність великої кількості видів і серотипів клостридій [1, 2]. Бактерії *Clostridium perfringens*, які мають етіологічне значення в інфекційній патології як тварин, так і людей, продукують багато типів токсинів і спричиняють різні за характером прояви захворювань. Клострідії, які синтезують токсини типів А, В, С, D і Е можуть бути як етіологічним фактором токсикоінфекцій у телят, ягнят і поросят, так і збудником інфекційних захворювань, характерних для кожного виду тварин. Токсини *Clostridium perfringens* практично всіх типів можуть спричиняти харчові токсикоінфекції у людей і бути етіологічним чинником бактеріємії. Багато антибіотиків і засобів дезінфекції є природно неефективними проти клостридій, зокрема їхніх спорових форм. Більш того, дані щодо етіологічної ролі клостридій у патології тварин часто є суперечливими [2, 3] у зв'язку з тим, що більшість видів клостридій можуть входити до складу мікробіоценозу кишечника здорових тварин і людей, а звідки потрапляти та акумулюватися у

навколишньому середовищі, кормах, воді та ґрунті [1, 4]. Тому, інфекційні захворювання можуть бути ендogenous характеру, коли несприятливі умови посилюють розмноження та накопичення *Clostridium perfringens* у кишечнику. Наприклад, у результаті порушення гігієни годівлі (неповноцінному та раптовому зміні раціону) або умов утримання тварин, у разі використання кормів, контамінованих *Clostridium perfringens*, застосуванні антибактеріальних препаратів до яких збудники захворювань є нечутливими [1, 5].

Таким чином, **метою** нашої роботи було проаналізувати розповсюдження та етіологічну роль клостридій у спричиненні захворювань ВРХ.

Матеріали та методи. Використовували епізоотологічний, клінічні, патологоанатомічні, бактеріологічні та статистичний методи дослідження [6–10]. Дослідження проводили у 16 скотарських господарствах України. Бактеріологічному дослідженню піддавали біологічний матеріал від ВРХ, хворої на респіраторну патологію ($n = 33$), ендометрит ($n = 49$), мастит ($n = 86$), шлунково-кишкові захворювання ($n = 28$), з патологією суглобів і копит ($n = 16$). Для ізоляції клостридій робили посіви з серця, печінки, кісткового мозку, кишечника полеглих телят, з ексудату з піхви та молока від хворих корів. Для ізоляції чистої культури робили багаторазні пересіви культур з використанням середовища Кіта-Тароци, Вільсон-Блера та селективних середовищ для виділення клостридій виробництва фірми «HiMedia» (Індія). Чашки Петрі та пробірки з посівами інкубували в анаеробних умовах за температури $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ від 24 до 72 год. З виділених мікроорганізмів робили мазки, фарбували за Грамом і мікроскопіювали. Характерні колонії, що виростили на селективному середовищі для виділення клостридій, відсівали на середовища Кіта-Тароци. У подальшому, для отримання чистої культури *Cl. perfringens* використовували метод багаторазових пересівів з використанням середовища Кіта-Тароци (упродовж декількох пасажів проводили 2–3 пересіви). В отриманих таким чином чистих культур клостридій вивчали цукролітичні, протеолітичні та вірулентні властивості. Біохімічні властивості *Cl. perfringens* вивчали на середовищах Гіса з відповідними цукрами та 0,02 %-ю амінокислотою цистеїну. Ідентифікацію ізольованих культур здійснювали за тестами, що рекомендовані у «Визначнику бактерій Берджи» [8]. Патогенні властивості визначали на морських свинках, яким підшкірно вводили $0,5\text{ см}^3$ 24-годинної бульйонної культури *Cl. perfringens* з концентрацією 1×10^6 м. т. Якщо культура була патогенною, то впродовж 5 діб спостерігали загибель тварин з ознаками інтоксикації та сепсису. З паренхіматозних органів від загиблих тварин робили посіви та виділення *Cl. perfringens*. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 7.0 [9, 10].

Результати досліджень. Клостридії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназну активність, продукували гемолізину, мали токсигенні властивості, патогенні для тварин були виділені в 76 зразках біологічного матеріалу (35,8 % випадках). *Cl. perfringens* було ізольовано від 23 хворих на ендометрит (46,9 % випадках) та від 15 хворих на мастит корів (17,4 %), 14 тварин з респіраторною патологією (42,4 %), 20 тварин з патологією шлунково-кишкового тракту (71,4 %) та від 4 тварин з патологією суглобів та копит (25,0 %) (рис.).

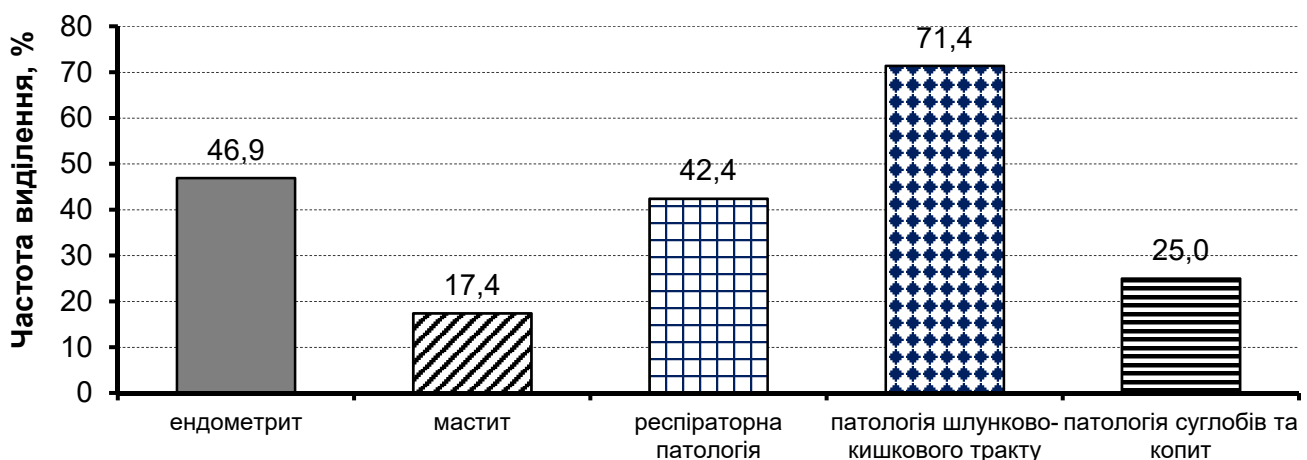


Рис. Частота виділення *Cl. perfringens* з біологічного матеріалу від ВРХ ($n = 212$).

Високий рівень захворюваності телят і корів у господарствах співпадав з порушенням ветеринарно-санітарних вимог утримання тварин (7 господарств, 43,7 % випадків), відсутністю системного підходу до лікування тварин (10 господарств, 62,5 % випадків), використанням неякісних кормів для відгодівлі (6 господарств, 37,5% випадків), наявністю порушення обміну речовин та імунodefіцитів у тварин, зокрема зрушення лужного резерву в бік ацидозу (11 господарств, 68,7% випадків). Три господарства (18,7% з усіх обстежених) були стаціонарно неблагополучними з клостридіозу, характеризувалися високим рівнем захворюваності, бактеріоносійством серед тварин та всіма перерахованими факторами, які сприяли виникненню та поширенню захворювання. Застосування вакцинації у цих господарствах було малоефективним.

Виділені збудники клостридіозів були полірезистентними до антибактеріальних препаратів, зокрема до пеніцилінів, тетрациклінів, амфеніколів макролідів, аміноглікозидів та деяких хінолонів. *Cl. perfringens* найменшу резистентність мала до енрофлоксацину та цефотаксиму. До метронідазолу були резистентними 48,1 % виділених культур, до офлоксацину, ципрофлоксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину — 59,2 % збудників клостридіозу.

За результатами досліджень було селекційоновано 3 епізоотичні культури *Clostridium perfringens*, вивчено їхні культурально-морфологічні та вірулентні властивості (табл.).

Таблиця — Біологічні властивості *Clostridium perfringens*

№	Характеристика показників		Позначення штамів <i>Clostridium perfringens</i>		
			№ 8	T164	№ 13
1	Патогенність для лабораторних тварин		Загибель упродовж 48 год	Загибель упродовж 48 год	Загибель упродовж 48 год
2	Лецитіназа		+	+	+
3	Гемолізину		+	+	+
4	Наявність токсинів		+	+	+
	Альфа-токсин		+	+	Не визначали
	Ентеротоксин		+	+	Не визначали
	Бета-токсин		—	—	Не визначали
5	Утворення кислоти (К) та газу (Г) з	арабінози	—	—	—
6		інозитулу	+(К)	+(К)	—
7		ксилози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
8		цукрози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
9		сорбітолу	+(КГ)	+(КГ)	—
10		мальтози	+(К)	+(К)	+
11		манітолу	—	—	—
12		рамнози	—	—	—
13		глюкози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
14		лактози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
15		манози	+(КГ)	+(КГ)	+(КГ)
16		дульцитулу	—	—	—
17	Проведення молекулярно-генетичного аналізу. Визначення родових та видових ознак, підтвердження наявності токсинів		+	+	—

Висновки. 1. Установлено, що збудники клостридіозів є широко розповсюдженими у скотарських господарствах України та мають етіологічне значення за шлунково-кишкових захворювань (71,4 % від загальної кількості випадків), пневмоній (42,4 %), ендометритів (46,9 %), маститів (17,4 %). Захворюванню сприяють багато факторів, а засоби специфічної профілактики у стаціонарно неблагополучних щодо клостридіозу господарствах є малоефективними.

2. Клостридії, які мали фактори патогенності, зокрема лецитиназну активність, продукували гемолізину, володіли токсигенними властивостями, патогенними для тварин, були виділені у 35,8% випадків (у 76 зразках біологічного матеріалу).

Перспективи подальших досліджень. Так як клостридіози залишаються актуальною проблемою у скотарських господарствах України, виділені культури можна буде використати для подальших наукових досліджень, зокрема для розробки імунобіологічних препаратів. Тому в майбутньому планується вивчити етіопатогенез захворювання та селекціонувати епізоотичну культуру *Clostridium perfringens*, що дасть можливість удосконалити лікувально-профілактичні засоби та заходи боротьби з клостридіозами.

Список літератури

1. Терентьева Т. Е. и др. Видовой спектр бактерий рода *Clostridium*, выделенных от крупного рогатого скота на молочных комплексах. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2016. № 1. С. 5–8. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25506030>.
2. Бусол В. О. та ін. Еволюція патогенності *Clostridium chauvoei*. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18, № 2. С. 24–29. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvlvet6606>.
3. Savva C. G. et al. The pore structure of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. *Nature Communications*. 2019. Vol. 10, No. 1. P. 2641. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10645-8>.
4. Rumah K. R. et al. The myelin and lymphocyte protein MAL is required for binding and activity of *Clostridium perfringens* ϵ -toxin. *PLoS Pathogens*. 2015. Vol. 11, No. 5. P. e1004896. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004896>.
5. Wagley S. et al. Evidence of *Clostridium perfringens* epsilon toxin associated with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 2019. Vol. 25, No. 5. P. 653–660. DOI: <https://doi.org/10.1177/1352458518767327>.
6. Головка А. Н. и др. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справ. пособие. Харьков: HTMT, 2007. 512 с.
7. Биргер М. О. и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е изд. Москва: Медицина, 1982. 464 с.
8. Rainey F. A., Hollen B. J., Small A. Genus I. *Clostridium* Prazmowski 1880. In: *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology*. 2 ed. New York: Springer, 2009. Vol. 3: The Firmicutes. P. 738–828. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>.
9. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Государственное издательство медицинской литературы, 1962. 177 с.
10. Закс Л. Статистическое оценивание. Москва: Статистика, 1976. 598 с.

FEATURES OF THE SPREAD AND COURSE OF CLOSTRIDIOSES IN LIVESTOCK FARMS OF UKRAINE IN 2019

Dunaiev Yu. K., Hadzevych O. V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Dunaieva O. V.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

The aim of the study was to analyze the prevalence and etiological role of clostridia in causing cattle diseases in Ukraine. The research was conducted in 16 livestock farms of Ukraine during 2019 using epizootological, clinical, pathological, bacteriological, and statistical research methods. Bacteriological examination was performed on biological material from cattle with respiratory pathology, endometritis, mastitis, gastrointestinal diseases, with pathology of joints and hooves. Identification of isolated cultures was performed by the tests recommended in the "Bergey's Manual of Systematics Bacteriology". According to the research results, 3 epizootic cultures of *Clostridium perfringens* were selected, their cultural-morphological and virulent properties were studied. Clostridia, which had pathogenic factors, in particular lecithinase activity, produced hemolysins, had toxigenic properties, pathogenic for animals, were isolated in 35.8% of cases in 76 samples of biological material. *Clostridium perfringens* was isolated from 23 animals with endometritis and 15 animals with mastitis in cows, 14 animals with respiratory pathology, 20 animals with gastrointestinal pathology and from 4 animals with joint and hoof pathology. The isolated pathogens of clostridiosis were polyresistant to antibacterial drugs, in particular to penicillins, tetracyclines, amphenicols, macrolides, aminoglycosides and some quinolones. *Clostridium perfringens* had the lowest resistance to enrofloxacin and cefotaxime. 48.1% of isolated cultures were resistant to metronidazole, and 59.2% of clostridiosis pathogens were resistant to ofloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, and levofloxacin. It has been established that the causative agents of clostridiosis are widespread in livestock farms of Ukraine and have epizootic significance in the etiology of gastrointestinal diseases. Many factors contribute to the disease, and vaccination is not always effective

Keywords: *Clostridium perfringens*, cattle, antibiotics

УДК 619:616.98:578:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2020-106-8

ПРОБЛЕМА ВІРУСНИХ ПНЕВМОЕНТЕРИТІВ У СКОТАРСТВІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Перфілова С. І., Олешко А. Ю., Герілович А. П.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: sonyasumc@gmail.com

У статті зведено дані щодо аналізу епізоотологічних, серологічних і вірусологічних досліджень щодо пневмоентеритів великої рогатої худоби в Україні та у світі. Наведено доцільні програми діагностики, боротьби з вірусними пневмоентеритами, а також статеві, вікові, породні особливості перебігу. Аналіз результатів досліджень дозволяє визначити основні особливості розвитку та перебігу пневмоентеритів у сучасних умовах ведення скотарства та визначити етіологічно важливі на цей час асоціації збудників пневмоентеритів. На даний час питання вірусних пневмоентеритів та їх асоціацій залишається відкритим і потребує подальшого епізоотологічного, серологічного та вірусологічного моніторингу. Впровадження вакцинопрофілактики, як батьківського стада, так і молодняку, на державному рівні в країнах неблагополучних щодо вірусних пневмоентеритів великої рогатої худоби значно знижує рівень захворюваності. Доцільно проводити вакцинопрофілактику за допомогою інактивованих та атенуованих вакцин. Оскільки віруси пневмоентеритів стійкі в навколишньому середовищі, необхідно регулярно проводити дезінфекцію скотарських приміщень

Ключові слова: інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея, парагрип-3

Метою досліджень є узагальнення сучасних даних щодо вірусних пневмоентеритів ВРХ та їх асоціацій, профілактики, діагностики та лікування в сучасних умовах ведення скотарства, визначення оптимальних мір для зниження рівня захворюваності серед поголів'я, зокрема молодняку. Визначення впливу екологічних і технологічних факторів утримання тварин.

Численні дослідження вітчизняних і зарубіжних науковців доводять важливість вірусних пневмоентеритів з-поміж інших економічно значимих інфекційних захворювань, що спричиняють зниження продуктивності поголів'я та репродуктивної функції ВРХ [13–15]. Так Barrett D. et al. зазначають, що економічні збитки проявляються не лише через недоотриману продукцію та молодняку, а й через обмеження на експорт або імпорт ремонтного поголів'я великої рогатої худоби [16]. Провідну роль в етіології пневмоентеритів ВРХ відіграють збудники інфекційного ринотрахеїту (ІРТ), вірусної діареї (ВД), парагрипу-3 (ПГ-3), респіраторно-синцитіальної інфекції (РСІ), аденовірусної інфекції ВРХ, рота- та коронавірусної інфекції [5–10]. Особливе місце в інфекційній патології як батьківського поголів'я, так і молодняку великої рогатої худоби займають ІРТ, ВД та ПГ-3.

Ринотрахеїт ВРХ реєструють в усіх країнах Північної та Південної Америки, Заїрі, Італії, Бельгії, Індії, Туреччині. Нової Зеландії, Австралії, Південній Кореї, також у країнах Європи (Португалії, Іспанії, Франції, Німеччині, Польщі, Великобританії, Ірландії). Поодинокі випадки виявляють у Мексиці, Китаї та Індонезії. Повідомлення про виявлення ІРТ відсутні у ряді країн Європи, а саме: Норвегії, Швеції, Фінляндії, Греції та Болгарії (рис. 1).

Вірусну діарею ВРХ реєструють у країнах Північної та Південної Америки, Австралії, Нової Зеландії, Індонезії та ряду країн Європи, а саме: Португалії, Іспанії, Франції, Великобританії, Польщі, Нідерландів, Литви, Латвії, Сербії та Словаччини. Поодинокі випадки реєструються в Білорусі, Росії та Казахстані (рис. 2).

Дані, щодо парагрипу-3 та РСІ, корона- і рота вірусних інфекцій у базі даних МЕБ відсутні, проте трапляються поодинокі повідомлення закордонних учених [19, 20], в яких вказується на важливість вищевказаних вірусних агентів у розвитку вірусних пневмоентеритів серед поголів'я ВРХ.

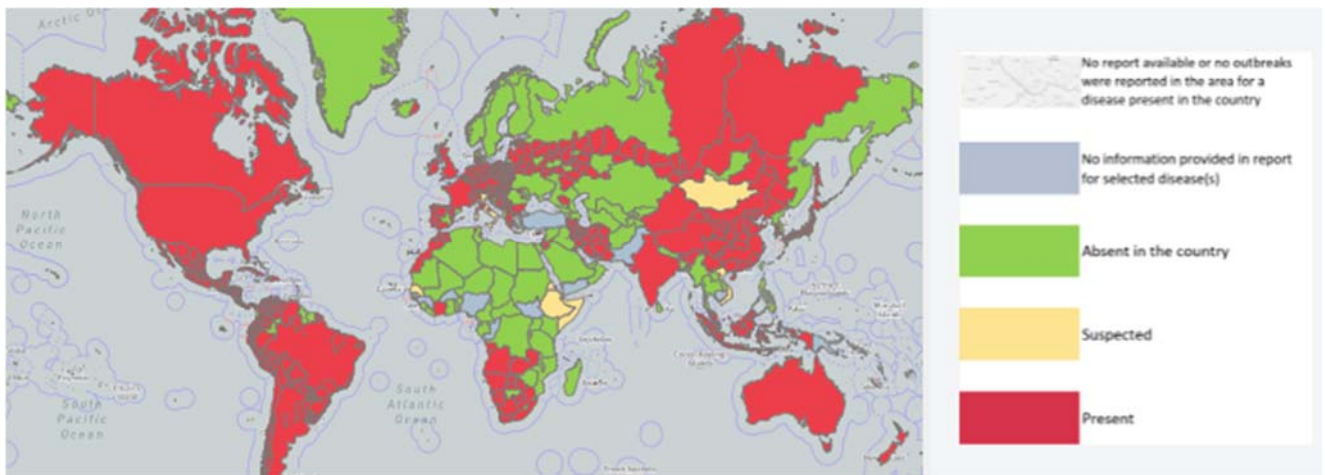


Рис. 1. Поширення інфекційного ринотрахеїту ВРХ в світі.



Рис. 2. Поширення вірусної діареї ВРХ в світі.

Збудником **інфекційного ринотрахеїту** є дволанцюговий ДНК-вмісний герпесвірус першого типу з розміром віріонів 135–140 нм, що належить до родини Herpesviridae і, у першу чергу, асоціюється з клінічними синдромами, такими як ринотрахеїт, пустульозний вульвовагініт та баланопостит, аборт, безпліддя, кон'юнктивіт та енцефаліт у великої рогатої худоби [19].

Перше зараження інфекційним ринотрахеїтом 1-го типу було зафіксовано у формі захворювання статевих органів як інфекційний пустульозний вульвовагініт (ІПВ) у великої рогатої худоби в 1841 році Бюхнером у Німеччині [25]. Вірусна асоціація з цією хворобою була продемонстрована в 1928 р. Reisinger, Reimann та ін. [21]. У 1940 р. Ф. М. Пономаренко вперше описав респіраторні прояви хвороби в Україні під назвою «заразний катар верхніх дихальних шляхів». У наступні десятиліття ця форма хвороби набула значного поширення серед молодняку великої рогатої худоби в багатьох країнах з розвиненим промисловим скотарством. У 1950-х роках у Північній Америці спостерігали масову появу респіраторної форми захворювання. У 1958 році вірус уперше було успішно виділено та встановлено його видову належність, і за пропозицією МакКерчера в 1955 році захворювання класифіковано як «інфекційний ринотрахеїт». Пізніше цей вірусний агент був віднесений до родини Herpesviridae.

Вірус є стійким до впливу навколишнього середовища. Інактивація його в навколишньому середовищі залежить від таких факторів, як температура, рН, світло та вологість. За температури 4 °C вірус є стабільним протягом 1 місяця. За температури 56 °C інактивується протягом 21 хв, 37 °C — 10 діб, 22 °C — 50 діб. Вірус може зберігатися понад 30 діб у кормі. Є надзвичайно чутливим до органічних розчинників, таких як хлороформ, ефір або ацетон. Легко інактивується дезінфікуючими засобами: 0,5 %-м NaOH, 1 %-м хлорним вапном, 1 %-ми фенольними похідними, 1 %-ми четвертинними амонійними основами та 10 %-м йодом Люголя. Формалін у вигляді 5 %-го розчину інактивує вірус протягом 1 хв [29].

У першу чергу IPT уражує ВРХ, але кози, вівці, верблюди та інші тварини є сприйнятливими до захворювання.

Основними факторами передачі збудника є носові екsudати та дихальні краплі, генітальний секрет, сперма, рідини та тканини плоду. Повітряна передача може відбуватися в експериментальних умовах на відстані 3,85 м [20]. Перебіг IPT може стати латентним після первинного зараження польовим ізолятом або вакцинації атенуйованим штамом. Як наслідок, відбувається безсимптомна циркуляція збудника у стаді з проявами імуносупресивного синдрому у ВРХ [12, 23, 24]. Персистенція в організмі дорослих тварин призводить до зниження стійкості до стресів, збільшення конверсії корму, зниження репродуктивних показників [11], що, у свою чергу, призводить до зростання чисельності захворюлих і загиблих телят.

Завдяки доступним на сьогодні діагностичним тестам можливо ідентифікувати тварин, які мають приховану інфекцію [8]. Тому найкращою стратегією є використання добре спланованої програми вакцинації. Доступні різні типи вакцин, а саме атенуйовані живі вірусні, інактивовані, рекомбінантні, полівалентні та маркерні.

Атенуйовані живі вакцини — це вакцини, що виробляються з патогенів збудників певних захворювань, що ослаблені в лабораторних умовах. Атенуйовані живі вакцини існують двох типів: парентеральні та інтраназальні, вони виготовляються зі сприйнятливих культур клітин, інфікованих вірусом інфекційного ринотрахеїту першого типу [12]. Вакцини спричиняють швидку імунну відповідь, що супроводжується відносно тривалим місцевим імунітетом слизової оболонки [28]. Як парентеральні, так і інтраназальні вакцини стимулюють утворення гуморальних антитіл. Інтраназальна вакцина стимулює вироблення місцевого інтерферону та місцевих антитіл у слизовій оболонці носа і є безпечною для використання у вагітних корів. Крім того, інтраназальна вакцина є високоефективним засобом у профілактиці абортів. Інтраназальні вакцини забезпечують захист від респіраторної форми вже через 72 год після щеплення.

Інактивовані вакцини мають деякі переваги перед атенуйованими вакцинами, оскільки вони не спричиняють абортів та імуносупресії. Однак вони не повністю захищають від впливу польових штамів. Зазвичай вводять дві дози з інтервалом 10–14 діб, а захист спостерігають через 7–10 діб після імунізації другою дозою [31]. Інактивовані вакцини не так ефективні, як вищевказані вакцини через можливе руйнування деяких захисних антигенів під час процесу інактивації. Для поліпшення ефективності завжди додають ад'ювант [27].

Рекомбінантні вакцини містять один або кілька антигенів вірусу, необхідних для утворення імунної відповіді, і не містять нуклеїнової кислоти та інших компонентів, які можуть спричинити небажані побічні ефекти [25]. У герпесвірусу першого типу глікопротеїни gB, gC та gD є імуногенними та відокремлюються від заражених вірусом клітин, або синтезується пептид. Рівень імунітету від експериментально створених вакцин набагато вищий, ніж імунізованих комерційно доступною інактивованою вакциною [12].

Маркерні вакцини засновані на видаленні одного або декількох вірусних білків, що дозволяє розрізнити вакцинованих та природних інфікованих тварин на основі відповідних відповідей антитіл [26]. Антитіла проти маркерної вакцини виявляються у молоці через 2–3 тижні та зберігаються в організмі від 2–3 років до всього життя.

Комбіновані вакцини використовують для контролю змішаних інфекцій. Ці вакцини містять інші респіраторні патогени, такі як вірус парагрипу третього типу (ПГ-3), вірус респіраторно-синцитіальної інфекції ВРХ (РСІ) та вірус вірусної діареї великої рогатої худоби (ВД ВРХ). Іноді полівалентні вакцини також містять компоненти проти лептоспірозу, кампілобактеріозу та ін.

Збудником *вірусної діареї* є РНК-геномний вірус, що належить до роду *Pestivirus* родини *Togaviridae* й уражує переважно молодих тварин. Віріони мають сферичну форму, діаметром 30–40 нм, ікосаедральний нуклеокапсид, вкриті зовнішньою ліпопротеїновою оболонкою [16].

Захворювання вперше було зареєстровано у 1946 році [39] у США під назвою «хвороба слизових оболонок великої рогатої худоби». Згодом було встановлено ідентичність цієї хвороби й вірусної діареї, визначено відмінності в клінічному прояві залежно від переважання респіраторного чи діарейного синдрому. У 1961 році Гіллеспі виділив та ідентифікував збудника хвороби — вірус діареї ВРХ штам Орегон С-24. Захворювання є поширеним у багатьох країнах Європи, Америки, Африки та Австралії (рис. 2). В Україні захворювання вперше було встановлене в 1965 році. Вітчизняними дослідниками (Кучерявенко А. А., 1976) розроблено

оригінальний метод виготовлення специфічного преципітувального антигена для РДП і ретроспективної діагностики вірусної діареї.

Віріони збудника ВД містяться майже в усіх органах і тканинах хворих тварин, однак у високій концентрації знаходиться лише в слизових оболонках кишок, верхніх дихальних шляхів, ендотелії кровоносних судин. Епізоотичні штами вірусу різняться між собою за вірулентними властивостями, тропізмом і цитопатогенним ефектом, проте ідентичні в антигенному відношенні.

Вірус діареї репродукується в первинних культурах клітин нирок, легень або селезінки ембріона корови, тестикул телят, перещеплюваних культурах селезінки ембріона корови, макрофагах і лімфоцитах.

Симптоми проявляються лихоманкою, ерозивно-виразковим запаленням слизових оболонок травного каналу, профузною кривавою діареєю, ураженням органів дихання, кон'юнктивітом і ринітом. Як зазначають у своїх дослідженнях Khodakaram-Tafti та Farjanikish у тільних корів вірус, проникаючи через плаценту, призводить до абортів або народження персистентно інфікованих телят [17].

Вірус є стійким у зовнішньому середовищі: у крові, лімфовузлах, селезінці та іншому патологічному матеріалі за температури 4 °С зберігається до 6 міс., мінус 30–70 °С — кілька років. У культуральній рідині за температури мінус 15 °С вірус зберігає активність до 1 року. Добре витримує повторне заморожування й відтавання. За температури 37 °С інактивується через 5 діб, 56 °С — через 1 год, 100 °С — миттєво. Швидко руйнується за рН = 3.

Лабораторну діагностику проводять з метою визначення вірусного антигена в патологічному матеріалі (мазках або відбитках) від хворих тварин за допомогою реакції імунофлюоресценції, ізоляцію збудника з патологічного матеріалу — у первинній культурі клітин нирок, легень або селезінки ембріона корови, тестикул телят з подальшою ідентифікацією вірусу за допомогою РН, РІФ, РДП, РЗК, ПЛР та ІФА. Виявлення специфічних антитіл у сироватках крові перехворілих тварин (ретроспективна діагностика) здійснюють за допомогою РН, РЗК та ELISA.

Профілактика та заходи боротьби базуються на запобіганні занесення збудника хвороби до тваринницького господарства. Комплектація стада проводиться молодняком лише з благополучних ферм, а тварин, які надходять, треба витримувати на карантині впродовж 30 діб. У репродуктивних господарствах забезпечують повноцінну годівлю та своєчасний запуск корів, а також випоювання молозива новонародженим телятам не пізніше ніж через 1–2 год після народження. У разі гострого спалаху вірусної діареї в раніше благополучних господарствах хворих тварин негайно забивають, приміщення, місця утримання тварин, знаряддя догляду за ними ретельно дезінфікують [11]. Здорових тварин утримують ізольовано під постійним ветеринарним наглядом, імунізують інактивованими вакцинами. У господарстві запроваджують жорсткі обмежувальні заходи, забороняють ввезення в господарство (на ферму) та вивезення з нього тварин в інші господарства, перегруповання тварин, а також відвідування неблагополучних приміщень сторонніми особами. Дозволяється вивозити на спеціально обладнаному транспорті тварин лише для забою на м'ясокомбінат. У разі виникнення хвороби в стаціонарно неблагополучному господарстві хворих тварин ізолюють і лікують. Решту умовно здорових тварин імунізують живими вакцинами. Труп тварин піддають утилізації. Проводять повний комплекс ветеринарно-санітарних заходів, спрямованих на запобігання поширенню збудника хвороби, у тому числі дезінфекцію приміщень, прилеглої території, станків, предметів догляду, обладнання і транспортних засобів.

У цілому вакцини проти ВД поділяються на атенуйовані, інактивовані, рекомбінантні, маркерні та полівалентні. Hamers (2002) і Patel (2005) зазначають значний титр нейтралізуючих антитіл до європейських і північноамериканських ізолятів, що вводили у складі атенуйованих чи інактивованих вакцин [30]. Атенуйовані живі вакцини, в цілому, дають кращу імунну відповідь ніж інактивовані, однак живі вакцини здатні спричинити трансплацентарну інфекцію у вагітних тварин, якщо некоректно вводяться [32].

Також було доведено здатність польових штамів спричиняти імуносупресивний стан [33]. Інактивовані вакцини безпечніші у використанні, але вимагають суворої програми імунізації з метою забезпечення належного захисту. Основна мета вакцинації проти ВД полягає у попередженні трансплацентарної інфекції і, як наслідок, появи інфікованого поголів'я [34]. У

країни, де є вірулентні штами, профілактика постнатальних інфекцій також викликає занепокоєння оскільки клінічні прояви можуть бути важкими. Існує проблема з їх здатністю запобігання постнатальному зараженню [35].

Ускладнюючим фактором є те, що на даний час немає доступних вакцин проти вірусної діареї, які дозволяють провести чітку диференціацію між польовими штамми та вакцинними [36]. Отже вакцинація знижує здатність використовувати серологію для діагностичних цілей, включаючи дешеві та швидкі доступні тести. Інтерпретація серологічної картини у вакцинованих стадах складна, оскільки вони різняться залежно від типів вакцин і програми імунізації, що використовуються [37]. Ще одна проблема полягає в тому, яким чином вакцини проти ВД використовуються в промислових умовах. На перший погляд незначні людські помилки, як, наприклад, невдале щеплення однієї або двох тварин, достатні для встановлення нового стійкого штаму, якщо в стаді є тварини з персистентною інфекцією. Тому контроль вірусної діареї та усвідомлення того, що біозахист — це головний пріоритет, який завжди повинен бути високим, незалежно від того, проводиться вакцинація чи ні. Engel та Wierup [38] у своїх дослідженнях вказують, що вакцинація може дати помилкове відчуття безпеки і, отже, сприяти ризикованій поведінці власників худоби. Ризикова поведінка щодо ВД є, наприклад, придбання неперевіреної худоби або використання звичайних пасовищ, не знаючи статусу інших стад суміжних пасовищ. Однак потрібно визнати, що біозахист разом із вакцинацією є важливою складовою захисту поголів'я великої рогатої худоби. Схеми подолання ВД мають бути засновані на регулярному відборі проб та їх тестуванні, з подальшою вакцинацією, яка може бути корисним інструментом для подолання циркуляції інфекційного агента в інфікованих стадах.

Діагностика вірусної діареї може бути покращена розробкою і впровадженням у промисловість ефективної і безпечної маркерної вакцини, це сприятиме контролю та викоріненню вірусної діареї в усьому світі.

Збудник **парагрипу-3** — РНК-геномний вірус, що належить до роду *Paramyxovirus* родини *Paramyxoviridae*. Віріони поліморфні, мають сферичну форму, діаметр 120–250 нм, спіральний нуклеокапсид, 6 структурних білків, вкриті зовнішньою ліпопротеїновою оболонкою з численними ворсинками на поверхні. Вірус містить фермент нейрамінідазу, гемаглютинін, а також F-фактор, що зумовлює гемоліз і злиття клітин. Високу гемаглютинуючу та гемадсорбну активність вірусу використовують під час установа діагнозу та диференціальної діагностики хвороби [22].

Уперше захворювання описали Скотт і Тарлей у 1932 році. У колишньому Радянському Союзі парагрип-3 досліджували Алі Муса та В. В. Гуненков (1968, 1970), Н. В. Сюріна (1968). В Україні хворобу виявили та вивчили В. І. Стеценко (1975) та Є. В. Андрєєв (1979). Економічні збитки, яких завдає парагрип-3, є досить значними та зумовлюються високою захворюваністю (до 90 %), зниженням приростів маси тварин (на 30–40 %) та летальністю (до 20 %) [21].

Вірус є малостійким до дії різних факторів зовнішнього середовища, ефіру, хлороформу, кислот, лугів, нагрівання, ультрафіолетового випромінювання. За кімнатної температури вірус гине через 2–3 год, 56 °C — через 30–60 хв, 100 °C — миттєво. Швидко руйнується за заморожування та відтавання. Інактивується під дією надвисоких частот через 15 хв, гамма-випромінювання — через 40 хв, електричного поля — через 5 год [22].

Опромінення культурального вірусу силою 2 мВт/см² упродовж 2 год або електричне поле напругою 6 кВ упродовж 4 год стимулюють гемаглютинуючу активність вірусу парагрипу-3 в 2–4 рази. Розчин формальдегіду (1–2 %-й), їдкого натру (0,5 %-й), хлорного вапна (1 %-й) убивають вірус через 5 хв [7]. Вірус добре зберігається в ліофілізованому стані (до 4 років), за температури мінус 60 °C — кілька місяців, 4 °C — до 30 діб [21].

Вірус парагрипу-3 уражує переважно молодняк до 6-місячного віку та проявляється катарально-гнійним ураженням органів дихання, лихоманкою з нападами сухого, хворобливого кашлю та катаральним кон'юнктивітом.

Перебіг хвороби гострий, підгострий та хронічний. За гострого перебігу спостерігається підвищення температури тіла до 41–42 °C, пригнічення, поверхове та прискорене дихання, кашель, серозні виділення з носа, сльозотеча. Виявляється підвищена чутливість у ділянці гортані й трахеї, гіперемія слизової оболонки носової порожнини, пізніше з'являються осередки притуплення та вологі хрипи в легенях. Більшість тварин одужує впродовж 1–2 тижнів. У важких випадках на 3–4-ту доби хвороби виділення стають гнійними, у ротовій порожнині з'являються

виразки та ерозії. Тварини лежать або стоять з витягнутою вперед шиєю, широко розставленими передніми кінцівками, часто перебувають у стані прострації, дуже пригнічені, апетит відсутній [22].

Парагрип-3 необхідно відрізнити від інфекційного ринотрахеїту, аденовірусної інфекції, вірусної діареї, хламідіозів і пастерельозу. Інфекційний ринотрахеїт характеризується більш повільним і поступовим розвитком ензоотії, утворенням пухирцевого висипу й дифтеритичних плівок на слизових оболонках дихальних шляхів і генітальних органів. Остаточний діагноз установлюють за результатами виділення збудника та ідентифікації його за допомогою РН, РІФ, ПЛР та ІФА. Аденовірусну інфекцію діагностують за результатами РЗК, РН, РІФ, РДП, РЗНГА [31]. Вірусна діарея супроводжується ерозійно-виразковим ураженням слизових оболонок травного каналу. Пастерельоз і хламідіоз діагностують за результатами бактеріологічних досліджень (виявлення збудника у патологічному матеріалі).

Остаточний діагноз ПГ-3 проводять з мазків-відбитків секретів дихальних шляхів і тканин загинувших тварин за допомогою РІФ. Гемадсорбуючі віруси, такі як ПГ-3, традиційно діагностувалися шляхом ізоляції в культурі клітин з подальшою діагностикою за допомогою реакції гемадсорбції з еритроцитами морської свинки. Для швидкої діагностики антигенів ПГ-3 можна ідентифікувати в зразках за допомогою РІФ або ІФА. Серологічні тести (РЗГА або РН) часто використовуються в лабораторіях ветеринарної медицини для остаточного підтвердження діагнозу — наявності в пробах вірусу ПГ-3. Оскільки хвороба є повсюдно поширеною у популяції великої рогатої худоби, виділення вірусу не є обов'язковими для діагностики парагрипу-3. Діагноз може бути встановлений за наявністю нейтралізуючих антитіл, які можуть бути кількісно визначені за допомогою РН у заражених культурах клітин MDBK (культура нирки теля).

Боротьбу з парагрипом-3 проводять шляхом превентивного створення імунізованого поголів'я тварин, вакцинованих асоційованими вакцинами. Masset та Meurens досліджують ефективність застосування комбінованої інтраназальної вакцини проти респіраторно-синцитіальної інфекції та парагрипу-3 [38]. В умовах промислових комплексів необхідно дотримуватися санітарно-технологічних норм утримання з дотриманням карантинних норм для новоприбулих тварин.

Успішна боротьба з вірусними пневмоентеритами неможлива без визначення епізоотичної ситуації та оцінки причин поширення. Дослідження вітчизняних і закордонних учених за останні десятиріччя свідчать про значне поширення на території України та в інших країнах вірусних пневмоентеритів і вказують на надзвичайну важливість моніторингу поширення пневмоентеритів та їх асоціацій, необхідність розробки системи контролю та попередження виникнення серед поголів'я ВРХ [1–4].

Для остаточного встановлення етіологічного чинника користуються лабораторними методами діагностики, а саме: ПЛР, ІФА, РНГА, РЗГА. Посмертно від загинувших тварин та абортів плодів досліджують шматочки органів за допомогою РІФ. Під час встановлення діагнозу слід урахувати можливу циркуляцію живих атенуєваних штамів серед поголів'я, які часто входять до комерційних вакцин. У фермерських господарствах часто використовують саме живі атенуєвані полівакцини, тому одночасно з лабораторними результатами слід урахувати анамнестичні дані.

Для боротьби з вірусними пневмоентеритами доцільно ініціювати програму боротьби на державному рівні. Згідно програми необхідно проводити систематичну вакцинацію поголів'я ВРХ з подальшим моніторингом рівня антитіл. З метою попередження завозу з неблагополучних держав обмежити імпорт ВРХ та біологічного матеріалу, який може містити віруси ІРТ та ВД (сперма) [18]. Для держав, вільних від вищезазначених інфекцій, актуально розробити систему моніторингу переносу інфекцій дикими тваринами, а також програму їх вакцинації і попередження контакту з домашніми тваринами.

Висновки. 1. Установлено, що на теперішній час є багато публікацій з приводу досліджень вірусних пневмоентеритів ВРХ та їх асоціацій, але, не дивлячись на це, ця тема залишається актуальною та відкритою через неблагополуччя скотарських господарств на території України та далеко за її межами і потребує подальших досліджень.

2. Для викорінення проблеми вірусних пневмоентеритів слід розробити чітку схему вакцинопрофілактики та забою хворих тварин. Це допоможе знизити кількість латентно інфікованих тварин і подальше поширення вірусних пневмоентеритів.

3. Переважними причинами розповсюдження збудників пневмоентеритів є екологічні та технологічні фактори утримання тварин, що також треба враховувати під час вирішення даного питання.

Список літератури

1. Fulton R. W. Bovine respiratory disease research (1983–2009). *Animal Health Research Reviews*. 2009. Vol. 10, iss. 2. P. 131–139. DOI: <https://doi.org/10.1017/S146625230999017X>.
2. Fulton R. W. et al. Bovine viral diarrhoea virus infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2000. Vol. 64, iss. 3. P. 151–159. PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189606>.
3. Lundborg G. K., Svensson E. C., Oltenacu P. A. Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0–90 days. *Preventive Veterinary Medicine*. 2005. Vol. 68, iss. 2–4. P. 123–143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.11.014>.
4. Miles D. G. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). *Animal Health Research Reviews*. 2009. Vol. 10, iss. 2. P. 101–103. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1466252309990090>.
5. Decaro N. et al. Respiratory disease associated with bovine coronavirus infection in cattle herds in Southern Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2008. Vol. 20, iss. 1. P. 28–32. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870802000105>.
6. Straub O. C. Persistence of infectious bovine rhinotracheitis—infectious pustular vulvovaginitis virus in the respiratory and genital tract of cattle. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1979. Vol. 2, iss. 2–3. P. 285–294. DOI: [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(79\)90016-x](https://doi.org/10.1016/0147-9571(79)90016-x).
7. Андреев Є. В., Білокінь В. С., Кучерявенко О. О. Інфекційний ринотрахеїт–пустульозний вульвовагініт. Київ: Урожай, 1975. 136 с.
8. Прохорятюва О. В. Удосконалення диференційної діагностики змішаних рота-, коронавірусних ентеритів новонароджених телят: автореф. ... канд. вет. наук. Харків, 1996. 23 с.
9. Ackermann M. et al. Round table on infectious bovine rhinotracheitis / infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. *Veterinary Microbiology*. 1990. Vol. 23, iss. 1–4. P. 361–363. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(90\)90167-t](https://doi.org/10.1016/0378-1135(90)90167-t).
10. Baker J. C. Bovine viral diarrhoea virus: a review. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1987. Vol. 190, iss. 11. P. 1449–1458. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3038804>.
11. Прохорятюва О. В. та ін. Визначення основних причин поширення інфекційних пневмоентеритів великої рогатої худоби в сучасних умовах. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 209–213. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/103/3_47.pdf.
12. Nandi S., Kumar M., Manohar M., Chauhan R. S. Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*. 2009. Vol. 10, iss. 1. P. 85–98. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1466252309990028>.
13. Fernandes L. G. et al. Spatial analysis for bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus type 1 infections in the state of Paraíba, northeastern Brazil. *BMC Veterinary Research*. 2018. Vol. 14, iss. 1. P. 102. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1412-5>.
14. Gür S. et al. The role of goats as reservoir hosts for bovine herpes virus 1 under field conditions. *Tropical Animal Health and Production*. 2019. Vol. 51, iss. 4. P. 753–758. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1746-9>.
15. Sanhueza J. M., Heuer C., West D. Contribution of *Leptospira*, *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. *Preventive Veterinary Medicine*. 2013. Vol. 112, iss. 1–2. P. 90–98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.009>.
16. Barrett D. et al. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV), bovine herpes virus 1 (BHV 1), leptospirosis and neosporosis, and associated risk factors in 161 Irish beef herds. *BMC Veterinary Research*. 2018. Vol. 14, iss. 1. P. 8. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1324-9>.
17. Khodakaram-Tafti A., Farjanikish G. H. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2017. Vol. 18, iss. 3. P. 154–163. PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5674437>.
18. Raaperi K., Orro T., Viltrop A. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *Veterinary Journal*. 2014. Vol. 201, iss. 3. P. 249–256. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.040>.
19. Maidana S. S. et al. Characterization of BoHV-5 field strains circulation and report of transient specific subtype of bovine herpesvirus 5 in Argentina. *BMC Veterinary Research*. 2011. Vol. 7. P. 8. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-8>.
20. Wentink G. H., van Oirschot J. T., Verhoeff J. Risk of infection with bovine herpes virus 1 (BHV1): a review. *The Veterinary Quarterly*. 1993. Vol. 15, iss. 1. P. 30–33. DOI: <https://doi.org/10.1080/01652176.1993.9694365>.
21. Паратрип-3 великої рогатої худоби. *Аграрний сектор України. Тваринництво, ветеринарія, інфекційні хвороби* 2002–2012. URL: <http://agroua.net/animals/veterinary/diseases/g1-2/g2-4/d-306>.
22. Сюрин В. Н., Белоусова Р. В., Фомина Н. В. Ветеринарная вирусология. Москва: Агропромиздат, 1991. 431 с.
23. Nandi S. et al. Serological evidence of bovine herpes virus 1 antibodies in cattle and buffaloes from different states of India. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*. 2004. Vol. 25, iss. 2. P. 87–89. URL: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijcmid&volume=25&issue=2&article=004>.
24. Nandi S. et al. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in cattle of an organized farm by indirect ELISA. *The Indian Cow*. 2007. Vol. 4, iss. 13. P. 50–53. URL: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ic&volume=4&issue=13&article=009>.

25. Brunner D. et al. A comparison of three techniques for detecting bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) in naturally and experimentally contaminated bovine semen. *Reproduction in Domestic Animals*. 1988. Vol. 23, iss. 1. P. 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1988.tb00977.x>.
26. Van Oirschot J. T., Kaashoek M. J., Rijsewijk F. A. Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. *Veterinary Microbiology*. 1996. Vol. 53, iss. 1–2. P. 43–54. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(96\)01233-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(96)01233-3).
27. Patel J. R. Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus-1 (BHV-1) vaccines. *Vaccine*. 2005. Vol. 23, iss. 31. P. 4054–4061. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.12.010>.
28. Whetstone C. A., Wheeler J. G., Reed D. E. Investigation of possible vaccine-induced epizootics of infectious bovine rhinotracheitis, using restriction endonuclease analysis of viral DNA. *American Journal of Veterinary Research*. 1986. Vol. 47, iss. 8. P. 1789–1795. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3019192>.
29. Straub O C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. In: Dinter Z., Morein B. (eds). *Virus Infections of Ruminants* (Virus Infections of Vertebrates, Vol. 3). Amsterdam: Elsevier, 1990. P. 71–108. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-87312-5.50020-5>.
30. Hamers C. et al. Virus neutralising antibodies against 22 bovine viral diarrhoea virus isolates in vaccinated calves. *Veterinary Journal*. 2002. Vol. 163, iss. 1. P. 61–67. DOI: <https://doi.org/10.1053/tvjl.2001.0638>.
31. Patel J. R., Didlick S., Quinton, J. Variation in immunogenicity of ruminant pestiviruses as determined by the neutralisation assay. *Veterinary Journal*. 2005. Vol. 169, iss. 3. P. 468–472. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.04.016>.
32. Van Oirschot J. T. Present and future of veterinary viral vaccinology: a review. *The Veterinary Quarterly*. 2001. Vol. 23, iss. 3. P. 100–108. DOI: <https://doi.org/10.1080/01652176.2001.9695094>.
33. Roth J. A., Kaeberle M. L. Suppression of neutrophil and lymphocyte function induced by a vaccinal strain of bovine viral diarrhoea virus with and without the administration of ACTH. *American Journal of Veterinary Research*. 1983. Vol. 44, iss. 12. P. 2366–2372. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6318614>.
34. Van Campen H. et al. A case report: evidence for type 2 bovine viral diarrhoea virus (BVDV)-associated disease in beef herds vaccinated with a modified-live type 1 BVDV vaccine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2000. Vol. 12, iss. 3. P. 263–265. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870001200312>.
35. Wittum T. E. et al. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in US beef herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 2001. Vol. 49, iss. 1–2. P. 83–94. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(01\)00181-7](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(01)00181-7).
36. Van Oirschot J. T. Diva vaccines that reduce virus transmission. *Journal of Biotechnology*. 1999. Vol. 73, iss. 2–3. P. 195–205. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00121-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00121-2).
37. Van Campen H. et al. Distribution of antibody titers to bovine viral diarrhoea virus in infected, exposed, and uninfected beef cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1998. Vol. 10, iss. 2. P. 183–186. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063879801000213>.
38. Masset N. et al. Effectiveness of two intranasal vaccines for the control of bovine respiratory disease in newborn beef calves: a randomized non-inferiority multicentre field trial. *Veterinary Journal*. 2020. Vol. 263. P. 105532. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105532>.
39. Olafson P., MacCallum A. D., Fox F. H. An apparently new transmissible disease of cattle. *The Cornell Veterinarian*. 1946. Vol. 36, iss. 7. P. 205–213. URL: <https://hdl.handle.net/2027/uc1.b4179371?urlappend=%3Bseq=223%3Bownerid=9007199267031320-247>.

THE PROBLEM OF VIRAL PNEUMOENTERITIDES IN ANIMAL HUSBANDRY (LITERATURE REVIEW)

Perfilova S. I., Oleshko A. Yu., Gerilovych A. P.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The paper summarizes the data on the analysis of epidemiological, serological, and virological studies on pneumoenteritides of cattle in Ukraine and the world. Appropriate programs for the diagnosis, control of viral pneumoenteritides are presented. Sexual, age and breed features of the disease course are described. Analysis of research results allows to determine the main features of the development and course of pneumoenteritides in modern conditions of animal husbandry and to determine the etiologically important at this time associations of pneumoenteritides pathogens. Currently, the issue of viral pneumoenteritides and their associations remains open and requires further epidemiological, serological and virological monitoring. Introduction of vaccination of both the parent herd and young animals at the state level in countries with registered cattle viral pneumoenteritides significantly reduces the incidence in cattle. Vaccination with inactivated and attenuated vaccines is advisable. Since pneumoenteritides viruses are persistent in the environment, it is necessary to regularly disinfect livestock facilities

Keywords: *infectious rhinotracheitis, viral diarrhoea, parainfluenza-3*

УДК 619:616.98-036.22-07:579.873.21.083.32:636.22/.28(477)

DOI 10.36016/VM-2020-106-9

ДІАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У БЛАГОПОЛУЧНИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

**Завгородній А. І., Білушко В. В., Калашник М. В., Калашник Н. В.,
Позмогова С. А., Кіптенко А. В., Стешенко Л. М.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: nick.v.kalashnik@gmail.com

У статті представлені результати досліджень великої рогатої худоби у п'яти благополучних щодо туберкульозу тваринницьких господарствах проведені впродовж 2016–2020 років. Відібрані зразки біологічного матеріалу досліджували у лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ». Причини алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени були встановлені комплексним методом. Метою дослідження було проведення епізоотологічного моніторингу та визначення причин алергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби у п'яти благополучних щодо туберкульозу господарствах, розташованих у різних регіонах України. Застосовували епізоотологічний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, бактеріологічний та біологічний методи, включаючи патологічне дослідження зразків біологічного матеріалу (лімфатичні вузли та внутрішні органи), фарбування мазків за методом Ціля–Нільсена при бактеріоскопії. Зразки біологічного матеріалу попередньо обробляли 6,0 %-м розчином сірчаної кислоти та висівали на селективне поживне середовище для культивування мікобактерій. У результаті проведених досліджень зі зразків біологічного матеріалу великої рогатої худоби виділено 15 культур атипових мікобактерій. Було встановлено, що виділені ізоляти належали до п'яти видів мікобактерій з чотирьох господарств, а саме: *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. gordonae*, *M. smegmatis* та *M. scrofulaceum*. Крім того, в одному господарстві були виділені дві культури *M. bovis*. Причини алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени було встановлено комплексним методом із застосуванням систематичних симультанно-алергічних досліджень у стадах великої рогатої худоби. Також було вжито відповідних заходів щодо запобігання поширенню туберкульозної інфекції в одному тваринницькому господарстві. Контроль благополуччя стад великої рогатої худоби, у яких сенсibilізація до туберкуліну була спричинена атиповими мікобактеріями, необхідно проводити із застосуванням туберкуліну (ППД) для ссавців та алергену із атипових мікобактерій, а також профілактичної вологої дезінфекції місць утримуються тварин препаратами, що забезпечують девіталізацію мікобактерій у довкіллі

Ключові слова: *Mycobacterium bovis*, атипові мікобактерії

Туберкульоз є одним з особливо небезпечних зооантропонозних інфекційних захворювань тварин, птахів та людини, яке переважно має хронічний перебіг і характеризується утворенням у різних органах і тканинах типових безсудинних вузликів (туберкул) з наявністю сирнистого розпаду, а в окремих випадках — наявності петрифікату на місці локалізації патологічного процесу. Незважаючи на досягнуті успіхи у вивченні туберкульозу, хвороба реєструється на всіх континентах земної кулі як у людей, так і у тварин [1, 2].

Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) на сьогодні у світі до 10 млн людей є хворими на туберкульоз. Щорічно на планеті виявляють від 9 до 10 млн людей, інфікованих збудником туберкульозу і до 1,5 млн з них помирають у репродуктивному віці [2].

За останні чотири роки в Україні також склалась напружена епідемічна ситуація щодо туберкульозу. Високий рівень захворюваності спостерігають у всіх вікових групах і прошарках населення, а найвища інфікованість і смертність встановлена серед хворих на ВІЛ та у місцях позбавлення волі (80–90 %). Якщо враховувати захворюваність людей на активний туберкульоз, включаючи рецидиви серед населення України, то цей показник становить 60,1, а смертність 19,9 на 100 тис. населення [3]. Що стосується епізоотичної ситуації з туберкульозу, то у

розвинутих країнах поголів'я великої рогатої худоби є вільним від цієї інфекції. Однак і у цих країнах реєструють спорадичні спалахи та рецидиви захворювання на туберкульоз в оздоровлених стадах [4].

Разом з цим і на сьогодні відмічають захворювання великої рогатої худоби у молочних стадах у 18,2 % країн, інфікування тварин *Mycobacterium bovis* — 2,9 %, спорадичні випадки — у 5,8 % та підозру на захворювання — 0,8 % країн. При цьому у 37,3 % країнах епізоотична ситуація залишається не визначеною. Серед популяції диких тварин у 19 країнах було встановлено захворювання збудником туберкульозу [5].

На підвищену сприйнятливість тварин до збудників інфекційних хвороб, у тому числі і туберкульозу, у повній мірі впливають і стресові фактори, до яких відносяться: недотримання умов мікроклімату у тваринницьких приміщеннях, порушення вентиляції, що призводить до підвищення вологості, а також збільшення кількості аміаку в повітрі приміщень, порушення технології годівлі, незбалансованість раціонів, контамінація кормів мікроміцетами та мікотоксинами, утримання тварин різного віку в одному приміщенні, відсутність своєчасного контролю проведення та якості ветеринарно-санітарних і профілактичних заходів [6].

Разом з цим під впливом природних та антропогенних чинників збудники інфекційних захворювань можуть реверсувати у S- і L-форми та зумовлювати латентну форму перебігу інфекційного процесу [7–9].

Для профілактики хвороб проводять вакцинацію тварин, що стримує поширення цих захворювань в гуртах великої рогатої худоби. Вакцина BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) широко використовується у медичній практиці для профілактики туберкульозу [10]. Що стосується проведення вакцинопрофілактики туберкульозу великої рогатої худоби, то на сьогодні не існує високоефективного препарату, тому в системі заходів з профілактики та боротьби з цим зооантропонозним захворюванням важливе значення має своєчасна та ефективна його діагностика.

З цією метою у більшості країнах світу застосовують внутрішньошкірну туберкулінову пробу, за результатами якої визначають епізоотичний стан гуртів у господарствах щодо туберкульозу або наявності чи відсутності інфікованих збудниками *M. bovis* та *M. tuberculosis* тварин [1]. Не дивлячись на те, що поголів'я великої рогатої худоби України оздоровлене від туберкульозної інфекції, в останні роки моніторинговими алергічними дослідженнями у багатьох благополучних скотарських господарствах щорічно виявляють реагуючих на туберкулін тварин. За діагностичного забою таких тварин на секції не знаходять властивих туберкульозу уражень, а у результаті бактеріологічного дослідження біоматеріалу від цих тварин збудника туберкульозу не виділяють. Під час культурального дослідження біоматеріалу від цих тварин на поживному середовищі спостерігають ріст мікобактерій на 10–15-ту доби, які за тинкторіальними та культурально-морфологічними властивостями важко відрізнити від збудників туберкульозу.

Для визначення причин алергічних реакцій у таких господарствах проводять від чотирьох до шести алергічних досліджень. При цьому тваринницькі господарства несуть значні економічні втрати із-за необґрунтованого забою високопродуктивних тварин і проведення додаткових діагностичних, а також ветеринарно-санітарних і профілактичних заходів.

Дослідженнями багатьох учених встановлено, що позитивні реакції на туберкулін для ссавців обумовлюють не тільки збудники туберкульозу *M. bovis*, *M. tuberculosis*, а також *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і деякі види атипових мікобактерій [11–18]. Крім цього, у результаті дослідження біоматеріалу від реагуючої на туберкулін великої рогатої худоби, проб води, ґрунту, секретів та екскретів від людей і тварин було ізольовано велику кількість кислотостійких мікобактерій, які за тинкторіальними, культурально-морфологічними властивостями важко відрізнити від збудників туберкульозу. Виділені ізоляти мікобактерій спочатку називали анонімними, опортуністичними, неklasифікованими, нетуберкульозними, непатогенними та атиповими [19].

Під час вивчення виділених у різних країнах ізолятів нетуберкульозних мікобактерій міжнародною групою вчених з таксономії було доведено, що окремі види цих мікобактерій мають ідентичні тинкторіальні, культурально-морфологічні, біохімічні характеристики незалежно на якому континенті їх було виділено та відносяться до самостійних видів, а не до мутантів збудників туберкульозу [19]. У подальшому у результаті вивчення біологічних властивостей атипових мікобактерій у дослідах на лабораторних тваринах і великій рогатій худобі було

встановлено, що в організмі здорових тварин окремі види обумовлюють гіперчутливість сповільненого типу на внутрішньошкірне введення туберкуліну для ссавців та птиці [12, 20].

Неспецифічні реакції на туберкулін у благополучних щодо захворювання на туберкульоз країнах і на сьогодні виявляють у Франції (15–20 %), США (10–50 %), Латвії (35,8 %), Литві (31 %), Німеччині (23 %), Нідерландах (5–12 %), Росії (8,9–79,4 %), а також країнах зі спорадичними випадками туберкульозної інфекції (Польща, Норвегія, Данія) [21].

Разом з цим, в організмі сприйнятливих тварин можуть одночасно циркулювати як збудники туберкульозу, так і нетуберкульозні атипові мікобактерії [22]. Тому, недооцінка неспецифічних реакцій у тварин може призвести до необґрунтованого забою здорових тварин, а переоцінка цього явища — до поширення туберкульозної інфекції в таких гуртах.

Для диференціації специфічних від параалергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби застосовували різні дози туберкуліну (20 000, 15 000, 10 000, 5 000, 2 500 міжнародних одиниць), дослідження реагуючих тварин очною, внутрішньовенною пальпебральною пробою, реакцію бласттрансформації лейкоцитів, надплевральну новокаїнову блокаду, метод пригнічення неспецифічних реакцій розчином хлориду кальцію, симультанну туберкулінову пробу з різними моноалергенами, серологічні реакції (РЗК, РТЗК, РНГА, ІФА), але вони не знайшли практичного застосування [21].

Найбільшого визнання та диференціального значення застосування у європейських країнах отримала симультанна проба з використанням туберкуліну для ссавців і птиці. За результатами цієї реакції визначають епізоотичний статус великої рогатої худоби щодо туберкульозу в благополучних господарствах [1, 23].

На сьогоднішній день поголів'я гуртів великої рогатої худоби в господарствах України оздоровлено від туберкульозу. Однак ретроспективний аналіз епізоотичної ситуації щодо туберкульозу свідчить про те, що під час моніторингових алергічних досліджень щороку у благополучних господарствах виділяють від 2 500 до 3 200 реагуючих на туберкулін тварин, у яких на розтині в органах і тканинах не виявляють характерних для цього захворювання уражень. При цьому причини алергічних реакцій на мікобактеріальний алерген залишаються нез'ясованими від шести до дев'яти місяців.

Метою нашої роботи було проведення епізоотологічного моніторингу та вивчення причин наявності реакцій на внутрішньошкірне введення туберкуліну (ППД) для ссавців у великої рогатої худоби у п'яти благополучних щодо туберкульозної інфекції господарствах різних областей України.

Матеріали та методи. Дослідження поголів'я великої рогатої худоби проводили у п'яти благополучних щодо захворювання на туберкульоз тваринницьких господарствах Черкаської, Сумської та Чернігівської областей.

Під час вивчення епізоотичної ситуації щодо туберкульозу у відібраних господарствах використовували дані та результати досліджень тварин, які були проведені ветеринарними фахівцями районних і обласних управлінь і регіональними лабораторіями ветеринарної медицини.

Для визначення у великої рогатої худоби причин реакцій на туберкулін проводили комплекс діагностичних досліджень, що включав епізоотичний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, мікроскопічний, культуральний і біологічний методи досліджень проб біологічного матеріалу, відібраного від забитих з діагностичною метою тварин.

Клінічним методом обстежували велику рогату худобу усіх вікових груп, яких згодом досліджували алергічним методом. При цьому враховували загальний стан тварин, їхню вгодованість, а також стан заглоткових, підщелепних, передлопаткових, колінної складки і надвим'яних лімфатичних вузлів.

Алергічне дослідження проводили з використанням «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині» та «Алергену сухого очищеного із атипових мікобактерій» (ААМ) виробництва ДП «Сумська біофабрика» згідно з «Інструкцією з профілактики та боротьби з туберкульозом тварин», затвердженою наказом Державного комітету ветеринарної медицини України від 03.09.2009 р. за № 316 та «Настановою по діагностиці туберкульозу тварин та птиці» від 26.05.1994 р. [24, 25]. Туберкулін вводили інтрадермально безголковим ін'єктором «БІ-7» з лівої, а ААМ з правої сторони середньої третини шиї у попередньо вистрижене та

оброблене 70,0 ° спиртом-ректифікатом місце у дозі 0,1 см³. Облік шкірних реакцій на мікобактеріальні алергени проводили через 72 год після їх введення.

Патологоанатомічному огляду піддавали туші забитих тварин, а також заглотові, підщелепні, бронхіальні, мезентеріальні, портальні, надвим'яні, передлопаткові та колінної складки лімфатичні вузли, а також печінку, нирки, легені, селезінку та серозні оболонки грудної і черевної порожнин. З перелічених органів відбирали проби біологічного матеріалу для проведення бактеріологічних досліджень на туберкульоз. З лімфатичних вузлів і внутрішніх органів, відібраних від тварин, готували мазки-відбитки, які фарбували за методом Ціля–Нільсена та досліджували з використанням імерсійної системи світлового мікроскопа.

Бактеріологічним методом досліджували відібрані проби біологічного матеріалу від забитих з діагностичною метою тварин. Деконтамінацію біологічного матеріалу від сторонньої мікрофлори проводили за методом А. П. Алікаєвої з використанням 6,0 %-го розчину сірчаної кислоти.

Посів дослідного матеріалу здійснювали на яєчне «Сухе живильне середовище для культивування мікобактерій» з подальшим культивуванням у термостаті за температури 37–38 °С впродовж трьох місяців. Облік росту мікроорганізмів на поживному середовищі проводили щодня впродовж перших семи діб, у подальшому — щотижнево. У разі виділення колоній мікроорганізмів проводили їх мікроскопію та родову ідентифікацію.

У культуральних тестах визначали швидкість появи первинного росту колоній, їхню пігментацію та морфологію, наявність повітряного міцелію, здатність росту ізолятів за різних температурних режимів (25, 37, 45 °С), а також росту на середовищах з 5,0 % натрію хлориду і саліцилатом натрію в концентрації 1 000 мкг/см³. Крім цього у виділених ізолятах визначали амідазну, та каталазну активність, здатність гідролізувати твін 80 та відновлювати телурит калію. Для цього готували завись культури у концентрації 1,0 мг бактеріальної маси в 1,0 см³ стерильного 0,85 %-му розчину натрію хлориду і висівали по 0,5 см³ на кожне середовище окремо для певного тесту згідно з «Методичними рекомендаціями з визначення видової належності культур мікобактерій» [26]. Шляхом мікроскопії мазків ізольованих культур мікроорганізмів, пофарбованих за методом Ціля–Нільсена, визначали кислотостійкість і морфологію клітин.

За результатами культурально-морфологічних, біохімічних і з урахуванням біологічних властивостей визначали видову належність виділених культур і групу за класифікацією Раньона [27].

Сенсибілізуючі та патогенні властивості кожної виділеної з біоматеріалу культури мікобактерій окремо вивчали в дослідях на клінічно здорових морських свинках живою вагою 300,0–350,0 г, які до початку дослідів не реагували на внутрішньошкірне введення туберкуліну для ссавців та ААМ і не використовувалися в інших дослідях.

Для зараження лабораторних тварин використовували живу бактеріальну масу кожної культури окремо, вирощену на середовищі Павловського. Завись кожної з дослідних культур мікобактерій окремо вводили морським свинкам підшкірно в дозі 1,0 мг/см³ стерильного фізіологічного розчину. Алергічне дослідження лабораторних тварин після зараження проводили триразово з інтервалом 30 діб з використанням туберкуліну для ссавців у стандартному розчині та ААМ. Морським свинкам туберкулін вводили внутрішньошкірно з лівої сторони, а ААМ з правої сторони в дозі 25 та 40 МО. Облік та інтенсивність реакції на мікобактеріальні алергени проводили через 24 год після їх введення. Позитивною реакцією вважали гіперемію шкіри на місці введення алергенів та утворення папули діаметром 5,0 мм і більше.

Результати. Для з'ясування природи реакцій на туберкулін та диференціації специфічних від неспецифічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби співробітниками лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ» було досліджено комплексним методом 4 777 гол. великої рогатої худоби впродовж 2016–2020 рр.

Результати застосування комплексного методу для визначення причин наявності реакцій на туберкулін та диференціації специфічних від параалергічних реакцій у великої рогатої худоби в благополучних щодо туберкульозу господарствах наведені в таблиці, з даних якої видно, що за неоднократних симультанно-алергічних досліджень у господарствах №№ 1, 2, 4, 5 реакції у великої рогатої худоби були достовірно вираженими на ААМ.

Таблиця — Результати алергічних, патологоанатомічних і бактеріологічних досліджень великої рогатої худоби на туберкульоз

№ господарства	Досліджено, гол.	Кількість досліджень	Методи досліджень									Діагноз на туберкульоз
			Алергічний				Патолого-анатомічний		Бактеріологічний			
			реагувало на алерген									
			усього	з більшою інтенсивністю реакції на			досліджено, гол.	результат	досліджено, гол.	культури мікобактерій		
				ППД (+)	ААМ (-)	однаково на обидва алергени (=)				кількість	вид	
1	1500	3	78	4	72	2	6	негат.	6	1	<i>M. phlei</i>	-
									1	<i>M. fortuitum</i>		
2	975	3	52	1	49	2	3	негат.	3	1	<i>M. gordonae</i>	-
									1	<i>M. smegmatis</i>		
3	580	1	6	4	-	2	6	негат.	6	2	<i>M. bovis</i>	+
4	882	2	26	1	25	-	1	негат.	1	1	<i>M. phlei</i>	-
5	840	4	85	12	61	12	24	негат.	24	3	<i>M. phlei</i>	-
										3	<i>M. fortuitum</i>	
										2	<i>M. scrofulaceum</i>	
Усього	4777	13	247	20	209	18	40	негат.	40	15	-	

Під час діагностичного забою 34 гол. з цих господарств на розтині в жодному випадку в лімфатичних вузлах і внутрішніх органах характерних для туберкульозу уражень не було виявлено. У результаті бактеріологічного дослідження проб біоматеріалу на поживному середовищі було ізольовано 13 культур атипичних мікобактерій, які за тинкторіальними, культурально-морфологічними і біохімічними властивостями було віднесено до скотохромогенних — 3 культури, швидкозростаючих — 10 культур за класифікацією Раньона. З них до виду *M. gordonae* належала 1 культура, *M. scrofulaceum* — 2, *M. smegmatis* — 1, *M. phlei* — 5 та *M. fortuitum* — 4.

За дворазового підшкірного введення морським свинкам з інтервалом сім діб зависі живої бактеріальної маси кожного виду окремо в дозі 1,0 мг/см³ стерильного фізіологічного розчину через 30 діб відмічали реакції на внутрішньошкірне введення туберкуліну для ссавців у 74,1 % голів, а на ААМ — у 100 % дослідних тварин. Через 60 діб після введення культур кількість реагуючих на туберкулін морських свинок зменшилася до 44,4 %, а на ААМ реагували 82,2 %. Через 90 діб після початку дослідів реакції на туберкулін збереглися тільки у 11,1 % морських свинок, яким вводили культури *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, тоді як на ААМ реагувало 44,4 % (по 2–3 гол. з кожної дослідної групи, яким вводили завись *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. phlei*, *M. fortuitum*). При цьому впродовж експерименту інтенсивність прояву реакцій на ААМ в усіх групах дослідних тварин була більш вираженою в порівнянні з туберкуліном для ссавців. У евтаназованих дослідних тварин через 90 діб під час патологоанатомічного дослідження в органах і лімфатичних вузлах характерних для туберкульозу уражень не було виявлено. Результати проведених досліджень свідчать про те, що сенсibilізація тварин до туберкуліну в господарствах №№ 1, 2, 4, 5 обумовлювали атипичні мікобактерії, які є непатогенними для великої рогатої худоби.

Що стосується господарства № 3, то під час першого симультанно-алергічного дослідження великої рогатої худоби було виділено шість реагуючих тварин. З них у двох корів відмічали реакції тільки на туберкулін для ссавців з потовщенням шкіряної складки на 5–6 мм. У двох голів інтенсивність реакції була більш вираженою на туберкулін у порівнянні з реакцією на алерген з атипичних мікобактерій, а також у двох голів реакції на туберкулін та ААМ були однаковими. Ураховуючи результати проведених досліджень в симультанній пробі в цілому по стаду отримано невизначений результат. Для встановлення природи реакцій на туберкулін усі шість голів було забито з діагностичною метою. У результаті патологоанатомічного дослідження у забитих тварин у лімфатичних вузлах (заглоткові, підщелепні, бронхіальні, мезентеріальні,

передлопаткові, колінної складки, надвимв'яні) та внутрішніх органах (легені, печінка, селезінка, нирки) туберкульозних уражень виявлено не було.

Під час культурального дослідження проб біоматеріалу, відібраного від цих тварин на 28–30-ту доби у двох пробах на поживному середовищі були виділені світло-сірого кольору поодинокі колонії з гладенькою матовою поверхнею. У заражених суспензією біоматеріалу та ізолюваними культурами через 30–35 діб після початку досліду у двох загиблих тварин, яким інокулювали суспензію біоматеріалу, на розтині в печінці й селезінці були виявлені характерні для туберкульозу ураження. У евтаназованих через 40 діб після зараження культурами інших тварин під час патологоанатомічного дослідження у внутрішніх органах відмічали поодинокі туберкульозні ураження, що і було підставою для встановлення діагнозу на туберкульоз у великої рогатої худоби у господарстві № 3.

У подальшому оздоровлення цього стада від туберкульозу проводили методом систематичних діагностичних досліджень із застосуванням дворазової туберкулінової проби з інтервалом 30 діб. Так, під час першого дослідження на перше введення туберкуліну з числа досліджених корів (574 гол.) було виділено вісім реагуючих тварин, а на друге введення діагностичного препарату — три. При другому дослідженні на перше введення туберкуліну реагувало шість корів, а на друге введення — одна. У результаті проведення третього дослідження реакцію на перше введення алергену було встановлено у двох корів, тоді як на друге введення препарату реагуючих тварин не виділяли. Під час четвертого і п'ятого досліджень усього поголів'я з інтервалом три місяці реагуючих тварин на внутрішньошкірне введення туберкуліну не виявляли. Разом з цим, серед дослідженого молодняку, телиць і нетелів реагуючих не виявляли у жодному випадку.

У забитих реагуючих тварин у період оздоровлення на секції в органах і тканинах характерних туберкульозних уражень не було встановлено. Крім цього, у приміщеннях, де утримувались тварини, після кожного проведеного алергічного дослідження проводилася ретельна механічна чистка та волога дезінфекція робочими розчинами препаратів «Ветамін», «Септодор-Форте» і хлорним вапном, а також санація території ферми та вигульних майданчиків.

Таким чином, поголів'я великої рогатої худоби господарства № 3 було оздоровлено від туберкульозу. У наступні два роки під час проведення чотирьох алергічних досліджень серед поголів'я великої рогатої худоби реагуючих тварин не виявляли.

Висновки. 1. Реакції на туберкулін (ППД) у великої рогатої худоби в чотирьох дослідних господарствах обумовлювали атипові мікобактерії п'яти видів (*M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum*), а також мікобактерії збудника туберкульозу бичачого виду (*M. bovis*) — в одному тваринницькому господарстві.

2. Визначення природи алергічних реакцій на туберкулін та диференціацію специфічних від параалергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби необхідно проводити комплексним методом із застосуванням симультанно-алергічної проби, патологоанатомічного і бактеріологічного досліджень з урахуванням даних епізоотологічних досліджень.

3. Контроль благополуччя стад великої рогатої худоби, у яких встановлена сенсibilізація до туберкуліну, що спричинена атиповими мікобактеріями, слід проводити із застосуванням туберкуліну (ППД) для ссавців та алергену з атипових мікобактерій, а також проведенням профілактичної вологої дезінфекції місць утримання тварин препаратами, що забезпечують девіталізацію мікобактерій у довкіллі.

Список літератури

1. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 3.4.6. Bovine tuberculosis (version adopted in May 2018). In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE, 2018. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf.
2. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis report 2020. . Geneva: World Health Organization, 2020. 208 pp. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.
3. Центр громадського здоров'я. Туберкульоз в Україні: аналітично-статистичний довідник за 2019 рік. Київ: Центр громадського здоров'я, 2020. 197 с. URL: https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/TB_surveillance_statistical-information_2019_dovidnyk.pdf.
4. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) et al. Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): bovine tuberculosis. *EFSA Journal*. 2017. Vol. 15, No. 8. P. e4959. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4959>.

5. OIE (World Organisation for Animal Health). Bovine tuberculosis. *WAHIS: World Animal Health Information System*. URL: https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=32&species_t=0&disease_id_aquatic=999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2018&selected_report_period=1&selected_start_month=1&date_submit=OK.
6. Коваленко А. М., Коваленко Л. В., Мерзленко Р. А. Диагностика и профилактика туберкулёза животных. Белгород: Изд-во БелГСХА, 2008. С. 124.
7. Markova N. Cell wall deficiency in mycobacteria: latency and persistence. In: Cardona P.-J. (ed.) *Understanding tuberculosis: deciphering the secret life of the bacilli*. InTech, 2012. P. 193–216. DOI: <https://doi.org/10.5772/30919>.
8. Slavchev G., Michailova L., Markova N. Stress-induced L-forms of *Mycobacterium bovis*: a challenge to survivability. *New Microbiologica*. 2013. Vol. 36, No. 2. P. 157–166. URL: http://www.newmicrobiologica.org/PUB/all_egati_pdf/2013/2/157.pdf.
9. Вейсфеллер Ю. К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулёза и атипичных микобактерий. Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1975. 335 с.
10. Фтизиатрия: национальное руководство / под ред. М. И. Перельмана. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 512 с.
11. Найманов А. Х. и др. Совершенствование симультанной туберкулиновой пробы для дифференциации неспецифических реакций у КРС. *Ветеринария и кормление*. 2016. № 1. С. 11–13. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25620492>.
12. Найманов А. Х. и др. Нетуберкулёзные (атипичные) микобактерии и их сенсibiliзирующее значение. *Ветеринария и кормление*. 2015. № 1. С. 19–21. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22884102>.
13. Pavlik I. et al. Mycobacterial infections in cattle and pigs caused by *Mycobacterium avium* complex members and atypical mycobacteria in the Czech Republic during 2000–2004. *Veterinárni Medicína*. 2005. Vol. 50, No. 7. P. 281–290. DOI: <https://doi.org/10.17221/5625-VETMED>.
14. Кудряков В. Н. Атипичные быстрорастущие микобактерии и их роль в патологии крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03. Москва, 1984. 24 с.
15. Румачик И. И. Взаимосвязь выделения микобактерий из материала от реагирующего на туберкулин скота и объектов внешней среды. *Ветеринарная наука — производству: межведом. темат. сб.* Бел. НИИЭВ. 1990. № 28. С. 47–50.
16. Скрыпник А. В. Применение молекулярно-генетических методов для изучения видового соотношения микобактерий, изолированных в Украине от реагирующего на туберкулин КРС. *Ветеринарная патология*. 2007. № 4. С. 111–117. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=16862430>.
17. Стегний Б. Т., Завгородний А. І., Калашник М. В. Визначення природи реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина: міжвідом. темат. наук. зб.* 2014. Вип. 99. Р. 86–89. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2014_99_26.
18. Гончарова Н. В. Епізоотологічний моніторинг та серологічна діагностика паратуберкульозу великої рогатої худоби: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03. Харків, 2019. 20 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0419U003018>.
19. Зыков М. П., Ильина Т. Б. Потенциально-патогенные микобактерии и лабораторная диагностика микобактериозов. Москва: Медицина, 1978. 176 с.
20. Кадочкин А. М., Ткачёв-Кузьмин А. В. Атипичные микобактерии и их роль в сенсibiliзации животных к туберкулину. *Бюллетень ВИЭВ*. 1983. № 51. С. 50–52.
21. Найманов А. Х. и др. Проблемы диагностики микобактериальных инфекций крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2014. № 6. С. 3–8. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=21637064>.
22. Katala B. Z. et al. One Health approach in the prevention and control of mycobacterial infections in Tanzania: lessons learnt and future perspectives. *One Health Outlook*. 2019. Vol. 1. P. 2. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42522-019-0002-1>.
23. Lipiec M. Gruźlica była w Polsce. Puławy: Państwowy Instytut Weterynaryjny — Państwowy Instytut Badawczy, 2008. 68 s.
24. Інструкція з профілактики та боротьби з туберкульозом тварин: затв. наказом Державного комітету ветеринарної медицини України № 316 від 03.09.2009 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/z0883-09>.
25. Настанова по діагностиці туберкульозу тварин та птиці: затв. 26.06.1994 р. Київ, 1994. 39 с.
26. Завгородній А. І. та ін. Методичні рекомендації з визначення видової належності культур микобактерій: затв. метод. комісією з інфекц. патології ННЦ «ІЕКВМ» (протокол № 4 від 19 жовтня 2015 р.) та відділенням вет. медицини НААН (протокол № 4 від 25 листопада 2015 р.). Харків, 2015. 42 с.
27. Runyon E. H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *The Medical Clinics of North America*. 1959. Vol. 43, No. 1. P. 273–290. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)34193-1](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)34193-1).

DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS IN FREE FROM TUBERCULOSIS FARMS OF UKRAINE

**Zavgorodniy A. I., Bilushko V. V., Kalashnyk M. V., Kalashnyk N. V.,
Pozmogova S. A., Kiptenko A. V., Steshenko L. M.**

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

The article presents the results of studies of cattle in five free from tuberculosis livestock farms during 2016–2020. Samples of biological material were collected and studied in the Laboratory for Tuberculosis Study of NSC “IECVM”. The causes of allergic reactions to mycobacterial allergens were established by a comprehensive method. The aim of the study was to conduct epizootological monitoring and to determine the

causes of positive tuberculin skin test in cattle in five farms, which are free from tuberculosis. These farms are located in different regions of Ukraine. Epizootological, clinical, allergical, pathoanatomical, bacteriological and biological methods were used including a pathological examination of biological material samples (lymph nodes and internal organs), Ziehl-Nielsen staining of smears during bacterioscopy. Samples of biological material were preliminary treated with a 6.0% solution of sulfuric acid and inoculated on selective nutrient medium for mycobacteria cultivation. As a result of conducted study 15 cultures of nontuberculous mycobacteria were isolated from samples of biological material from cattle. It was found that these isolates were represented by five mycobacterial species from four husbandry farms. There were *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. gordonae*, *M. smegmatis* and *M. scrofulaceum*. In addition, two cultures of *M. bovis* were isolated from one herd. The causes of allergic reactions to mycobacterial allergens were established by a complex method using systematic simultaneous-allergic studies in cattle herds. In addition, appropriate measures were taken to prevent the spread of tuberculosis infection in one livestock farm. A control over the welfare of cattle herds where sensitization to tuberculin is caused by atypical mycobacteria should be carried out using a tuberculin (PPD) for mammals and an allergen from atypical mycobacteria. It is necessary to conduct preventive wet disinfection of places where animals are kept by using disinfectants that ensure the devitalization of mycobacteria in the environment

Keywords: *Mycobacterium bovis*, nontuberculous mycobacteria

УДК 619:616.98-078:579.835.12.083.337:636.2

DOI 10.36016/VM-2020-106-10

ДІАГНОСТИКА ГЕНІТАЛЬНОГО КАМПІЛОБАКТЕРІОЗУ ЖУЙНИХ ЗА РЕАКЦІЇ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ В ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

Калініченко Т. В., Куценко В. А., Болотін В. І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: vbolotin@hotmail.de

У статті представлено інформацію щодо актуальності проблеми генітального кампілобактеріозу та, зокрема, його серологічної діагностики. Представлено результати визначення активності та специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів у реакції тривалого зв'язування комплексу з комерційною позитивною сироваткою (Virion\Serion), а також з гомо- та гетерологічними сироватками. Показано результати аналізу епізоотичної ситуації щодо кампілобактеріозу серед сільськогосподарських тварин в Україні за 2019–2020 рр. Серологічний моніторинг на кампілобактеріоз з використанням РТЗК було проведено у 22 господарствах у 9 областях України. Усього було досліджено 727 проб сироваток крові від сільськогосподарських тварин (ВРХ та вівці). Загальна серопревалентність становила серед ВРХ 5,7 %, а серед вівцепоголів'я — 12,9 %. Показані результати свідчать про циркуляцію кампілобактерій підвидів *venerealis* та *fetus* серед поголів'я ВРХ та овець, що може бути причиною значних економічних збитків у господарствах

Ключові слова: епізоотична ситуація, велика рогата худоба, вівці

Інфекційні захворювання жуйних, які спричиняють безпліддя та аборти, завдають значних економічних збитків у всьому світі [1, 2]. Одним з важливих збудників при цьому вважають *Campylobacter fetus*, який є етіологічним чинником генітального кампілобактеріозу (вібріозу) та виділяється з абортіваних плодів з частотою від 1,8 до 13 % усіх випадків репродуктивних розладів у тварин [3, 4]. Уперше захворювання зареєстрували серед поголів'я ВРХ у Великій Британії в 1913 році під час з'ясування причин безпліддя, а починаючи з 1960 року воно набуло широкого поширення у всьому світі [5].

Збудники захворювання — грамнегативні рухливі бактерії з одним або двома полярними джгутиками та з мікроаерофільним типом дихання. Вид *Campylobacter fetus* включає підвиди *Campylobacter fetus* ssp. *fetus* (Cff) та *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* (Cfv) [6]. Перший є постійним резидентом кишківника ссавців і може спричиняти спорадичні аборти у великої рогатої худоби та овець, а також системного захворювання у людей [7, 8]. Інфікування відбувається переважно статевим або фекально-оральним шляхом з подальшою бактеремією,

що згодом може призводити до вагініту, плацентиту й абортів [9]. *Cfv* є етіологічним чинником генітального кампілобактеріозу ВРХ з виключно статевим або вертикальним механізмом передачі збудника [6], наслідками чого стають масові аборти в господарствах.

Діагностика генітального кампілобактеріозу базується на виділенні збудника та його диференціації, проте бактеріологічний метод є тривалим і трудомістким, успішність якого залежить від правильного відбору зразків та умов їх транспортування до лабораторії [10]. Крім того, часто в господарствах проводять безсистемну антибіотикотерапію, що згодом негативно впливає на виділення кампілобактерій від тварин.

Як рутинні запропоновано серологічні методи: реакція пробіркової аглютинації, реакція зв'язування комплементу, імуноферментний аналіз, реакція імуофлюоресценції, дослідження вагінального слизу за допомогою реакції аглютинації [11, 12]. Як ефективний діагностичний метод добре себе зарекомендувала полімеразна ланцюгова реакція, особливо у разі дослідження зразків сперми та абортіваних плодів [13].

Виходячи зі звітності, представленої Всесвітньою організацією захисту здоров'я тварин (OIE), протягом 2019–2020 років генітальний кампілобактеріоз ВРХ був зареєстрований в Аргентині, Намібії, Бразилії, Канаді, Коста Ріці, США, Уругваї, Бангладеш, Франції, Ірландії, Великій Британії та Австралії [14]. В Україні дослідження щодо генітального кампілобактеріозу тварин майже не проводяться з огляду на відсутність надійних засобів діагностики, тому нами було запропоновано специфічні антигени для серологічного дослідження за допомогою реакції тривалого зв'язування комплементу, а також проведення відповідного скринінгу за їх допомогою в проблемних господарствах України.

Мета роботи. Визначити активність і специфічність виготовлених кампілобактеріозних антигенів та провести аналіз епізоотичної ситуації щодо поширення кампілобактеріозної інфекції серед жуйних на території України у 2019–2020 рр.

Матеріали та методи. Для проведення серологічних досліджень щодо кампілобактеріозу застосовували зразки антигенів, які було виготовлено з виробничих штамів LBV (*Cfv*) та LBF (*Cff*), у робочому титрі 1:20, а також позитивні гіперімунні кампілобактеріозні сироватки, одержані від кролів, комерційну кампілобактеріозну сироватку виробництва Virion\Serion, сироватки від інтактних тварин і позитивні гіперімунні сальмонельозну, бруцельозну, лістеріозну та інші сироватки.

Серологічний скринінг щодо кампілобактеріозів проводили упродовж 2019–2020 рр. у 22 господарствах Харківської, Полтавської, Сумської, Кіровоградської, Одеської, Хмельницької, Миколаївської, Житомирської та Дніпропетровської областей, в яких реєстрували репродуктивні розлади: вагініти, ендометрити, плацентити, прохолости, аборти на пізніх строках вагітності, народження нежиттєздатного молодняку. Було досліджено зразки сироватки крові ВРХ ($n = 455$) та овець ($n = 272$).

Результати досліджень. На першому етапі досліджень визначали специфічність та активність отриманих кампілобактеріозних антигенів. Для цього проводили випробування на панелі гетерологічних (від інтактних тварин, а також позитивні сироватки проти сальмонел, ієрсиній, бруцел та ін.) та гомологічних (позитивна гіперімунна сироватка *Cff* та *Cfv*) сироваток. Результати визначення специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів представлено в табл. 1.

За результатами досліджень встановлено, що виготовлені кампілобактеріозні антигени є специфічними, оскільки антиген *Cff* проявляє позитивну реакцію з комерційною (виробництва Serion/Virion) сироваткою у розведенні 1:120 (++) і з гомологічною гіперімунною сироваткою *Cff* у розведенні 1:180 (++) та негативну — з гетерологічними сироватками крові і з сироватками, отриманими від інтактних тварин. Стосовно антигена *Cfv*, то він також є специфічним, оскільки проявляє позитивну реакцію з гомологічною гіперімунною сироваткою *Cfv* у розведенні 1:140 та негативну реакцію з комерційною (виробництва Serion/Virion), сироватками від інтактних тварин та гетерологічними.

Для визначення епізоотичної ситуації щодо кампілобактеріозу у господарствах України було відібрано польові зразки сироваток крові від ВРХ та овець з 22 господарств 9 областей України та проведено дослідження 727 польових сироваток крові за допомогою РТЗК з кампілобактеріозними антигенами *Cff* та *Cfv*. Результати дослідження сироваток крові від ВРХ та овець за допомогою РТЗК наведено в табл. 2.

Таблиця 1 — Результати визначення специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів у РТЗК

Зразки сироваток	Зразки антигенів	
	<i>Cff</i>	<i>Cfv</i>
Позитивна гіперімунна сироватка (<i>Cff</i>)	1:180++	—
Позитивна гіперімунна сироватка (<i>Cfv</i>)	—	1:140+++
Позитивна кампілобактеріозна сироватка (Virion\Serion)	1:120++	—
Сироватка від інтактно́ї вівці	—	—
Сироватка від інтактно́ї корови	—	—
Сироватка позитивна сальмонельозна	—	—
Сироватка позитивна еширихіозна	—	—
Сироватка позитивна бруцельозна	—	—
Сироватка позитивна лістеріозна	—	1:5+
Сироватка позитивна хламідіозна	—	—
Сироватка позитивна бруцелаовісна	—	—
Гіперімунна сироватка <i>Y. enterocolitica</i> O:3	—	—
Гіперімунна сироватка <i>Y. enterocolitica</i> O:9	—	—

Таблиця 2 — Результати дослідження сироваток крові від ВРХ та овець за РТЗК щодо наявності антитіл проти кампілобактерій (*Cff* та *Cfv*) у господарствах України

Область	Кількість господарств	Кількість досліджених сироваток	Результати досліджень	
			позитивні	сумнівні
ВРХ щодо Cfv				
Харківська	4	212	11 (5,2 %)	2 (0,9 %)
Полтавська	3	93	6 (6,5 %)	1 (1,1 %)
Сумська	1	21	2 (9,5 %)	0
Кіровоградська	1	96	7 (7,3 %)	1 (1,0 %)
Одеська	2	24	0	0
Дніпропетровська	1	9	0	0
Разом	12	455	26 (5,7 %)	4 (0,9 %)
Вівці щодо Cff				
Харківська	1	34	8 (23,5 %)	1 (2,9 %)
Житомирська	2	56	6 (10,7 %)	2 (3,6 %)
Одеська	4	125	15 (12,0 %)	4 (3,2 %)
Миколаївська	2	42	5 (11,9 %)	2 (4,8 %)
Хмельницька	1	15	1 (6,67 %)	0
Разом	10	272	35 (12,9 %)	9 (3,3 %)

За період дослідження серопозитивних щодо кампілобактеріозу тварин було виявлено серед ВРХ у Харківській, Сумській, Полтавській, Кіровоградській та Дніпропетровській областях, а серед овець — у Харківській, Житомирській, Одеській, Миколаївській та Хмельницькій. За результатами цих досліджень серед ВРХ найбільшу частку (9,5 %) серопозитивних до *Cfv* тварин виявлено в Сумській області, проте як в Одеській та Дніпропетровській областях жодної позитивно або сумнівно реагуючої тварини не виявлено.

Серед вівцепоголів'я найбільшу частку (23,53 %) позитивно реагуючих тварин виявлено в Харківській області, а найменшу (6,67 %) — у Хмельницькій. Із результатів, наведених у табл. 2, видно, що загалом під час серологічного дослідження сироваток крові, відібраних від ВРХ, у РТЗК з кампілобактеріозним антигеном реагувало 26 (2,7 %) зразків, у яких виявляли специфічні проти кампілобактерій антитіла в діагностичних титрах 1:10 та вище. Разом з цим, у 4 (0,9 %) пробах сироваток крові від інших тварин цих господарств у РТЗК отримано сумнівний результат. Серед досліджених сироваток крові овець виявлено 35 (12,9 %) позитивних та 9 (3,3 %) сумнівних щодо наявності антитіл проти *Cff*.

Наведені результати свідчать про циркуляцію кампілобактерій підвиду *venerealis* серед поголів'я ВРХ та *fetus* — серед овець. Так, у господарствах, в яких виявлено циркуляцію

Campylobacter fetus, реєстрували яловість, аборти, вагініти, ендометрити або гибель новонароджених. Найбільш постійним симптомом захворювання є яловість за повторного запліднення. У господарствах, де встановлено викидні кампілобактеріозної етіології, виявляли вагініти не лише у тварин що абортували, але й у більшості тварин, які отелилися нормально. У випадках хронічного перебігу захворювання тварини тривалий час хворіють на вагініти, що проявляється помірною гіперемією статевих органів та є перешкодою для нормального запліднення.

Викидні у інфікованих *Campylobacter fetus* тварин можуть статися у різні терміни вагітності, проте найбільш характерними для даної інфекції є викидні у середньому періоді вагітності, а викидні, що стаються на ранніх строках, часто лишаються непоміченими, оскільки єдина ознака таких абортів — незначні слизові, іноді з невеликою кількістю крові, витоки.

В одному з господарств Харківської області спостерігали зараження одночасно хламідіозною та кампілобактеріозною інфекціями. Подвійна інфекція ускладнює перебіг кожного з двох захворювань, оскільки в даному випадку спостерігали значну кількість абортів як однієї, так і іншої етіології.

З огляду на відсутність патогномонічних симптомів за генітального кампілобактеріозу, діагностика повинна ґрунтуватися на лабораторних методах дослідження. Складнощі під час виділення збудника від інфікованих тварин пов'язані, перш за все, з низьким виживанням кампілобактерій на поживних середовищах і контамінацією вторинною мікрофлорою [15]. З метою масового серологічного скринінгу тварин розроблено технологію отримання кампілобактеріозних антигенів для проведення РТЗК, специфічність і чутливість яких було доведено як на панелі референтних позитивних зразків, так і польовому матеріалі [16].

Висновки. 1. Визначення активності та специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів показало їхню придатність для використання у реакції тривалого зв'язування комплекменту.

2. Проведення серологічного дослідження щодо генітального кампілобактеріозу в Україні дозволило встановити серопозитивність до кампілобактерій на рівні 5,7 % та 12,9 % серед ВРХ та овець відповідно.

3. З метою запобігання поширення кампілобактеріозу в Україні існує необхідність у проведенні постійного моніторингу поголів'я, а також контролю імпортованих у країну тварин і спермопродукції.

Список літератури

1. BonDurant R. H. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the role of vaccines in their control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2005. Vol. 21, No. 2. P. 383–408. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.03.002>
2. Garcia M. M., Eaglesome M. D., Rigby C. Campylobacters important in veterinary medicine. *The Veterinary Bulletin*. 1983. Vol. 53, No. 9. P. 793–818.
3. Anderson M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*. 2007. Vol. 68, No. 3. P. 474–486. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.001>.
4. Campero C. M. et al. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Veterinary Research Communications*. 2003. Vol. 27, No. 5. P. 359–369. DOI: <https://doi.org/10.1023/a:1024754003432>.
5. Clark B. L. Review of bovine vibriosis. *Australian Veterinary Journal*. 1971. Vol. 47, No. 3. P. 103–107. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1971.tb14749.x>.
6. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 2.4.4. Bovine genital campylobacteriosis (version adopted in May 2017). In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE, 2017. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.04_BGC.pdf.
7. Véron M., Chatelain R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1973. Vol. 23, No. 2. P. 122–134. DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-23-2-122>.
8. Wagenaar J. A. et al. *Campylobacter fetus* infections in humans: exposure and disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2014. Vol. 58, No. 11. P. 1579–1586. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciu085>.
9. Silveira C. et al. Diagnosis of bovine genital campylobacteriosis in South America. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018. Vol. 5. P. 321. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00321>.
10. Michi A. N. et al. A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health. *Theriogenology*. 2016. Vol. 85, No. 5. P. 781–791. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.037>.

11. Repiso M. V. et al. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of the humoral response of cattle vaccinated against *Campylobacter fetus*. *American Journal of Veterinary Research*. 2002. Vol. 63, No. 4. P. 586–590. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.586>.
12. Truysers I. et al. Diagnosis and management of venereal campylobacteriosis in beef cattle. *BMC Veterinary Research*. 2014. Vol. 10. P. 280. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0280-x>.
13. Schulze F. et al. Identification of *Campylobacter fetus* subspecies by phenotypic differentiation and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 2019–2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02566-05>.
14. OIE (World Organisation for Animal Health). World Animal Health Information System. URL: <https://wahis.oie.int>.
15. Sheppard S. K. et al. *Campylobacter* genotypes from food animals, environmental sources and clinical disease in Scotland 2005/6. *International Journal of Food Microbiology*. 2009. Vol. 134, No. 1–2. P. 96–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.010>.
16. Драгуть С. С. та ін. Випробування експериментальних антигенів (*C. f. ssp. fetus*; *C. f. ssp. venerealis*) для серологічної діагностики кампілобактеріозу жуйних та інших тварин. *Ветеринарна медицина: міжвідом. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 109–115. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/103/2_26.pdf.

DIAGNOSIS OF BOVINE GENITAL CAMPILOBACTERIOSIS USING THE COLD COMPLEMENT FIXATION TEST IN UKRAINIAN FARMS

Kalinichenko T. V., Kutsenko V. A., Bolotin V. I.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

*The article presents information on the relevance of the bovine genital campylobacteriosis problem and, in particular, its serological diagnosis. The results of determining the activity and specificity of the developed campylobacter antigens in the cold complement fixation test (cCFT) with commercial serum (Virion\Serion), as well as with a panel of homo- and heterologous sera are presented. The results of the analysis of the epizootic situation regarding campylobacteriosis among farm animals in Ukraine for 2019–2020 are shown. Serological monitoring for campylobacteriosis using cCFT was conducted in 22 farms from 9 regions of Ukraine. A total of 727 blood serum samples from cattle and sheep were examined. The overall prevalence of positive animals was 5.7% and 12.9% among cattle and sheep, respectively. These results indicate the circulation of *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* and subspecies *fetus* among cattle and sheep, which can cause significant economic losses in farms*

Keywords: epizootic situation, cattle, sheep

4. ЯКІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА. ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 619:615.32.015

DOI [10.36016/VM-2020-106-11](https://doi.org/10.36016/VM-2020-106-11)

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ПРЕПАРАТІВ, ОТРИМАНИХ НА ОСНОВІ ОРГАНІЧНОЇ СИРОВИНИ

Коваленко Л. В.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: larbuko@gmail.com*

Інтенсивний розвиток тваринництва та чинні міжнародні вимоги щодо отримання екологічно безпечної органічної продукції аграрного виробництва обумовлює необхідність пошуку нових засобів захисту здоров'я тварин з використанням природної сировини. У цьому огляді ми прагнемо розкрити напрями отримання таких препаратів, які потенційно можуть бути використані у ветеринарній медицині, а також сучасні засади вивчення їхньої фармакодинаміки. Було проаналізовано доступну літературу за останні 10 років, отриману з опублікованих матеріалів електронних баз даних, таких як PubMed, Web of Science, Springer і Google Scholar. Розглянуто методичні підходи до отримання препаратів із прополісу, різноманітної рослинної сировини, лялечки шовкопряда, комплексних засобів на основі наночасток металів та органічних компонентів. Поряд з цим, висвітлено результати вивчення фармакокінетики вищезазначених засобів *in vitro* та *in vivo*, а також сучасні методи дослідження їхнього біологічного впливу, у тому числі на молекулярному рівні з використанням ПЛР у реальному часі та вестерн-блотингу. Також піднято питання вивчення фармакодинаміки у контексті доклінічних досліджень біологічних і фармакологічних препаратів з урахуванням принципів міжвидової екстраполяції дози та її масштабування. Представлений матеріал може дати нові ідеї для розробки сучасних екологічних засобів захисту тварин і визначення характеристик їхньої фармакодинаміки на біологічних моделях різного рівня

Ключові слова: біологічно активні препарати, прополіс, лялечки шовкопряда, наночастки металів

Інтенсивний розвиток тваринництва та чинні міжнародні вимоги щодо отримання екологічно безпечної органічної продукції аграрного виробництва обумовлює необхідність пошуку нових засобів захисту здоров'я тварин з використанням природної сировини. Однією з основних вимог доклінічних і клінічних випробувань нових біологічно активних засобів як у гуманній, так і у ветеринарній медицині є належне вивчення їхньої фармакодинаміки.

Фармакодинаміка — це наука про дію ліків на організм або на мікроорганізми та інших паразитів. Так, дію препаратів можна вивчати на багатьох організаційних рівнях — субмолекулярному, молекулярному, клітинному, тканинному/органному та організменному, *in vivo*, *ex vivo* та *in vitro* з використанням широкого спектру методів. Для переважної більшості ліків дія на організм значною мірою залежить від хімічної структури, тому дуже незначна зміна, наприклад заміна протона метильною групою, може помітно змінити дію препарату, аж до втрати активності [1].

Як вказують Р. Lees et al. [1], наприкінці XIX століття та в першій половині XX століття визнання цих фактів Джоном Ленглі, Паулем Ерліхом, Генрі Дейлом та іншими забезпечило основу для гіпотези рецепторного сайту дії ліків. Згідно з цими ранніми ідеями, для того, щоб викликати свій ефект, ліки повинні були спочатку поєднатися з конкретною «молекулою-мішенню» або на поверхні клітини, або на внутрішньоклітинній органелі. Невдовзі було встановлено, що «правильна» хімічна структура потрібна для взаємодії лікарського засобу з

ділянкою-мішенню (і подальшої фармакологічної відповіді). Крім того, з цього постулату щодо специфічності хімічної структури розвинулася не лише сучасна наука фармакологія, а й токсикологія.

У цілому біологічно активні препарати можуть впливати на багато цільових молекул у багатьох тканинах. Ці дії можуть призвести до первинних реакцій, які, у свою чергу, можуть індукувати вторинні реакції, які можуть посилити або послабити первинну реакцію. Тому заведено досліджувати фармакодинаміку лікарських засобів насамперед на молекулярному, клітинному та тканинному рівнях *in vitro*, щоб основні ефекти можна було краще зрозуміти без складнощів, пов'язаних із дослідженнями цілих тварин [1]. У цьому огляді ми прагнемо розкрити напрями отримання таких препаратів, які потенційно можуть бути використані у ветеринарній медицині, а також сучасні засади вивчення їхньої фармакодинаміки.

Матеріали та методи. Було проаналізовано доступну літературу за останні 10 років, отриману з опублікованих матеріалів електронних баз даних, таких як PubMed, Web of Science, Springer і Google Scholar.

Результати та їх обговорення. Відкриття нових і ефективних лікувальних засобів із природних джерел було головною точкою інтересу у фармацевтичних дослідженнях через привабливі природні терапевтичні засоби з величезним хімічним різноманіттям видів тварин, рослин і мікроорганізмів [2–12]. Зокрема, понад 60 % сучасних протипухлинних препаратів у тій чи іншій формі походять із природних джерел, рослина та мікробна сировина обирається з урахуванням їхнього складу, екології, фітохімічних та етнофармакологічних властивостей. Рослини та їхні похідні відіграли значну роль у виробництві ефективних протипухлинних засобів. Вважається, що такі фармацевтичні дослідження дадуть альтернативні стратегії розробки ліків за допомогою природних джерел, які можуть бути економічнішими, надійнішими та безпечнішими у використанні.

Звертає на себе увагу поновлення інтересу до дослідження фармакологічних властивостей засобів для підтримання здоров'я тварин, виготовлених з використанням продукції бджільництва [3–5]. L. M. Santos et al. [3] зазначають, що прополіс — це смолиста речовина, що складається зі суміші різних частин рослин і молекул, що виділяються бджолами. Хімічно він визначається як складна матриця, яка містить біологічно активні молекули з антибактеріальною, протигрибковою, протівірусною, протипаразитарною, гепатопротекторною та імуномодуючою дією. Він широко використовується у фармацевтичних продуктах для людей і є одним з найбільш широко використовуваних натуральних продуктів. Однак ефект і сила цих біологічних дій залежать від хімічного профілю та складу кожного типу прополісу. Склад прополісу залежить від місцевої флори, місця і періоду збору, генетики бджіл. Дані літератури вказують на потенційне використання прополісу у ветеринарії та застосування його екстрактів у різних формах. Однак існує невелика кількість запатентованих ветеринарних препаратів на основі прополісу. Автори роблять висновок, що розробка продуктів на основі прополісу є перспективним ринком для використання у тварин. Повідомлялося, що флавоноїди виявляють широкий спектр біологічної активності, включаючи антибактеріальну, протівірусну, протизапальну, протиалергічну та судинорозширювальну дії. Крім того, флавоноїди пригнічують перекисне окислення ліпідів, агрегацію тромбоцитів, а також активність ферментних систем, включаючи циклооксигеназу та ліпоксигеназу [4].

У контексті сучасних неінвазивних методів досліджень фармакологічних властивостей нових препаратів перспективним є використання культур клітин-мішеней для оцінки дії лікувальних засобів, як описано у роботі F. Asgharpour et al. [5]. Було визначено хімічний склад етанольного екстракту іранського прополісу та цитотоксичні ефекти на лінії клітин раку молочної залози людини MCF-7 та фібробластів, а також внутрішньоклітинну здатність до утворення реактивних форм кисню (ROS). В етанольних екстрактах прополісу виявлено високий вміст загальних фенольних сполук і флавоноїдів, зокрема кавову кислоту, кверцетин, хризин, галангін і пінобанксин. Етанольні екстракти прополісу та його компоненти проявляли цитотоксичний ефект щодо клітин MCF-7 та індукували внутрішньоклітинне виробництво активних форм кисню (АФК) залежно від дози. При цьому встановлено синергетичний ефект основних компонентів прополісу, пов'язаний зі збільшенням АФК та інгібуванням проліферації клітин MCF-7 (рис.).

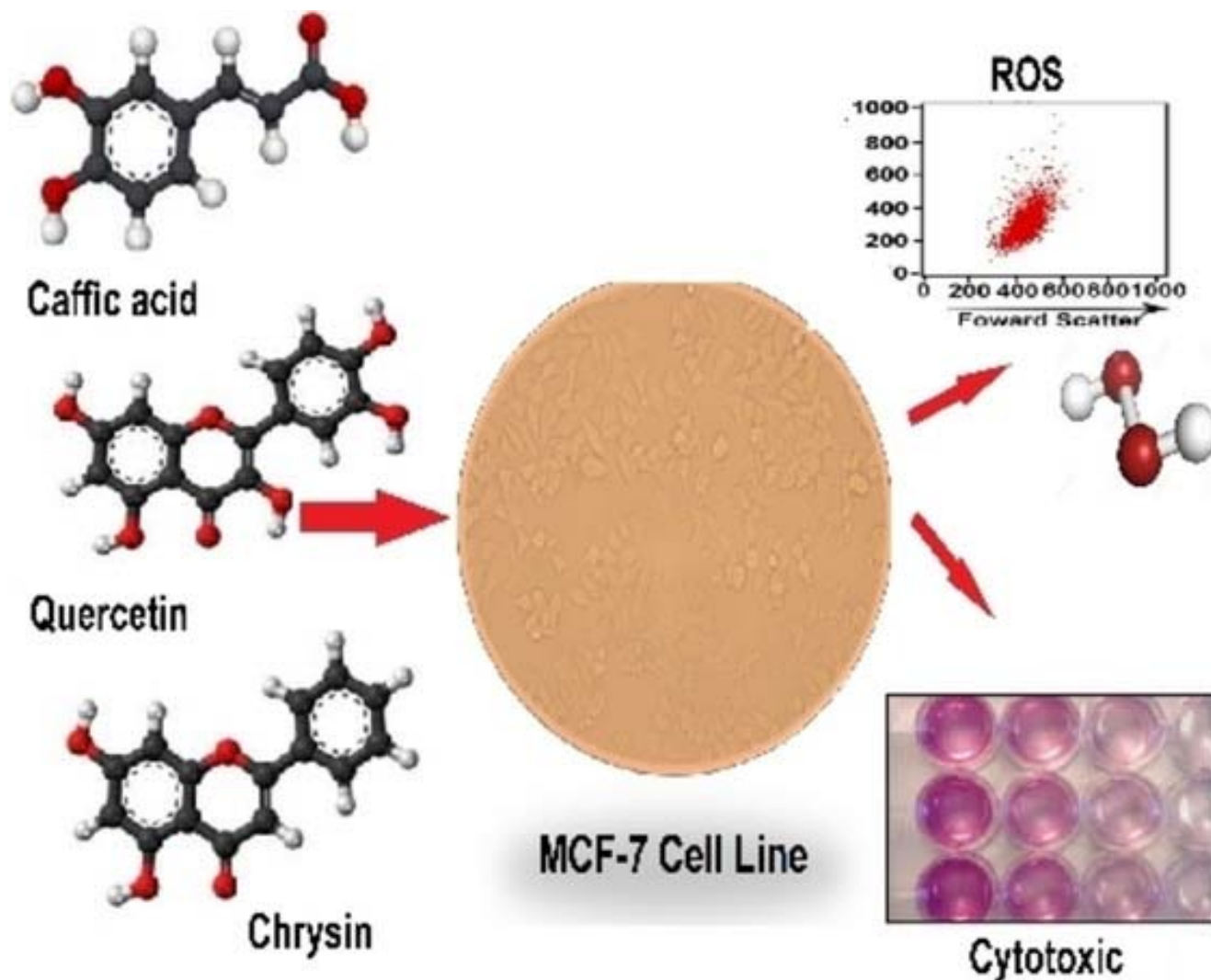


Рис. Схема дослідження дії екстракту прополісу та його складових (кавової кислоти, кверцетину, хризину) щодо продукування реактивних форм кисню (ROS) та цитотоксичності на клітинній лінії раку молочної залози людини MCF-7 [5].

Зазначається, що натуральні сполуки, отримані з лікарських рослин, зробили великий внесок у відкриття багатьох клінічно корисних ліків. Так, рослина *Markhamia*, яка росте у країнах Північної Африки та використовується багатьма культурами в традиційній медицині для людей і ветеринарії [6]. П'ять ідентифікованих видів *Markhamia* були предметом хімічних досліджень, що дозволило отримати характеристики їхніх вторинних метаболітів: фенолпропаноїдних глікозидів, терпеноїдів, фітостеролів, лігнанів, хінонів та флавоноїдів. Як стверджується, вони мають протівірусну, протигрибкову, протипротозойну, безпечну, протизапальну та цитотоксичну дію. Фармакологічні дослідження *in vitro* та *in vivo* підтвердили лікувальні властивості рослин цього роду.

У наших дослідженнях [7–9] проведено вивчення динаміки впливу препарату рослинного походження «Вітастим», виготовленого зі суміші водних екстрактів листя та гілок дубу звичайного (*Quercus robur*) і хвої сосни лісової (*Pinus silvestris*) на організм птиці, експериментально інфікованої низькопатогенним штамом вірусу грипу H4N6. Було встановлено, що розвиток інфекційного процесу супроводжується пригніченням проліферативного потенціалу спленоцитів і зниженням ознак приросту живої маси курчат, у той час як випоювання препарату «Вітастим» зараженій птиці спричиняє стимуляцію лімфопроліферативних процесів у селезінці до 50 % на 10-ту добу дії препарату, а також підвищення живої маси дослідної птиці [7]. За даними ПЛР у реальному часі встановлено підвищення експресії генів цитокінів IL-2, IL-13, IL-17α у периферичній крові. Завдяки імуногістохімічним дослідженням у курчат виявлено вплив фітонутрієнта «Вітастим» на гуморальну систему імунітету шляхом реєстрації високих рівнів IgM,

IgG, IgA та на клітинну імунну систему за інфікування вірусом грипу зі стимуляцією накопичення IL-2, IL-4, IL-17, IFN- γ з нерівномірною тенденцією в різні періоди спостереження [8]. Також під дією фітонутрієнта підвищувався рівень оксиду азоту, який сприяє росту клітин і покращує протівірусну активність [9]. Можна зробити висновок, що отримані дані можуть стати основою для пошуку нових екологічно чистих імунопотенціюючих засобів на основі рослинних екстрактів і з'ясування механізмів їхньої біологічної дії.

У дослідженнях S. H. Lee et al. було оцінено вплив екстракту кориці на параметри імунітету *in vivo* та захист *in vivo* від еймеріозу птахів та встановлено, що у макрофагах підвищувався рівень оксиду азоту, пригнічувався ріст пухлинних клітин і знижувалася життєздатність паразитів *Eimeria tenella* за введення різних доз препарату порівняно з контрольними середовищами. У курей, які отримували раціон з додаванням екстракту кориці у дозі 14,4 мг/кг, рівні транскриптів IL-1 β , IL-6, IL-15 та інтерферону- γ у кишкових лімфоцитах були у 2–47 разів вищими ($P < 0,001$) порівняно з курчатами, які отримували дієту без добавок [10].

Під час тестування фармакологічного ефекту метанольних екстрактів листя та стебел чагарника *Barleria lupulina* Lindl (Барлерія вовча, росте здебільшого в Африці та Південно-Східній Азії) на моделі тварин не було зареєстровано смертності щурів-альбіносів за використання обох видів екстрактів у концентраціях від 200 до 600 мг/кг маси тіла [11]. У той же час, екстракт листя показав кращий результат у реакції аглютинації та зменшенні об'ємів індукованого набряку лапи щурів порівняно з контролем, більш потужні імуностимулюючі та антиоксидантні властивості. Високий вміст фенолу було виявлено в екстрактах стебел, тоді як найнижчі розведення екстрактів листя були активними до поглинання перекисних радикалів *in vitro*.

Під час дослідження ролі фітонутрієнтів у регулюванні імунних і запальних реакцій, зокрема за кишкових бактеріальних і паразитарних інфекцій тварин і птиці, особливу увагу необхідно приділяти основним класам фітохімічних речовин — поліфенолам (особливо проантоціанідинам), компонентам ефірної олії (коричний альдегід, еugenol і карвакрол) і куркуміноїдам (куркумін). Вони можуть індукувати низку імунологічних реакцій, які включають стимулювання виробництва антитіл слизової оболонки та антимікробних пептидів у поєднанні з сильним пригніченням запальних цитокінів та активних форм кисню [12]. Незважаючи на те, що було досягнуто певних успіхів у вивченні механізмів їхньої біоактивності, як саме ці фітонутрієнти модулюють імунну відповідь у кишечнику залишається здебільшого невідомим. У контексті фармакодинаміки перспективним є вивчення взаємозв'язку між метаболізмом дієтичних фітонутрієнтів, кишковою мікробіотою та імунною системою слизової оболонки, що дозволить раціонально розробляти нові дієтичні добавки для сприяння здоров'ю тварин.

Ще одним сучасним напрямом фармакологічних досліджень є вивчення прямої дії рослинних препаратів на збудників інфекційних хвороб тварин, що актуалізується зростаючою проблемою їхньої резистентності до ліків. Тому пошук нових препаратів з натуральних продуктів, які могли б увійти в клінічну практику, з меншою резистентністю, меншою кількістю небажаних ефектів і різними механізмами дії, є вкрай необхідним, щоб подолати бар'єри для розробки нових протівірусних препаратів, які, у свою чергу, прокладуть шлях для ефективного та безпечного лікування, зокрема герпесвірусної інфекції [13]. Різноманітні протівірусні сполуки отримано з різних джерел природного походження (рослин, морських організмів, мікробних джерел, видів лишайників, комах і грибів) та досліджено фармакологічні властивості великої кількості фенольних сполук, алкалоїдів, терпеноїдів, полісахаридів, пептидів *in vitro* та *in vivo*. J. Trembl et al. вказують, що ці біологічно активні природні продукти можна також використовувати як шаблони для подальшої розробки протівірусних препаратів та вивчення механізмів їхньої дії.

Результати досліджень R. Kumari et al. [11] розкривають не лише активність прямої антибактеріальної дії рослинного препарату, а й важливість частин *Barleria lupulina* Lindl, які використовуються для екстракції. Дослідники у порівняльному аспекті вивчали фармакологічні властивості метанольних екстрактів листя та стебел та встановили, що екстракт листя містить більше розчинних біологічно активних сполук, які пригнічують ріст п'яти бактеріальних патогенів, а саме *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* та *Salmonella typhi*, навіть за низьких концентрацій (1,25 та 2,5 мг/см³). Прямий

антибактеріальний вплив встановлено також і за застосування розробленого на основі голок сосни та листя дубу препарату «Вітастим» [8].

Вважають, що більшість антибактеріальних властивостей ефірних олій чебрецю та орегано зі сімейства трав'янистих рослин *Lamiaceae* пов'язано з їхніми біоактивними ізомерними монотерпеноїдними компонентами, карвакролом і тимолом. Комерційно доступні антибіотики на основі тимолу або карвакролу ще не розроблені, але продукти для здоров'я включають тимол у свої рецептури через його антимікробні властивості. Карвакрол і тимол, як правило, вважаються безпечними для споживання, їх схвалили як харчові ароматизатори та вважають антибактеріальними добавками в їжі та кормах [14]. Багато досліджень показали, що карвакрол і тимол є потужними антибактеріальними агентами як проти грам позитивних, так і грам негативних бактерій. Механізм антибактеріальної дії обох ізомерів включає руйнування бактеріальної мембрани, що призводить до лізису бактерій і витоку внутрішньоклітинного вмісту, що призводить до смерті. Інші запропоновані механізми антибактеріальної дії включають інгібування ефлюксних насосів, запобігання утворенню та руйнуванню попередньо сформованих біоплівки, інгібування бактеріальної рухливості та мембранних АТФаз. Крім того, було виявлено, що обидва ізомери діють адитивно або синергетично зі звичайними антибіотиками, що важливо для подолання проблеми стійкості бактерій-контамінантів кормів і збудників хвороб.

З метою пошуку біологічно активних сполук дослідники продовжують звертати свою увагу на екстракти комах на різних стадіях їхнього розвитку, у тому числі лялечки шовковичного шовкопряда, які є відходом за виробництва шовку.

Під час вивчення складу олії з лялечки шовкопряда встановлено, що вона багата ненасиченими жирними кислотами, включаючи пальмітолеїнову кислоту (63,4 г/кг), олеїнову кислоту (249,1 г/кг), лінолеву кислоту (47,0 г/кг) і ліноленову кислоту (337,8 г/кг). Застосування препарату дозволило зменшити площу виразки шлунка, шлункову секрецію та підвищити рН шлунка мишей в експерименті [15]. У сироватці крові зафіксовано підвищення активності антиоксидантної супероксиддисмутази (SOD), каталази (CAT), глутатіонпероксидази (GSH-Px), соматостатину (SST) ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) і вазоактивного інтестинального пептиду (VIP), а також зниження рівнів прозапальних цитокінів (IL-6, IL-12), фактора некрозу пухлини (TNF- α), інтерферону- γ (IFN- γ) та активності індукційної синтази оксиду азоту (iNOS).

Також виявлено позитивний вплив олійного екстракту лялечки шовкопряда та її основного компонента — α -ліноленової кислоти на метаболізм холестерину та його регуляцію з використанням ПЛР у реальному часі та вестерн-блотингу для аналізу рівнів експресії споріднених генів і білків. Дані показали, що препарати залежно від дози знижували внутрішньоклітинний загальний холестерин і підвищували загальну кількість жовчних кислот. Вони також можуть сприяти виведенню холестерину шляхом посилення секреції жовчних кислот і активації низки генів (LXR α , PPAR γ , ABCA1, ABCG1 і CYP7A1), які регулюються сигнальними шляхами ядерного рецептора LXR α /PPAR γ -ABCA1/ABCG1-CYP7A1 [16].

У досліджах на телятах було встановлено посилення функціональної активності нейтрофілів крові та комплементарної активності сироватки крові за застосування водного екстракту лялечки шовковичного шовкопряда, що свідчить про стимуляцію неспецифічної ланки імунітету [17].

Нещодавно з'явилися та швидко розвиваються, зокрема у галузі біотехнології, медицини та ветеринарної медицини, нанонаука та нанотехнології [18–22]. Наночастинки використовуються як інструменти для діагностичних цілей і як інструмент для доставки терапевтичних агентів до конкретних цільових ділянок у контрольованих умовах. За типом використовуваних матеріалів наночастинки можна класифікувати як органічні (міцели, ліпосоми, наногелі та дендримери) і неорганічні (включаючи наночастинки золота (GNP), суперпарамагнітні наноматеріали оксиду заліза (SPION), квантові точки (QD) і парамагнітні іони лантанодів). Дослідження фармакокінетики, метаболізму, проникності, розподілу та елімінації наночастинок мають важливе значення для розуміння їхньої ефективності, порогу токсичності та підтвердження безпечного використання для людей і тварин [18].

У цьому контексті важливим є доклінічне дослідження препаратів — етап створення ліків, який включає комплекс дослідницьких процедур та операцій з визначення нешкідливості й

специфічної активності з метою одержання дозволу на їх клінічні випробування з подальшим впровадженням препаратів у промислове виробництво та практику. Воно передбачає стеження, виправлення, конструювання та контроль над біологічними системами організму на молекулярному рівні за допомогою розроблених нанопристроїв і наноматеріалів, що дають змогу забезпечувати діагностику, лікування, профілактику захворювань [19].

Для практичної ветеринарної медицини велике значення має також розробка імуномодуючих засобів, які дають можливість посилення лікувального ефекту та профілактики цілого ряду патологічних станів тварин, і наночастки можуть бути використані як компоненти пробіотиків, вакцин, поживних середовищ тощо. У ННЦ «ІЕКВМ» розроблено та проведено комплекс доклінічних досліджень на білих щурах і курчатах комплексного нанометалоглобулінового препарату на основі глобулінів сироватки крові та пробіотиків з додаванням аквахелатів наночасток Феруму та солей [20, 21].

Було встановлено, що застосування препарату позитивно впливає на гематологічні параметри крові дослідної птиці, підвищуючи концентрацію гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, а також активність неспецифічного імунітету, про що свідчило підвищення рівня загального білка та циркулюючих імунних комплексів середньої молекулярної маси. Застосування препарату обумовлює підвищення рівня забезпеченості організму дослідної птиці залізом, зокрема коефіцієнт насиченості трансферину залізом упродовж періоду дослідження у птиці 1-ї групи був підвищеним на 28,7–34,3 %. Було доведено, що після введення препарату послаблюється супресивний вплив живої вакцини проти ньюкаслської хвороби на гуморальну ланку імунітету — рівень Sm у птиці дослідної групи порівняно з показниками курчат контрольної групи був нижчим на 10,0, 8,6 і 25,0 % на 10-ту, 20-ту та 30-ту доби після щеплення відповідно. Також інтенсивність експресії генів IL-2 та IL-17 у курчат дослідної групи була максимально підвищеною у 20,7 раза та у 2,4 раза відповідно. Отримані нами дані свідчать про виражений імуномодуючий вплив комплексного нанометалоглобулінового препарату на стан вродженого імунітету птиці, що сприяє посиленню синтезу специфічних поствакцинальних антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби: їхній рівень у птиці дослідної групи перевищив показники групи контролю на 14,3–25,7 % упродовж терміну досліджень [21, 22].

В Україні проведено цілу низку досліджень щодо фармакологічних властивостей хелатів органічного походження — аквацитратів наночастинок Германію. Парентеральне введення експериментального препарату щурам і курчатам зумовлює активізацію факторів неспецифічної резистентності тварин, що проявляється у підвищенні вмісту циркулюючих імунних комплексів, активності лізоциму та каталази, зниженні рівня серомукоїдів і гальмуванні процесів перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові [23].

У дослідженнях М. І. Храбко зі співавт. (2017) також констатовано підвищення вмісту імуноглобулінів у 1,73–2,45 раза, циркулюючих імунних комплексів — до 3 разів, сіалових кислот — в 1,59 раза, зниження вмісту молекул середньої маси на 6–17 % та кількості тромбоцитів на 22–39 % під дією аквацитратів наногерманію [24]. Біологічна дія цитратів Ge зумовлювала підвищення вмісту у крові альбуміну, креатиніну, триацилгліцеролів, а також активності АсАТ на тлі зниження рівня альбуміну, триацилгліцеролів і кальцію. Також у щурів, які отримували цитрат наногерманію виявлено вищий рівень детоксикаційного потенціалу їхнього організму [25].

Оригінальні дослідження проведені М. Thiruvengadam et al., які у рамках «зеленої» хімії синтезували наночастки купруму з ацетату купруму за участі органічних компонентів водних екстрактів квітки *Millettia pinnata*, яка містить багато активних фітохімічних біологічно активних речовин, таких як сапоніни, фенольні сполуки, фітостероли та хініни. Біологічно синтезовані частинки купруму (Cu-NP) були надзвичайно міцними, сферичними зі середнім розміром у діапазоні $23 \pm 1,10$ нм. Вони продемонстрували підвищену активність поглинання вільних радикалів і оксиду азоту у дослідах *in vitro*, дезінфекційний потенціал щодо грамнегативних і грампозитивних бактерій, а також значну протизапальну активність [26].

Для вивчення фармакодинаміки та доклінічних досліджень новостворених біологічних і фармакологічних препаратів важливим є принцип міжвидової екстраполяції дози, її масштабування, яке необхідно в трьох основних ситуаціях: очікування перших доз для людини для клінічних випробувань, екстраполяція дози у ветеринарній практиці та екстраполяція дози

для експериментальних цілей [27]. У зв'язку з цим було розроблено низку підходів до моделювання, які поєднують моделювання *in silico* (за допомогою комп'ютерного моделювання) з даними, отриманими *in vitro* та/або *in vivo*. Ліки, які навряд чи піддадуться простому алометричному вимірюванню кліренсу або дози, включають препарати, які сильно зв'язуються з білками, які піддаються екстенсивному метаболізму та активному транспорту, засоби, мішені яких підлягають міжвидовим відмінностям у експресії, спорідненості та розподілі. Одним з перспективних підходів до вирішення цієї проблеми є створення експериментальних моделей (мишей), яким прищеплені функціональні тканини та клітини інших видів. У сучасних біомедичних дослідженнях використовуються гуманізовані миші. Ці дослідження включають імунологію, вивчення фірмакодинаміки і фармакокінетики ліків і нейронауку, а також інфекційні захворювання, у тому числі й ті, що перебігають зі синдромом імунодефіциту [28, 29].

Висновки. Результати аналітичного огляду сучасних наукових джерел у галузі біології, гуманної та ветеринарної медицини свідчать, що в основі отримання препаратів зі сировини органічного походження лежать різні методичні підходи, спрямовані на максимальне виділення біологічно активних сполук. Вивчення фармакокінетики препаратів з прополісу, рослинної сировини, лялечки шовкопряда, комплексних засобів на основі наночасток металів та органічних компонентів засобів здійснюється з використанням сучасних методів досліджень, у тому числі на молекулярному рівні з використанням ПЛР у реальному часі та вестерн-блотингу. Представлений матеріал може бути інформативним для розробки сучасних екологічних засобів захисту тварин і визначення характеристик їхньої фармакокінетики на біологічних моделях різного рівня *in vitro* та *in vivo*.

Список літератури

1. Lees P., Cunningham F. M., Elliott J. Principles of pharmacodynamics and their applications in veterinary pharmacology. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2004. Vol. 27, No. 6. P. 397–414. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00620.x>.
2. Asma S. T. et al. Natural products/bioactive compounds as a source of anticancer drugs. *Cancers (Basel)*. 2022. Vol. 14, No. 24. P. 6203. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14246203>.
3. Santos L. M. et al. Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2020. Vol. 100, No. 4. P. 1369–1382. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10024>.
4. Viuda-Martos M. et al. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*. 2008. Vol. 73, No. 9. P. R117–R124. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x>.
5. Asgharpour F. et al. Applying GC-MS analysis to identify chemical composition of Iranian propolis prepared with different solvent and evaluation of its biological activity. *Caspian Journal of Internal Medicine*. 2020. Vol. 11, No. 2. P. 191–198. DOI: <https://doi.org/10.22088/cjim.11.2.191>.
6. Ibrahim M. B. et al. Review of the phytochemical and pharmacological studies of the genus *Markhamia*. *Pharmacognosy Reviews*. 2016. Vol. 10, No. 19. P. 50–59. DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.176547>.
7. Коваленко Л. В. та ін. Проліферативна активність спленоцитів курчат при низькопатогенному грипі та застосуванні препарату «Вітастим». *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. 2012. Вип. 14, № 3, ч. 1. С. 94–98. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnu_2012_14_3\(1\)_21](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnu_2012_14_3(1)_21).
8. Kovalenko L. V. et al. Effect of phytonutrient 'Vitastim' on chicken mucosal immunity against Low pathogenic avian influenza virus H4N6. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2018. Vol. 4, No. 2. P. 17–24. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/jvmbb_2018_4_2_6.
9. Коваленко Л. В. Влияние препарата «Витасти́м» на синтез оксида азота при низкопатогенном гриппе птиц. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2014. Вип. 28, ч. 2: Ветеринарні науки. С. 579–582. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2014_28\(2\)_131](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2014_28(2)_131).
10. Lee S. H. et al. Cinnamaldehyde enhances *in vitro* parameters of immunity and reduces *in vivo* infection against avian coccidiosis. *British Journal of Nutrition*. 2011. Vol. 106, No. 6. P. 862–869. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114511001073>.
11. Kumari R. et al. Antibacterial, antioxidant and immuno-modulatory properties in extracts of *Barleria lupulina* Lindl. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Vol. 17, No. 1. P. 484. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1989-4>.
12. Williams A. R. et al. Dietary phytonutrients and animal health: regulation of immune function during gastrointestinal infections. *Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 98, No. 4. P. skaa030. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa030>.
13. Trembl J. et al. Natural products-derived chemicals: breaking barriers to novel anti-HSV drug development. *Viruses*. 2020. Vol. 12, No. 2. P. 154. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12020154>.
14. Kachur K., Suntres Z. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020. Vol. 60, No. 18. P. 3042–3053. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>.

15. Long X. et al. Protective effect of silkworm pupa oil on hydrochloric acid/ethanol-induced gastric ulcers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019 Vol. 99, No. 6. P. 2974–2986. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9511>.
16. Luo Y. et al. Regulation mechanism of silkworm pupa oil PUFAs on cholesterol metabolism in hepatic cell L-02. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2020. Vol. 100, No. 4. P. 1418–1425. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10115>.
17. Трокоз В. О. Деякі показники неспецифічного імунітету та їх корекція у телиць біологічно активним екстрактом із лялечок шовкопряда. *Біологія тварин*. 2010. Т. 12, № 2. С. 431–435. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2010_12_2_73.
18. Taneja P. et al. Advancement of nanoscience in development of conjugated drugs for enhanced disease prevention. *Life Sciences*. 2021. Vol. 268. P. 118859. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118859>.
19. Стравський Я. С. та ін. Доклінічне дослідження наночастинок феруму. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 17–24. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2020.i4.11732>.
20. Руденко О. П. та ін. Вплив комплексного нанометалоглобулінового препарату на гемопоез і білоксинтезуючу функцію печінки щурів. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2014. Вип. 99. С. 129–132. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2014_99_40.
21. Коваленко Л. В. та ін. Вплив комплексного пробіотично нанометалоглобулінового препарату на рівень показників неспецифічної резистентності курчат. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 335–339. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/103/6_81.pdf.
22. Коваленко Л. В., Солодянкін О. С. Корекція вродженого імунітету інтактних та щеплених проти ньюкаслської хвороби курчат з використанням пробіотичного нанометалоглобулінового препарату. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2018. № 3(73). С. 31. DOI: <https://doi.org/10.31548/dopovid2018.03.031>.
23. Коваленко Л. В. Оцінка стимулюючої дії наноаквахелатів германію на природну резистентність тварин. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2012. Вип. 172, ч. 1. С. 203–209.
24. Федорук Р. С., Храбко М. І., Долайчук О. П. Вплив цитрату германію на імуніфізіологічну активність організму щурів. *Фізіологічний журнал*. 2017. Вип. 63, № 2. С. 65–72. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz63.02.065>.
25. Храбко М., Федорук Р., Храбко М. Метаболічні процеси в організмі самців щурів F1 у період вигоювання «Наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2017. Вип. 75. С. 158–166. DOI: <https://doi.org/10.30970/vlubs.2017.75.18>.
26. Thiruvengadam M. et al. Synthesis, characterization and pharmacological potential of green synthesized copper nanoparticles. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2019. Vol. 42, No. 11. P. 1769–1777. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02173-y>.
27. Sharma V., McNeill J. H. To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation. *British Journal of Pharmacology*. 2009. Vol. 157, No. 6. P. 907–921. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00267.x>.
28. Fujiwara S. Humanized mice: a brief overview on their diverse applications in biomedical research. *Journal of Cellular Physiology*. 2018. Vol. 233, No. 4. P. 2889–2901. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26022>.
29. Marsden M. D. Benefits and limitations of humanized mice in HIV persistence studies. *Retrovirology*. 2020. Vol. 17, No. 1. P. 7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12977-020-00516-2>.

CONTEMPORARY ASPECTS OF THE STUDY OF THE PHARMACODYNAMICS OF DRUGS OBTAINED ON THE BASE OF ORGANIC RAW MATERIALS

Kovalenko L. V.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

The intensive development of animal husbandry and the current international requirements for obtaining ecologically safe, organic foods of agricultural production determine the need to find new means of animal health protection using natural raw materials. In this review, we aim to reveal the directions for obtaining such drugs that can potentially be used in veterinary medicine, as well as the modern principles of studying their pharmacodynamics. The available literature for the past ten years obtained from the electronic databases, such as PubMed, Web of Science, Springer, and Google Scholar has been analyzed. Methodical approaches to obtaining preparations from propolis, various plant raw materials, silkworm pupae, complex products based on metal nanoparticles and organic components have been considered. Along with this, the results of studying the pharmacokinetics of the above mentioned drugs in vitro and in vivo, as well as modern methods of studying their biological effects, including the molecular level using RT-PCR and western blotting, have been highlighted. The issue of studying pharmacodynamics in the context of preclinical studies of biological and pharmacological drugs, taking into account the principles of interspecies extrapolation of dose and its scaling, has also been raised. The presented material can provide new ideas for modern ecological means for animal protection development and determination of their pharmacodynamics characteristics on biological models of different levels

Keywords: *biologically active drugs, propolis, silkworm pupae, metal nanoparticles*

УДК 637.524.5.05/.07:578/579

DOI 10.36016/VM-2020-106-12

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНА ОЦІНКА КОВБАСИ ВАРЕНО-КОПЧЕНОЇ «МОСКОВСЬКА» РІЗНИХ ТОРГОВИХ МАРОК**Хімич М. С., Родіонова К. О., Горобей О. М., Безкоровайна А. Р.***Одеський державний аграрний університет, Одеса, Україна, e-mail: khimichms@gmail.com*

Метою роботи було проаналізувати відповідність показників якості варено-копченої ковбаси вищого сорту «Московська» різних виробників вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови». Об'єктом досліджень слугували зразки варено-копченої ковбаси вищого сорту «Московська» різних вітчизняних торговельних марок: «Алан», «Добров», «Премія» та «Ковбасна столиця», відібрані шляхом контрольної закупки у торговельній мережі міста Одеси. Усього було досліджено 20 зразків варено-копчених ковбас — по 5 зразків від кожної торгової марки. Відбір зразків і органолептичну оцінку ковбасних батонів проводили відповідно до ДСТУ 4823.2:2007; визначення компонентів хімічного складу — за допомогою експрес аналізатора FoodScan, мікробіологічні дослідження — згідно ДСТУ ISO 4833:2006, ГОСТ 30518-97, ГОСТ 29185-91, ГОСТ 10444.2-94, ДСТУ EN 12824-2004, ДСТУ ISO 11290-2:2003. За результатами аналізу органолептичних показників ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби ТМ «Алан» (29,8 бала), «Добров» (29,6 бала) та «Премія» (29,5 бала) відповідали вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови». Натомість вироби ТМ «Ковбасна столиця» отримали оцінку 24,8 балів і не відповідали вимогам стандарту за зовнішнім виглядом і розміром шматочків сала. За результатами аналізу показників хімічного складу ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби ТМ «Алан», «Добров» і «Премія» відповідали вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови». Натомість ковбаса ТМ «Ковбасна столиця» не відповідала вимогам національного стандарту за вмістом масової частки вологи (вище на 4,71 %) і масової частки білка (нижче на 2,28 %). За результатами аналізу мікробіологічних показників ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби всіх торгових марок відповідали вимогам національного стандарту. Таким чином, узагальнюючи результати проведених досліджень і даних, отриманих іншими науковцями, вважаємо, що проблема відповідності показників якості та безпечності варено-копчених ковбас вищого ґатунку до вимог ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови» потребує постійного моніторингу.

Ключові слова: органолептичні показники, хімічний склад, мікробіологічні показники

Український ринок ковбасних виробів попри всі економічні складнощі, продовжує демонструвати досить стабільний розвиток. Одним з факторів, що позитивно впливають на стійкість ринку, є те, що ковбасні вироби є важливою складовою харчування українців і традиційно використовуються в українській кулінарії [1, 5].

Крім того, сьогодні вітчизняні виробники все більш активно виходять зі своєю продукцією на ринки інших країн, поступово нарощуючи свої експортні можливості, чому сприяє широкий і різноманітний асортимент ковбасних виробів і м'ясних делікатесів, який задовольняє смаки різних споживачів [5, 6].

Але, розширення різноманіття асортименту ковбасних виробів, тісно пов'язано з використанням у технологічній рецептурі замінників традиційної м'ясної сировини і різноманітних харчових добавок. Нажаль сьогодні данні чисельних дослідників свідчать, що до 80 % вітчизняних ковбасних виробів, представлених на ринку, фальсифіковані за одним чи кількома показниками якості [2–4, 7–12].

Мета роботи. Проаналізувати відповідність показників якості варено-копченої ковбаси вищого сорту «Московська» різних виробників вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови».

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень слугували зразки варено-копченої ковбаси вищого сорту «Московська» різних вітчизняних торгівельних марок: «Алан» (ТОВ «Алан», м. Дніпро), «Добров» (ТОВ «М'ясна фабрика «Фаворит плюс»», смт Слобожанське, Дніпровський район, Дніпропетровська область), «Ковбасна столиця» (ТОВ «ВП Рогатинський м'ясокомбінат», м. Харків) і «Премія» (ТОВ «М'ясокомбінат Ювілейний», смт Слобожанське, Дніпровський район, Дніпропетровська область), відібрані шляхом контрольної закупки у торгівельній мережі міста Одеси («АТБ», «Копійка», «Сільпо»). Усього було досліджено 20 зразків варено-копчених ковбас — по 5 зразків від кожної торгової марки (далі — ТМ).

Дослідження проводили впродовж осені 2020 р. на базі Багатопрофільної лабораторії факультету ветеринарної медицини Одеського державного аграрного університету.

Відбір зразків і органолептичну оцінку ковбасних батонів проводили відповідно до ДСТУ 4823.2:2007; визначення компонентів хімічного складу (масова частка вологи, білка, жиру, натрію хлориду) — за допомогою експрес аналізатора FoodScan. Мікробіологічні дослідження проводили за стандартними методиками визначаючи КМАФАнМ (згідно ДСТУ ISO 4833:2006), наявність БГКП колиформні бактерії (згідно ГОСТ 30518-97), сульфиторедакуючих клостридій (згідно ГОСТ 29185-91), стафілококів (згідно ГОСТ 10444.2-94), сальмонел (згідно ДСТУ EN 12824-2004) та лістерій (згідно ДСТУ ISO 11290-2-2003).

Результати досліджень. На першому етапі наших досліджень провели аналіз пакування ковбасних виробів — термоусадкової плівки. Плівка щільно трималась на ковбасному батоні, бульйону та жирових напливів під плівкою не виявлено, шви рівні та герметичні. Після розпакування оглядали ковбасні батони. Установлено, що батони ковбас прямі, довжиною $15 \pm 1,2$ см («Алан», «Добров» і «Премія») і $30 \pm 2,06$ см («Ковбасна столиця»), без плям, злипів, пошкодження оболонки та напливів фаршу. Батони ковбас трьох торговельних марок («Алан», «Добров» і «Премія») мали чисту суху поверхню, натомість один з батонів ТМ «Ковбасна столиця» був значно зволожений, а в середині упаковки залишилася незначна кількість ($2,1 \pm 0,15$ см³) прозорої коричневої рідини (рис. 1). Також після зняття з батону ковбаси етикетки відмічали її забруднення (рис. 2).



Рис. 1. Ковбаса «Московська» ТМ «Ковбасна столиця», звільнена від вакуумної упаковки.



Рис. 2. Ковбаса «Московська» ТМ «Ковбасна столиця»: батон і зворотна (прилегла до батону) сторона етикетки.

Після зовнішнього огляду розрізали батони ковбас і визначали їхню консистенцію, колір фаршу, запах і смак. За результатами оцінки встановлено, що консистенція ковбасних батонів ТМ «Алан» щільна, пружна, фарш на розрізі темно-червоного кольору, без сірих плям, порожнин і містить рівномірно розподілені пружні шматочки сала розміром до 6 мм; запах і смак приємні, з ароматом копчення, прянощів, у міру солоні, злегка гострі.

Органолептика батонів ковбас ТМ «Добров» виявила їхню щільну консистенцію, світло-червоний колір фаршу з рівномірно розподіленими пружними шматочками сала розміром до 5 мм, приємний запах з вираженим ароматом прянощів і копчення, у міру солоний, злегка гострий смак. Дослідження виробів ТМ «Ковбасна столиця» встановило, що консистенція батонів пружна, фарш на розрізі світло-червоного кольору, без сірих плям, з поодинокими невеличкими порожнинами. Фарш містить м'які, різні за розміром (5–10 мм) шматочки сала (рис. 3). Запах і смак продукту характеризує надто виражений і не дуже приємний запах копчення, смак у міру солоний. Дослідження органолептичних показників ковбаси ТМ «Премія»

встановило, що ковбасний батон має щільну консистенцію, колір фаршу на розрізі темно-червоний, без сірих плям і порожнин, з не рівномірно розподіленими пружними шматочками сала розміром до 5 мм, запах і смак приємні, злегка гострі з вираженим ароматом прянощів і копчення, смак пряний у міру солоний.

Під час визначення органолептичних показників кожен з дослідних зразків було оцінено за п'ятибальною шкалою. Узагальнені результати органолептичної оцінки представлені на рис. 4.

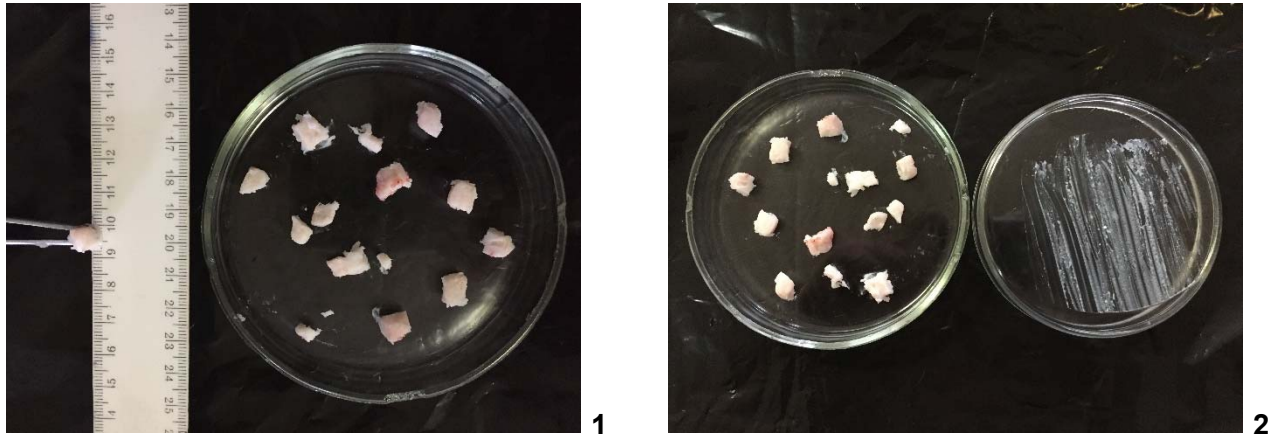


Рис. 3. Шматочки сала ковбаси варено-копченої «Московська» ТМ «Ковбасна столиця»: 1 — розмір шматочків, 2 — консистенція.

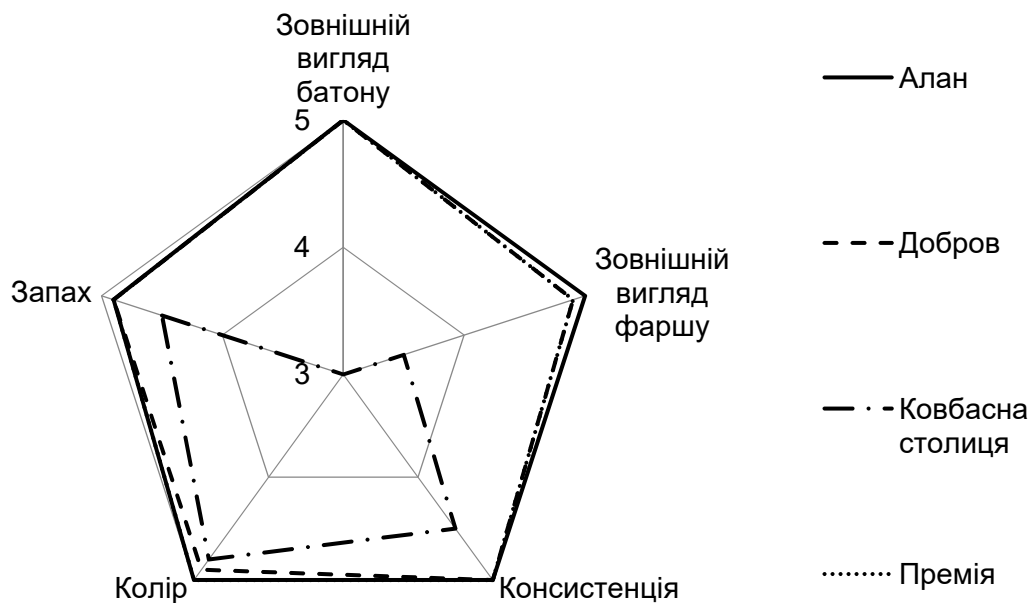


Рис. 4. Результати органолептичної оцінки варено-копченої ковбаси «Московська» різних торгових марок.

З рис. 4 видно, що найвищу оцінку за всіма дослідженими показниками отримала ковбаса варено-копчена «Московська» ТМ «Алан», яка отримала загальну оцінку — 29,8 бала, продукція ТМ «Премія» і ТМ «Добров» також отримали високі оцінки — 29,6 і 29,5 бала відповідно. Натомість ковбаса варено-копчена «Московська» ТМ «Ковбасна столиця», приймаючи до уваги виявлені недоліки, набрала значно нижчу кількість балів — 24,8.

На третьому етапі досліджень визначали масову частку основних компонентів хімічного складу дослідних зразків варено-копчених ковбас (табл. 1).

Таблиця 1 — Показники хімічного складу ковбаси варено-копченої «Московська» різних торгових марок ($M \pm m$, $n = 20$)

Найменування показника	Вимоги ДСТУ	Торгова марка			
		«Алан», $n = 5$	«Добров», $n = 5$	«Ковбасна столиця», $n = 5$	«Премія», $n = 5$
Масова частка вологи, %, не більше ніж	45	43,07 $\pm 0,93$	43,47 $\pm 0,52$	49,71 $\pm 0,25$	45,61 $\pm 0,67$
Масова частка білка, %, не менше ніж	18	18,98 $\pm 1,0$	18,01 $\pm 0,91$	15,72 $\pm 0,26$	22,50 $\pm 0,68$
Масова частка жиру, %, не більше ніж	38	32,20 $\pm 0,98$	33,47 $\pm 0,67$	31,08 $\pm 0,29$	25,59 $\pm 0,67$
Масова частка кухонної солі, %, не більше ніж	5	3,97 $\pm 0,23$	4,63 $\pm 0,32$	2,30 $\pm 0,48$	3,04 $\pm 0,12$

Аналізуючи дані табл. 1, встановлено, що ковбасні вироби ТМ «Алан», «Добров» і «Премія» відповідають вимогам національного стандарту і є якісними. Натомість досліджені зразки ковбаси варено-копченої «Московська» ТМ «Ковбасна столиця» за рядом показників не відповідали вимогам ДСТУ 4591:2006: перевищення вмісту вологи на 4,71 % і зниження масової частки білка на 2,28 %.

За результатами оцінки мікробіологічних показників встановлено (табл. 2), що кількість МАФАНМ у досліджених зразках коливався в межах від $1,3 \pm 0,17 \times 10^2$ до $2,5 \pm 0,21 \times 10^2$ КУО/см³, що відповідає вимогам національного стандарту. Патогенну мікрофлору — БГКП (коліформні бактерії), сульфіторедуруючі клостридії, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* і *L. monocytogenes* у досліджених зразках ковбас не виявляли.

Таблиця 2 — Мікробіологічні показники ковбаси варено-копченої «Московська» різних торгових марок ($M \pm m$, $n = 20$)

Найменування показника	Вимоги ДСТУ	Торгова марка			
		«Алан», $n=5$	«Добров», $n=5$	«Ковбасна столиця», $n=5$	«Премія», $n=5$
Кількість МАФАНМ, КУО/см ³	не більше $1,0 \times 10^3$	$1,3 \pm 0,17 \times 10^2$	$1,7 \pm 0,12 \times 10^2$	$2,5 \pm 0,21 \times 10^2$	$1,5 \pm 0,08 \times 10^2$

Таким чином, узагальнюючи результати проведених досліджень і даних, отриманих іншими науковцями, вважаємо, що проблема відповідності показників якості та безпечності варено-копчених ковбас вищого ґатунку до вимог ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови» потребує постійного моніторингу.

Висновки. 1. За результатами аналізу органолептичних показників ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби ТМ «Алан» (29,8 бала), «Добров» (29,6 бала) та «Премія» (29,5 бала) відповідали вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови». Натомість вироби ТМ «Ковбасна столиця» отримали оцінку 24,8 балів і не відповідали вимогам стандарту за зовнішнім виглядом і розміром шматочків сала.

2. За результатами аналізу показників хімічного складу ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби ТМ «Алан», «Добров» і «Премія» відповідали вимогам ДСТУ 4591:2006 «Ковбаси варено-копчені. Загальні технічні умови». Натомість ковбаса ТМ «Ковбасна столиця» не відповідала вимогам національного стандарту за вмістом масової частки вологи (вище на 4,71 %) і масової частки білка (нижче на 2,28 %).

3. За результатами аналізу мікробіологічних показників ковбаси варено-копченої вищого сорту «Московська» встановлено, що вироби всіх торгових марок відповідали вимогам національного стандарту.

Список літератури

1. Компанія «Про-Консалтинг». Аналіз ковбасних виробів в Україні. 2020 рік. Київ: Компанія «Про-Консалтинг», 2020. 41 с. URL: <https://pro-consulting.ua/ua/issledovanie-rynka/analiz-rynka-kolbasnyh-izdelij-v-ukraine-2020-god>.

2. Богатко Н. М. та ін. Ветеринарно-санітарний контроль безпечності та якості м'ясних продуктів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2017. Т. 19, № 73. С. 7–10. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvvet7302>.
3. Євстаф'єва В. О. та ін. Мікроструктурний аналіз якості ковбасних виробів різних видів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 35, ч. 2, т. 2: Ветеринарні науки. С. 207–211. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2017_35\(2.2\)_51](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2017_35(2.2)_51).
4. Котелевич В. А., Ларіна К. С. Ветеринарно-санітарна оцінка ковбасних виробів у місті Житомир за показниками якості та безпечності. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2020. Т. 22, № 97. С. 112–117. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvvet9718>.
5. Компанія «Про-Консалтинг». Ринок ковбасних виробів України — аналітичний огляд. Київ: Компанія «Про-Консалтинг», 2020. URL: <https://pro-consulting.ua/ua/pressroom/rynok-kolbasnyh-izdelij-v-ukraine-analicheskij-obzor>.
6. Компанія «Про-Консалтинг». Ринок ковбасних виробів в Україні: колечка, палички та інші смачні форми. Київ: Компанія «Про-Консалтинг», 2020. URL: <https://pro-consulting.ua/ua/pressroom/rynok-kolbasnyh-izdelij-v-ukraine-kolechki-palochki-i-drugie-vkusnye-formy>.
7. Скрипка М. В. та ін. Контроль виробництва ковбасних виробів відповідно до вимог державного стандарту. *Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути: тези доп. І міжнародної науково-практичної інтернет-конференції* (Дніпро, 6–7 лютого 2020 р.). Дніпро, 2020. Т. 3. С. 209–214. URL: <http://lib.osau.edu.ua/jspui/handle/123456789/2489>.
8. Старосельська А. Л. Комплексна оцінка якості та безпеки ковбасних виробів і напівфабрикатів січених: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Суми. 2018. 25 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0418U002410>.
9. Ушаков Ф. О. Контроль безпечності та якості ковбасних виробів: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Київ, 2017. 21 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0417U002197>.
10. Хіміч М. С. та ін. Ветеринарно-санітарна оцінка ковбаси вареної вищого сорту «Лікарська». *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2020. Т. 22, № 98. С. 36–41. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvvet9806>.
11. Biletska Y., Perepelytsya A., Bilovska O. Substantiation of the use of the enriched flour made from legumes in the production of sausages. *Technology Audit and Production Reserves*. 2020. Vol. 3, No. 3(53). P. 39–41. DOI: <https://doi.org/10.15587/2706-5448.2020.201101>.
12. Paliy A. P. et al. Microstructural analysis of sausage quality. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 2. P. 404–409. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/microstructural-analysis-of-sausage-quality-54243.html>.

VETERINARY AND SANITARY EVALUATION OF COOKED SMOKED SAUSAGE “MOSKOVSKA” OF DIFFERENT BRANDS

Khimych M. S., Rodionova K. O., Gorobei O. M., Bezkorovaina A. R.
Odesa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

The purpose of the work is to analyze the compliance of quality indicators of cooked-smoked sausage of the highest grade “Moskovska”, of different manufacturers to DSTU 4591:2006 “Cooked smoked sausages. General specifications”. The objects of our research were samples of boiled-smoked sausage of the highest grade “Moskovska” of several domestic brands: “Alan”, “Dobrov”, “Premiia”, and “Kovbasna Stolytsia”, selected by test purchase in the retail network of Odesa. A total of 20 samples of cooked and smoked sausage were examined — 5 samples of each brand. Sampling and organoleptic evaluation of sausage loaves were performed in accordance with DSTU 4823.2:2007; determination of the components of the chemical composition — using an express analyzer FoodScan, determination of microbiological parameters — following DSTU ISO 4833:2006, GOST 30518-97, GOST 29185-91, GOST 10444.2-94, DSTU EN 12824-2004, DSTU ISO 11290-2:2003. According to the results of the analysis of organoleptic parameters of cooked smoked sausages of the highest grade “Moskovska” it has been established that the products of brands “Alan” (29.8 points), “Dobrov” (29.6 points), and “Premiia” (29.5 points) meet the requirements of DSTU 4591:2006 “Cooked smoked sausages. General specifications”. Instead, the products of the brand “Kovbasna Stolytsia” received a score of 24.8 points and do not meet the requirements of the national standard by appearance and size of pieces of lard. According to the results of the analysis of the chemical composition of cooked smoked sausage of the highest grade “Moskovska” it has been established that the products of brands “Alan”, “Dobrov”, and “Premiia” meet the requirements of DSTU 4591:2006 “Cooked smoked sausages. General specifications”. Instead, the sausage of the brand “Kovbasna Stolytsia” do not meet the requirements of the national standard by the content of mass fraction of moisture (higher by 4.71%) and mass fraction of protein (lower by 2.28%). According to the results of the analysis of microbiological indicators of cooked smoked sausage of the highest grade “Moskovska” it has been established that the products of all brands meet the requirements of the national standard. Thus, summarizing the results of our research, we consider that the problem of compliance the quality and safety of cooked and smoked sausage to the requirements of DSTU 4591:2006 “Cooked smoked sausages. General specifications” needs constant monitoring

Keywords: organoleptic parameters, chemical composition, microbiological indicators

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 619:616.98-076:579.882.11:577.2.08

DOI 10.36016/VM-2020-106-13

ПІДБІР ОЛІГОНУКЛЕОТИДНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ З МЕТОЮ ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ *CHLAMYDIA* SPP. ЗА ДОПОМОГОЮ РЕАКЦІЇ АМПЛІФІКАЦІЇ

Павлов С. Л., Стегній Б. Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: psl600@i.ua

У статті представлені результати біоінформатичного аналізу 112 послідовностей оперону 16s-23s рибосомальної РНК різних видів хламідій з метою пошуку консервативних ділянок, що є придатними для конструювання олігонуклеотидних послідовностей та флуоресцентного зонду для їх використання у ПЛР в режимі реального часу. Пошук послідовностей праймерів здійснювали за такою схемою: визначення таргетного гена та аналіз його варіабельності, пошук зон консервативності та обрання оптимальних регіонів для розрахунку праймерів. За результатами досліджень обрано послідовності, що фланкують ділянку довжиною 142 п. н. На підставі поглибленого *in silico* аналізу відповідності праймерів матриці та внутрішньовидової специфічності за допомогою FASTA on-line встановлено придатність для практичного використання двох праймерів та одного зонду для виявлення генетичного матеріалу хламідій різних видів

Ключові слова: хламідіоз, діагностика, ПЛР, праймери

Хламідійні інфекції є актуальною проблемою в багатьох галузях тваринництва. Іншим важливим аспектом цього комплексу захворювань є їхня потенційна зоонозність [1]. З метою діагностики хламідіозів запропоновано ряд тестів, орієнтованих на індикацію збудника (ізоляція в культурах клітин і курячих ембріонах), його антигену чи антитіл до нього (РЗК, ELISA) [2–4].

Розроблювані методики серологічної діагностики не дають можливості проводити пряме виявлення збудника в біоматеріалі, у той час як тривалість і трудомісткість культуральних тестів не дозволяють ефективно та швидко поставити діагноз. Можливості діагностики хламідіозів значно покращилися з впровадженням методів молекулярної діагностики.

ВООЗ та ряд ветеринарних служб різних країн (США, Канада) рекомендують з метою запобігання поширенню збудника проводити контролювання якості сперми (основного фактору передачі збудника) щодо контамінації хламідіями [4, 5]. Загалом ефективність детекції генетичного матеріалу збудників хламідіозів тварин було доведено великою кількістю досліджень щодо ПЛР-скринінгу різноманітних зразків клінічного матеріалу [5–7].

У зв'язку з вищезазначеним, актуальним і необхідним є поглиблене вивчення епізоотологічної ситуації щодо хламідіозу жуйних в Україні, дослідження тварин неблагополучних господарств з проведенням ізоляції збудника від хворих тварин і вивчення його властивостей, створення високоспецифічних тест-систем на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у форматі реального часу, які дозволяють здійснювати раннє виявлення збудника хламідіозів та чинників ймовірних змішаних інфекцій.

Метою роботи було визначити перспективні послідовності консервативних ділянок геному хламідій з метою їх подальшого використання як праймерів у реакції ампліфікації.

Матеріали та методи. Пошук послідовностей праймерів здійснювали за такою схемою: визначення таргетного гена та аналіз його варіабельності, пошук зон консервативності та обрання оптимальних регіонів для розрахунку праймерів.

З метою обрання таргетного гена проводили завантаження вибірок послідовностей основних генів того чи іншого вірусу з баз даних нуклеотидних послідовностей GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Кожну з вибірок аналізували у програмі BioEdit та проводили множинне вирівнювання із застосуванням модулю ClustalW (Boot Strap value = 1 000) [8]. Обрані консервативні ділянки аналізували з огляду на ступінь їхньої варіабельності.

Під час створення праймерних систем для індикації хламідій для розрахунку обирали консервативні ділянки генів, що відповідають за видо- і типоспецифічність, без вираженої варіабельності (ΔH = від 0,00 до 0,40, сукупна варіабельність не більше 2 %). Розрахунок праймерних пар проводився за допомогою програми AmplifX v. 2.4 при параметрах різниці температур плавлення праймерів 3 °C та оцінці якості за здатністю утворювати димери у парі, аутодимери, GC-вміст, GC-вміст 3'-кінця, стабільності 3'-кінця тощо [9]. При цьому розраховані праймери аналізували щодо можливості відпаду на матриці всіх відомих секвенованих послідовностей у тій же програмі.

Пари, що були визначені як комплементарні до матриць, аналізували за допомогою програм BLAST та FASTA (on-line) з метою визначення показників якості та ймовірних перехресних реакцій з неспецифічними ДНК-матрицями (послідовності вірусів, фагів, бактерій, грибів, тварин, людини). Потім обирали 2–3 альтернативні пари з високими показниками якості та внутрішньовидової специфічності.

Результати досліджень. Для вибору перспективних ДНК-мішеней на першому етапі було проаналізовано роботи зарубіжних авторів, присвячених порівнянню повних геномів різних видів хламідій. Також вивчали опубліковані у відкритому доступі повні геноми та гени за допомогою баз даних послідовностей нуклеїнових кислот GenBank та біоінформатичних методів із застосуванням програмного забезпечення BioEdit v. 7.0. Було встановлено, що найбільш перспективним для подальшого дослідження є оперон 16s-23s рибосомальної РНК довжиною 4 857 п. н. [10, 11].

Для подальшого аналізу було завантажено 112 послідовностей зазначеного оперону різних видів хламідій та за допомогою програмного забезпечення BioEdit було здійснено множинне вирівнювання усіх послідовностей (рис. 1).

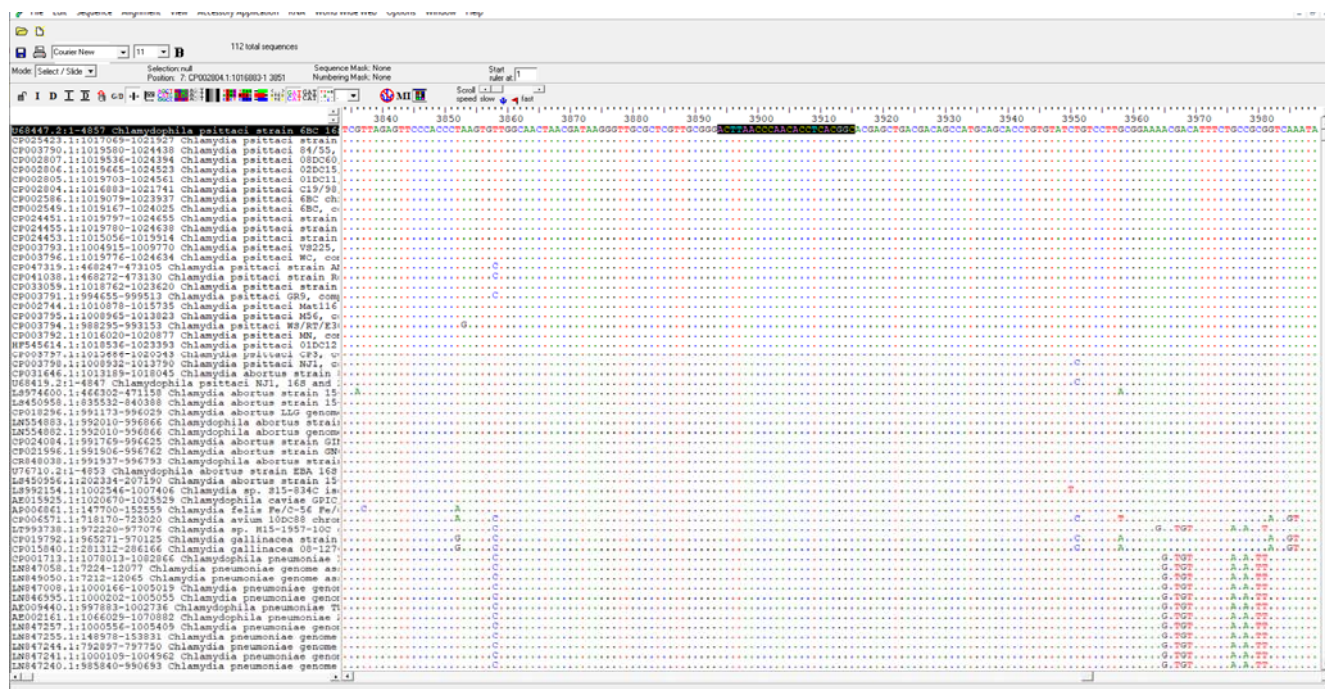


Рис. 1. Множинне вирівнювання послідовностей оперону 16s-23s rRNA *Chlamydia* spp.

Аналіз рівнів ентропії в досліджуваних послідовностях оперону після вирівнювання показав наявність двох загальноконсервативних ділянок. Сумарна ентропія (ΔH) за вказаними локусами не перевищувала 0,2 на позицію. Довжина кожного з регіонів становила від 80 до 321 п. н. (рис. 2).

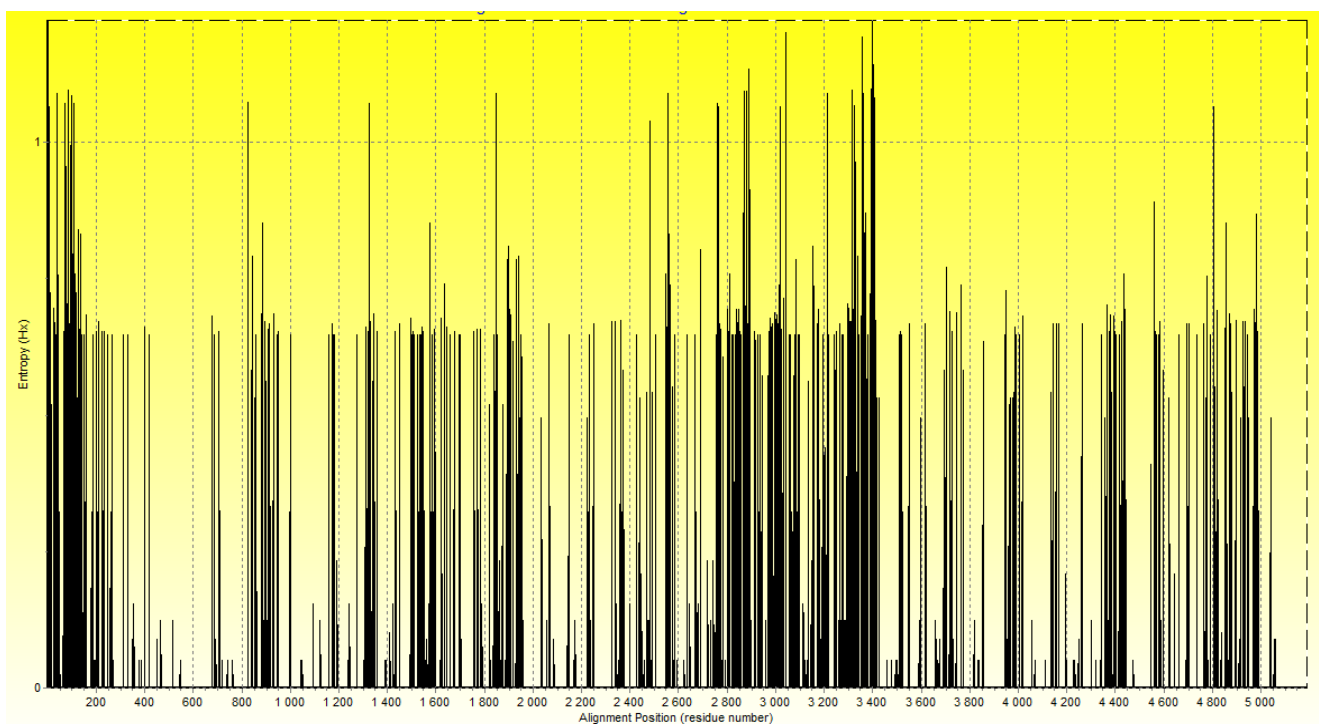


Рис. 2. Аналіз рівня ентропії послідовностей оперону 16s-23s rRNA *Chlamydia* spp.

Для конструювання праймерів було обрано регіон всередині оперону та за допомогою програми AmpliFх методом ітерацій визначили послідовності праймерів на основі їхніх термодинамічних характеристик — температури плавлення та ентальпії (рис. 3).

Sequence	ID	Descriptive name	Owner	L	Q	TM
AGGAGAGAGGCCCAAGGT	Pr0001			20	67	61
AGGAGAGAGGCCCAAGGTGAGGCTGATGACTGGGAT...	Pr0002			86	0	79
TGGCAACTAACGATAAGGGT	Pr0003			20	88	53
CGTTAGAGTTCACCCCTAAGTGT	Pr0006	(64) Fwd		24	97	57
ACGAGCGCAACCCCTATCGTTA	Pr0007	(116) Rev		22	98	58
ATAAGGGCCATGCTGACTGAC	Pr0008	(4) Fwd		22	97	57
ACGAGCGCAACCCCTATCGTTA	Pr0009	(116) Rev		22	98	58
CATAAGGGCCATGCTGACTTGA	Pr0010	(1) Fwd		22	97	57
GCCGTGAGGTGTGGGTTAAGT	Pr0011	(142) Rev		22	95	59

Pr0010

TM	57	Good
GC percent	50	Good
3' end stability	2	Good
polyX	0	Good
Self Dimer	16	Good
Self End Dimer	0	Good

Comments: 2 cas 2020 r.: Primer designed with AmpliFх version 1.7.0 against

Pr0010+Pr0011 (142 nucl., 55%GC)

Speed/Sensitivity:

Amplicon max length: 3000 bp

Run PCR

Рис. 3. Підбір праймерів за аналізу послідовностей оперону 16s-23s rRNA *Chlamydia* spp. у програмному забезпеченні AmpliFх.

Вибір праймерних послідовностей здійснювали таким чином, щоб вони фланкували ділянку від 100 до 150 п. н. та за можливості обрати послідовність зонду в її середині (рис. 4).

General criteria

Primer length (min-max) 18 25

Maximum TM difference 3

Minimum primer quality 80

GC clamp (mini) 0

Number of best primer pairs sorted 100

☐ Amplify the selected region of the target sequence with a max of [] surrounding nucleotides for the search.

or fill (or modify) the fields below:

Search from to or use this primer

Forward primer 1 158 ☐

Reverse primer 100 157 ☐

Amplified fragment size Min 120 157 Max

► Show options

Forward primers				Reverse primers				Amplicons	
Forward primer	Pos.	TM	Q	Reverse primer	Pos.	TM	Q	Le...	Q
ATAAGGGCCATGCTGACTT...	2	59	97	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	130	194
CATAAGGGCCATGCTGACTTGA	1	57	97	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	131	194
TAAGGGCCATGCTGACTTGACG	3	59	95	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	129	192
ATAAGGGCCATGCTGACTT...	2	59	97	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG	131	59	95	130	192
ATAAGGGCCATGCTGACTTGAC	2	57	97	GCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGT	142	59	95	141	192
CATAAGGGCCATGCTGACTTGA	1	57	97	GCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGT	142	59	95	142	192
CATAAGGGCCATGCTGACTTGA	1	57	97	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG	131	59	95	131	192
ATGCTGACTTGAAGTCATCTCT	11	57	93	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	121	190
CATGCTGACTTGAAGTCATCTCT	10	57	93	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	122	190
CCATGCTGACTTGAAGTCATCTCT	9	59	93	TTGGGTTAAGTCCCGCAACGA	131	59	97	123	190

Found 480 Forward primer
Found 169 Reverse primer
Found 3242 primer pairs

Add to Primer List Find

Рис. 4. Розрахунок пар праймерів за результатом опрацювання послідовностей оперону 16s-23s rRNA *Chlamydia* spp. у програмному забезпеченні AmpliFх.

Теоретичний аналіз отриманих пар щодо якості за параметрами утворення вторинних структур і термодинамічними характеристиками скоротив кількість передбачуваних праймерів до чотирьох варіантів.

На підставі поглибленого *in silico* аналізу відповідності праймерів матриці та внутрішньовидової специфічності за допомогою FASTA on-line встановлено придатність для практичного використання двох праймерів та одного зонду для виявлення генетичного матеріалу хламідій різних видів. Розраховані праймери мали температуру плавлення 57 та 59 °C, а фланковані ними фрагменти складали 142 п. н. (рис. 5).

Amplified fragment size: 142 nucl.

GC%: 55%

Suggested annealing temperature: 55°C

Forward primer: Pr0010

Reverse primer: Pr0011

Primer: Pr0010 (1) 5' CATAAGGGCCATGCTGACTTGA 3' (22)

Cible: (3637) 5' CATAAGGGCCATGCTGACTTGA 3' (3658)

Score: 178

TM: 57

Primer: Pr0011[compl.] (22) 3' ACTTAACCCACACCTCACGGC 5' (1)

Cible: (3757) 5' ACTTAACCCACACCTCACGGC 3' (3778)

Score: 178

TM: 59

Speed/Sensitivity: [] Amplicon max length: 3000 bp Run PCR

Рис. 5. Праймери для детекції генетичного матеріалу хламідій, розраховані у програмному забезпеченні AmpliFх.

Таким чином, оптимальними виявилися такі послідовності: прямий праймер Chlam_F 5'-CATAAGGGCCATGCTGACTTGA-3' (Tm = 57,18 °C), зворотній праймер ChlamR 5'-GCCGTGAGGTGTTGGGTAAAGT-3' (Tm = 58,96 °C), які фланкують ділянку, довжиною 147 п. н. та олігонуклеотидний зонд Chlam_Probe 5'-ACGATAAGGGTTGCGCTCGTT-3' (Tm = 59,07 °C), який планується під час синтезу помітити флуоресцентним репортерним барвником FAM і гасителем флуоресценції BHQ1.

Висновок. Проведені біоінформатичні дослідження дозволили сконструювати олігонуклеотидні послідовності та зонд на основі консервативних ділянок для оперону 16s-23s rRNA *Chlamydia* spp. для проведення ПЛР у режимі реального часу з метою виявлення генетичного матеріалу хламідій у зразках біологічного матеріалу тварин. Передбачається застосувати обрані послідовності для наступних випробувань в реакції ампліфікації.

Список літератури

1. Krauss H. et al. Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans. 3rd ed. Washington, USA: ASM Press, 2003. P. 191–193. DOI: <https://doi.org/10.1128/9781555817787.ch2>.
2. OIE (World Organisation for Animal Health). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). 8th ed. Paris: OIE, 2018. 1833 pp.
3. Касич В. Ю., Фотина Т. І. Хламидиоз животных: этиология, распространение на северо-востоке Украины, средства специфической профилактики. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2010. № 3. С. 89–98.
4. Rodolakis A. Yousef Mohamad K. Zoonotic potential of *Chlamydophila*. *Veterinary Microbiology*. 2010. Vol. 140, No. 3–4. P. 382–391. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.014>.
5. De Puyseleir K. et al. Development and validation of a real-time PCR for *Chlamydia suis* diagnosis in swine and humans. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, No. 5. P. e96704. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096704>.
6. Wolff B. J., Morrison S. S., Winchell J. M. Development of a multiplex TaqMan real-time PCR assay for the detection of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae* in human clinical specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2018. Vol. 90, No. 3. P. 167–170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.11.014>.
7. Sachse K. et al. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary Microbiology*. 2009. Vol. 135, No. 1–2. P. 2–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.040>.
8. Tamura K. et al. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2007. Vol. 24, No. 8. P. 1596–1599. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msm092>.
9. Rozen S., Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Misener S., Krawetz S. A. (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press, 2000. P. 365–386. (Methods in Molecular Biology, Vol. 132). DOI: <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:365>.
10. Pantchev A. et al. New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* from tissue samples. *Veterinary Journal*. 2009. Vol. 181, No. 2. P. 145–150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.025>.
11. Okuda H. et al. Detection of *Chlamydia psittaci* by using SYBR green real-time PCR. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2011. Vol. 73, No. 2. P. 249–254. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0222>.

SELECTION OF OLIGONUCLEOTIDE SEQUENCES FOR THE PURPOSE OF DETECTION OF GENETIC MATERIAL OF *CHLAMYDIA* SPP. BY THE REACTION OF AMPLIFICATION

Pavlov S. L., Stegnyy B. T.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The article presents the results of bioinformatic analysis of 112 16s-23s rRNA operon sequences of different chlamydia species with the aim of conserved regions selection that are suitable for the construction of oligonucleotide sequences and a fluorescent probe for their use in real-time PCR. The search for primer sequences was carried out according to the following scheme: determination of the target gene and analysis of its variability, search for conserved regions and selection of optimal regions for primer design. According to the results of the research, the sequences flanking the 142 bp region were selected. Based on an in silico analysis of matrix primer correspondence and intraspecies specificity using FASTA on-line, suitability for the practical use of two primers and one probe for detection of chlamydia genetic material of different species was established

Keywords: chlamydiosis, diagnostics, PCR, primers

УДК 619:602.3:579.864:579.873.13:576.52

DOI 10.36016/VM-2020-106-14

ВИВЧЕННЯ РІВНЯ АДГЕЗИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР ЗА РІЗНИХ ТЕРМІНІВ ЗБЕРЕЖЕННЯ

Гужвинська С. О., Палій А. П.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: aspirantura.iecvm@gmail.com

Павліченко О. В.

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

У статті представлені результати вивчення рівня адгезивної активності пробіотичних культур. Установлено, що досліджувані культури по різному проявляли здатність до адгезії. Найвищий коефіцієнт адгезії виявився у штаму *B. adolescentis* 17 ($64,2 \pm 7,30\%$), *B. adolescentis* 23 ($61,5 \pm 3,27\%$), *B. adolescentis* 17-316 ($60,1 \pm 5,97\%$) і *L. plantarum* 7 ($59,8 \pm 5,01\%$). Дослідження показали, що через 3 роки зберігання високоадгезивними виявилися 4 (26,7 %) та середньоадгезивними — 2 (13,3 %) штами. Під час визначення адгезивних властивостей досліджуваних мікроорганізмів через 4 роки зберігання встановлено, що 4 (26,7 %) мікроорганізми були високоадгезивними та 1 (6,7 %) — середньоадгезивним

Ключові слова: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, еритроцити барана

Основним засобом профілактики та лікування захворювань шлунково-кишкового тракту, спричинених дисбактеріозом, є препарати, що належать до групи пробіотиків, використання яких дозволяє покращити, а інколи й відновити стан мікрофлори кишечника та слизових оболонок організму тварин, що приводить до загального покращання стану здоров'я та запобігає розвитку цілої низки хронічних захворювань [2, 3, 5, 6].

Одержання групи новітніх біотехнологічних препаратів — пробіотиків — на основі попередньо відібраних і охарактеризованих представників нормальної мікрофлори тварин та птиці, зокрема штамів лакто- та біфідобактерій, є важливою проблемою сучасної біотехнології, адже сфери застосування цих пробіотичних препаратів значно розширюються, і пробіотичну терапію дедалі частіше ставлять на противагу антимікробній [7, 8]. Тому у сучасний період розширилась сфера виробництва пробіотиків на основі штамів лактобацил і біфідобактерій [13, 18].

Для того, щоб пробіотик був ефективним, бактеріям, які входять до його складу, має бути притаманний певний спектр біологічної активності [9, 11, 16].

Однією з важливих властивостей пробіотичних бактерій, що необхідна для захисту організму, є здатність до колонізації кишечника [4]. Стійкість до розмноження патогенної мікрофлори, так звана колонізаційна резистентність, забезпечується багатьма факторами, зокрема конкуренцією за місця адгезії та субстрати. В основі антагоністичної дії мікрофлори кишечника лежить здатність бактерій зв'язуватися з рецепторами на поверхні епітеліальних клітин і між собою, створюючи захисну плівку. Специфічність рецепторів адгезії закладено генетично у кожної окремої особини.

Критерії відбору штамів молочнокислих бактерій-претендентів для створення пробіотичних препаратів сьогодні описані в багатьох експериментально-аналітичних вітчизняних та іноземних працях [15]. Водночас системний поетапний план оцінки пробіотичного продуцента перебуває в стані розробки та постійного вдосконалення і регламентується переважно закордонними директивами ЄС, FAO/WHO [10, 12].

Одним з найперспективніших напрямів сучасної мікробіології є вивчення адгезивної здатності мікроорганізмів. Бактеріальне прилипання, як відомо, відіграє важливу роль у персистенції бактерій у багатьох екосистемах. Воно необхідне для колонізації нормальною

мікрофлорою організму господаря та разом з тим вважається першим кроком у патогенезі бактеріальних інфекцій, так як є проявом патогенності мікроорганізмів. Вивченню адгезивних властивостей пробіотичних бактерій приділяється значна увага [17].

Таким чином, одним із важливих критеріїв відбору молочнокислих бактерій є здатність до адгезії на клітинах епітелію макроорганізму.

Тому **метою** даної роботи було вивчення рівня адгезивної активності пробіотичних культур.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були молочнокислі бактерії: *Lactobacillus plantarum* 7, *L. delbrueckii* 8, *L. casei* var. *hamnosus* 9, *L. casei* var. *rhamnosus* 14, *L. plantarum* 19, *L. plantarum* 22, *L. casei* 27, *L. plantarum* 7-317, *Bifidobacterium bifidum* 1, *B. infantis* 14, *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. longum* 23, *B. adolescentis* 17-316, *B. adolescentis* 3. Під час дослідів культивування молочнокислих бактерій проводили на середовищах MRS та Блаурока. Бактерії культивували в термостаті впродовж 24–72 год за температури 37 °C [14].

Адгезивні властивості молочнокислих бактерій визначали за методикою В. І. Бриллєс. Під час досліджень використовували еритроцити барана. Спочатку добові культури центрифугували протягом 5 хв за 3 000 об./хв. Потім отриману біомасу ресуспендували в буфері PBS. Отримували суспензію бактерій, яка містила 10^9 КУО/см³ за стандартом каламутності. Отримані суспензії бактеріальних та еритроцитарних клітин змішували у рівних об'ємах у пробірці. Суміш суспензії переносили до термостата та інкубували за температури 37 °C упродовж 30 хв. Після цього клітини двічі промивали центрифугуванням в буфері PBS за 200 об./хв впродовж 5 хв. З осаду клітин готували мазки, які фарбували за Грамом. Потім підраховували кількість адгезованих до еритроцитів клітин бактерій. Для оцінки адгезивних властивостей мікроорганізмів використовували середній показник адгезії (СПА), який визначали за середньою кількістю мікроорганізмів, що прикріплювались до поверхні одного еритроцита. Під час підрахунку враховували всі еритроцити, що знаходяться в п'яти полях зору, у сумі не менше 50. Із врахованих еритроцитів підраховували частку клітин, що мають на поверхні адгезовані мікроорганізми (К, %). Виходячи зі значень СПА і коефіцієнта К, підраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Ступінь адгезивності досліджуваних бактерій оцінювали, виходячи із показника ІАМ. Бактерії вважали неадгезивними за ІАМ < 1,75, низькоадгезивним — від 1,76 до 2,5, середньоадгезивним — від 2,51 до 4,0 та високоадгезивним — > 4,0.

Кількість живих мікробних клітин визначали методом серійних розведень одержаної суспензії у фізіологічному розчині.

Кислотоутворення в молоці визначали за кількістю кислоти, що утворюється у знежиреному молоці за методикою Є. П. Квасникова.

Швидкість сквашування молока лакто- та біфідобактеріями оцінювали за методикою Л. О. Банникової.

Усі дослідження проводили у трьох повтореннях. Статистичну обробку результатів проводили за традиційними методами варіаційної статистики з використанням програми Excel та Statistica 10.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведенні дослідження з визначення адгезивних властивостей лактобацил і біфідобактерій за різних термінів досліджень показали, що досліджувані бактерії здатні адгезувати до еритроцитів барана (табл.).

Здатність досліджуваних штамів активно адгезувати до еритроцитів баранів, на наш погляд, можна пояснити тим, що ці мікроорганізми є природними симбіонтами організму, що підтверджено даними літератури [1].

Проведенні експерименти показали, що через 2 роки зберігання штамів *L. delbrueckii* 8, *L. casei* var. *hamnosus* 9, *L. casei* var. *rhamnosus* 14, *L. plantarum* 19, *B. adolescentis* 3 відносяться до низькоадгезивних, *B. bifidum* 1 і *B. infantis* 14 — середньоадгезивних, а *L. plantarum* 7, *L. plantarum* 22, *L. plantarum* 7-317, *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23 та *B. adolescentis* 17-316 — високоадгезивних. Штами *L. casei* 27 і *B. longum* 23 виявилися неадгезивними. Показники коефіцієнта адгезії *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. adolescentis* 17-316 і *L. plantarum* 7 були найбільшими та складали $64,2 \pm 7,30$, $61,5 \pm 3,27$, $60,1 \pm 5,97$ і $59,8 \pm 5,01$ % відповідно. Дослідження показали, що через 3 роки зберігання неадгезивними виявилися 6 (40,0 %) штамів, низькоадгезивними — 3 (20,0 %), середньоадгезивними — 2 (13,3 %) та високоадгезивними — 4 (26,7 %).

Таблиця — Адгезивні властивості лактобактерій та біфідобактерій за різних термінів збереження ($M \pm m$, $p < 0,05$)

Штам	Індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ)			Коефіцієнт адгезії, %		
	після 2 років зберігання	після 3 років зберігання	після 4 років зберігання	після 2 років зберігання	після 3 років зберігання	після 4 років зберігання
<i>L. plantarum</i> 7	6,7 \pm 1,6	6,5 \pm 1,5	6,3 \pm 1,3	59,8 \pm 5,01	58,7 \pm 4,09	57,8 \pm 4,71
<i>L. delbrueckii</i> 8	1,8 \pm 0,5	1,5 \pm 0,3	1,1 \pm 0,3	47,9 \pm 4,08	39,9 \pm 2,08	47,9 \pm 4,08
<i>L. casei</i> var. <i>hamnosus</i> 9	2,1 \pm 0,6	1,7 \pm 0,4	1,6 \pm 0,5	38,4 \pm 3,21	30,5 \pm 2,27	22,4 \pm 1,29
<i>L. casei</i> var. <i>rhamnosus</i> 14	2,3 \pm 0,2	1,9 \pm 0,3	1,1 \pm 0,2	39,5 \pm 2,12	32,7 \pm 2,17	31,2 \pm 1,19
<i>L. plantarum</i> 19	2,5 \pm 0,5	2,1 \pm 0,3	1,9 \pm 0,4	41,5 \pm 3,27	38,7 \pm 3,05	32,6 \pm 2,17
<i>L. plantarum</i> 22	4,9 \pm 2,0	2,7 \pm 1,1	2,6 \pm 1,30	51,4 \pm 7,19	47,5 \pm 4,77	43,5 \pm 4,55
<i>L. casei</i> 27	1,7 \pm 0,7	1,6 \pm 0,6	1,6 \pm 0,7	40,7 \pm 2,01	39,5 \pm 2,02	37,8 \pm 1,97
<i>L. plantarum</i> 7-317	5,7 \pm 1,9	5,5 \pm 1,7	5,4 \pm 1,8	57,8 \pm 5,23	56,9 \pm 4,97	54,7 \pm 5,01
<i>B. bifidum</i> 1	3,0 \pm 0,4	2,1 \pm 0,2	1,7 \pm 0,8	44,7 \pm 2,17	39,6 \pm 2,09	33,7 \pm 1,97
<i>B. infantis</i> 14	3,1 \pm 0,2	1,7 \pm 0,7	1,5 \pm 0,6	45,8 \pm 1,15	39,7 \pm 1,17	32,8 \pm 1,02
<i>B. adolescentis</i> 17	7,3 \pm 1,3	7,2 \pm 1,1	7,0 \pm 1,2	64,2 \pm 7,30	60,2 \pm 6,39	58,1 \pm 6,02
<i>B. adolescentis</i> 23	5,8 \pm 2,5	3,1 \pm 0,9	1,8 \pm 0,7	61,5 \pm 3,27	57,3 \pm 2,26	53,5 \pm 2,47
<i>B. longum</i> 23	1,7 \pm 0,8	1,1 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	48,8 \pm 6,70	45,7 \pm 4,67	43,1 \pm 3,56
<i>B. adolescentis</i> 17-316	5,8 \pm 1,7	5,7 \pm 1,6	5,7 \pm 1,7	60,1 \pm 5,97	59,1 \pm 4,87	59,0 \pm 4,88
<i>B. adolescentis</i> 3	2,1 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	—	36,2 \pm 1,17	30,1 \pm 1,09	—

У результаті визначення адгезивних властивостей досліджуваних мікроорганізмів через 4 роки зберігання встановлено, що 4 (26,7 %) мікроорганізми були високоадгезивними, 1 (6,7 %) — середньоадгезивним, 2 (13,3 %) — низькоадгезивними та 8 (53,3 %) — неадгезивними.

Висновки. Установлено, що у *B. adolescentis* 17, *B. adolescentis* 23, *B. adolescentis* 17-316 і *L. plantarum* 7 коефіцієнт адгезії виявився найбільшим і складав 64,2 \pm 7,30, 61,5 \pm 3,27, 60,1 \pm 5,97 і 59,8 \pm 5,01 % відповідно. Дослідження показали, що через 3 роки зберігання високоадгезивними виявилися 4 (26,7 %) та середньоадгезивними — 2 (13,3 %) штами. Під час визначення адгезивних властивостей досліджуваних мікроорганізмів через 4 роки зберігання встановлено, що 4 (26,7 %) мікроорганізми були високоадгезивними та 1 (6,7 %) — середньоадгезивним.

Список літератури

- Гармашева І. Л. Коваленко Н. К. Адгезивные свойства молочнокислых бактерий и методы их изучения. *Микробиологический журнал*. 2005. Т. 67, № 4. С. 68–84.
- Гужвинська С. О., Палій А. П. Біологічні властивості лактобактерій та біфідобактерій. *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. Вип. 32, ч. 1. С. 92–98. DOI: [https://doi.org/10.31073/vet_biotech32\(1\)-10](https://doi.org/10.31073/vet_biotech32(1)-10).
- Гужвинська С. О. Вивчення біологічних властивостей лакто- та біфідобактерій-кандидатів у пробіотик. *Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб.* 2007. Вип. 60. С. 287–290.
- Кігель Н. Ф., Насирова Г. Ф. Критерії відбору заквашувальних культур. *Вісник аграрної науки*. 2002. № 2. С. 58–60.
- Коваленко Н. К. та ін. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил і біфідобактерій. *Мікробіологічний журнал*. 2010. Т. 72, № 1. С. 9–17. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2010_72_1_3.
- Ляковський Т. М. та ін. Ідентифікація пробіотичних штамів молочнокислих бактерій. *Мікробіологічний журнал*. 2008. Т. 70, № 6. С. 3–10.
- Мосієнко В. С., Мосієнко М. Д., Рябуха В. М. Молочнокислі бактерії, їх властивості та використання в медичній практиці. *Український хімотерапевтичний журнал*. 2002. № 1(13). С. 16–23. URL: <http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/uhj/02/pdf02-1/18.pdf>.
- Полтавська О. А., Коваленко Н. К. Антагоністичні властивості біфідобактерій, ізольованих із різних природних джерел. *Мікробіологічний журнал*. 2005. Т. 67, № 6. С. 32–39.

9. Старовойтова С. О., Карпов О. В. Перспективи використання пробіотичних мікроорганізмів в функціональних продуктах харчування та медицині. *Харчова промисловість*. 2015. № 18. С. 76–80. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Khp_2015_18_16.
10. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности её поддержания и восстановления. Киев: Эксперт ЛТД, 2005. 361 с.
11. Gujvinska S. O. et al. Biotechnology production of medium for cultivation and lyophilization of lactic acid bacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No. 2. P. 5–11. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/biotechnology-production-of-medium-for-cultivation-and-lyophilization-of-lactic-acid-bacteria-1225.html>.
12. Jamalifar H. et al. Antimicrobial activity of different *Lactobacillus* species against multi-drug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Microbiology*. 2011. Vol. 3, No. 1. P. 21–25. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22347578>.
13. Kasianenko O. I. et al. Application of mannan oligosaccharides (Alltech Inc.) in waterfowl: optimal dose and effectiveness. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 3, P. 63–68. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/application-of-mannan-oligosaccharides-alltech-inc-in-waterfowl-optimal-dose-and-effectiveness-55127.html>.
14. Paliy A. P. et al. Enhanced cultivation technology for lacto- and bifidobacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 3. P. 83–87. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/enhanced-cultivation-technology-for-lacto-and-bifidobacteria-55133.html>.
15. Paliy A. P. et al. Selection of technological regime and cryoprotector for lyophilization of lactobacteria (*Lactobacillus* spp.). *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 4. P. 184–190. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_186.
16. Paliy A. P. et al. Specific composition of indigenous microflora (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp.) in farm animals. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 1. P. 43–48. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_7.
17. Saranya S., Hemashenpagam N. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of Lactic acid bacteria from fermented dairy products. *Advances in Applied Science Research*. 2011. Vol. 2, No. 4. P. 528–534. URL: <https://www.primescholars.com/articles/antagonistic-activity-and-antibiotic-sensitivity-of-lactic-acid-bacteria-from-fermented-dairy-products.pdf>.
18. Woodmansey E. J. Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology*. 2007. Vol. 102, No. 5. P. 1178–1186. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03400.x>.

STUDY OF THE LEVEL OF ADHESIVE ACTIVITY OF PROBIOTIC CULTURES AT DIFFERENT STORAGE PERIODS

Guzhvyńska S. O., Paliy A. P.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Pavlichenko O. V.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

*The paper presents the results of studying the level of adhesive activity of probiotic cultures. It has been found that the studied cultures showed different ability to adhesion. The highest adhesion coefficient was found in the strains *B. adolescentis* 17 ($64.2 \pm 7.30\%$), *B. adolescentis* 23 ($61.5 \pm 3.27\%$), *B. adolescentis* 17-316 ($60.1 \pm 5.97\%$), and *L. plantarum* 7 ($59.8 \pm 5.01\%$). Studies have shown that after 3 years of storage, 4 strains (26.7%) turned out to be highly adhesive, and 2 strains (13.3%) — medium adhesive. When determining the adhesive properties of the studied microorganisms after 4 years of storage, it was found that 4 microorganisms (26.7%) were highly adhesive and 1 (6.7%) — medium adhesive*

Keywords: *Lactobacillus, Bifidobacterium, ram erythrocytes*

6. ІМУНОЛОГІЯ ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

УДК 619:616.391:612.017.11:577.1.08:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2020-106-15

БІОМАРКЕРИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ КОРІВ ЗА А- ТА Е-ВІТАМІННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Коваленко Л. В., Руденко О. П., Бойко В. С., Пазуцян О. Є.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: larbuko@gmail.com*

У статті висвітлені результати досліджень стану природної резистентності великої рогатої худоби з високим генетичним потенціалом продуктивності за порушень вітамінного обміну. Метою досліджень було дослідити вплив гіповітамінозів А та Е різного ступеня вираженості на біомаркери природної резистентності корів. Як матеріал для досліджень використовували сироватку крові від 90 корів з господарств різних областей України. У сироватці крові вимірювали рівень вітамінів А та Е, рівень низки маркерів уродженого імунітету (загальний білок, глобуліни, циркулюючі імунні комплекси, серомукоїди, активність лізоциму) та стану оксидантно-антиоксидантного гомеостазу організму (вміст дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду, активність каталази). Застосовували загальноприйняті методи на основі спектрофотометрії. Установлено, що у високопродуктивних корів за зниження забезпеченості їхнього організму вітамінами А та Е порівняно з тваринами, які мають їх фізіологічний рівень, відбуваються зрушення маркерів природної резистентності. Так, виражений гіповітаміноз А та Е (зниження на 64,4 і 37,5 % відповідно) супроводжується вірогідним підвищенням глобулінів, циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів на 50,0–71,4 %, а також зниженням активності каталази та накопиченням продуктів ПОЛ на 21,1–28,5 %. За вітамінної недостатності А та Е на рівні 26,4 і 2,5 % відповідно відбуваються підвищення рівня глобулінів (на 24,5 %) та менш виражені зміни (на 18,6–26,4 %) аналогічної направленості в системі ПОЛ-АОЗ. Зниження рівня вітаміну А у сироватці крові корів на 34 % супроводжується лише підвищенням накопиченням малонового діальдегіду на 20,7 %. Активність лізоциму виявилася зниженою у тварин усіх досліджених груп з А- та Е-вітамінною недостатністю, однак ступінь її змін не залежав від вираженості гіповітамінозів.

Ключові слова: вроджений імунітет, оксидантно-антиоксидантний гомеостаз, гіповітамінози

Висока продуктивність тварин обумовлена інтенсивним перебігом процесів обміну речовин у клітинах, органах і тканинах. Для забезпечення оптимального, фізіологічного біосинтезу білків, енергії, розвитку організму та ефективного виробництва продукції тваринництва високої якості необхідна обов'язкова умова — в організм тварин з раціоном повинні надходити усі без виключення поживні речовини, що беруть участь у процесах обміну, у біологічно необхідних кількостях і співвідношеннях.

За невідповідності умов годівлі і фізіологічних потреб в організмі тварин виникають глибокі порушення усіх видів обміну речовин, які проявляються зниженням резистентності, клінічно вираженими захворюваннями дорослих тварин і молодняку. Хвороби обміну речовин залишаються одними з найбільш поширених серед сільськогосподарських тварин. Проблема постійного моніторингу метаболічних порушень в організмі продуктивних тварин і пошуку засобів їх корекції є актуальною та має як фундаментальне, так і практичне значення, оскільки в умовах розвитку ринкових відносин у тваринницькому секторі аграрного виробництва, головним завданням є забезпечення високої продуктивності тварин, отримання продукції високої якості з найменшими затратами. [1, 2].

Відомо, що у великої рогатої худоби за інтенсивного промислового використання переважно спостерігається порушення А- і Е-вітамінного обміну. Діагностика порушень їхнього обміну ґрунтується на результатах клінічного дослідження та лабораторного аналізу крові,

оскільки порушення процесів обміну речовин має дуже глибоке відображення в змінах складу крові як внутрішнього середовища організму [3–5].

За результатами наших попередніх досліджень [6] встановлено, що досить часто у дійних корів спостерігається розвиток А-вітамінної недостатності (уміст ретинолу у сироватці крові менше 25 мкг%). Однак вплив порушень обміну вітамінів на стан природної резистентності великої рогатої худоби був вивчений недостатньо, що й визначило **мету** наших досліджень.

Матеріали та методи. Відбір проб крові для біохімічних досліджень проводили у корів з надоєм молока вище 5,0 тис. л/рік ($n = 90$) у стійловий період у господарствах різних регіонів України (Харківська, Вінницька, Черкаська та Кіровоградська області). Стан вітамінного обміну у сироватці крові корів вивчали за рівнем вітамінів А та Е згідно методичних рекомендацій [7]. Спектрофотометрично вимірювали рівень загального білка за біуретовою реакцією, глобулінів [8], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Гриневича та Алферова, серомукоїдів — за методом Веймера та Мошина [9]. Активність лізоциму (КФ 3.2.1.17) визначали турбідиметричним методом за Перрі в модифікації Х. Я. Гранта зі співавт. [10]. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) вивчали за рівнем утворення дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) у гептан-ізопропанольних екстрактах, стан антиокиснювальної системи захисту (АОЗ) оцінювали за активністю ферменту каталази (КФ 1.11.1.6.) з використанням H_2O_2 спектрофотометрично за довжини хвилі 410 нм [8].

Усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти.

Результати досліджень та їх обговорення. За даними В. І. Левченка зі співавт. [11] рівень вітаміну А у сироватці крові дійних корів має бути не нижчим за 25 мкг%, а оптимальний показник вітаміну Е у стійловий період — 4–6 мкг/см³.

У результаті наших досліджень умісту вітамінів А та Е у сироватці крові корів було виявлено різний ступінь гіповітамінозів, на основі чого для аналізу було сформовано 4 групи тварин (табл. 1, 2). Так, найбільш виражені порушення вітамінного обміну відносно мінімальних значень референтних рівнів були виявлені у корів одного з господарств Харківської області, де зниження забезпеченості організму тварин вітамінами А та Е склало відповідно 64,4 і 37,5 % (1-ша група) та у тварин господарства Черкаської області, де рівень цих вітамінів був у середньому знижений на 26,4 і 2,5 % відповідно (2-га група). У двох господарствах з Харківської та Вінницької областей виявлено лише зниження вмісту вітаміну А на 36,8 і 32,8 % відповідно (3-тя група).

У сироватці крові дійних корів із господарства Кіровоградської області рівень вітамінів А та Е знаходився в межах референтних рівнів (4-та група), як і усі визначені показники природної резистентності, тому під час проведення аналізу отриманих результатів корів 1–3-ї груп ми порівнювали їх з показниками 4-ї групи.

Аналіз отриманих результатів щодо маркерів уродженого імунітету, представлених у табл. 1, свідчить, що у корів 1-ї групи максимально виражений «подвійний» гіповітаміноз А та Е супроводжується незначним зниженням умісту загального білка на 1,2 % і активності лізоциму на 6,7 % відносно показників фізіологічної норми та на 11,1 % ($p \leq 0,05$) та 9,6 % щодо показників корів з рівнем вітамінів у межах фізіологічної норми (4-та група). Також статистично вірогідною була різниця між такими показниками 1-ї та 4-ї груп як глобуліни, ЦІК та серомукоїди: їхній рівень був вищим за «подвійного» гіповітамінозу на 36,9, 50,0 і 71,4 % відповідно.

У корів 2-ї групи встановлено зниження концентрації загального білка на 4,0 %, активності лізоциму — на 8,3 % щодо нижньої межі фізіологічної норми. Відносно показників 4-ї групи рівень загального білка був зниженим на 13,6 %, глобулінів — підвищеним на 24,5 %, ступінь пригнічення лізоцимної активності склав 11,3 % ($p \leq 0,05$). При цьому концентрації ЦІК і серомукоїдів не відрізнялися від рівнів у тварин без гіповітамінозу.

Таблиця 1 — Рівень показників уродженого імунітету у сироватці крові корів з різним вітамінним статусом ($M \pm m$)

Група	Загальний білок, г/дм ³	Глобуліни, г/дм ³	Лізоцим, мкг/см ³	ЦІК, мг/см ³	Серомукоїди (Sm), мг/см ³
Група 1. (n = 25) Вітамін А — $8,9 \pm 0,3$ мкг%, Вітамін Е — $2,5 \pm 0,05$ мкг/см ³	$71,1 \pm 1,77^*$	$43,7 \pm 2,2^*$	$56,0 \pm 0,92^*$	$0,18 \pm 0,02^*$	$0,24 \pm 0,01^*$
Група 2. (n = 10) Вітамін А — $17,9 \pm 1,4$ мкг%, Вітамін Е — $3,9 \pm 0,35$ мкг/см ³	$69,1 \pm 0,15^*$	$39,7 \pm 0,56^*$	$55,0 \pm 1,2^*$	$0,10 \pm 0,002$	$0,12 \pm 0,003$
Група 3. (n = 40) Вітамін А — $16,3 \pm 1,1$ мкг%, Вітамін Е — $7,6 \pm 0,32$ мкг/см ³	$70,1 \pm 1,1^*$	$35,7 \pm 0,35^*$	$54,0 \pm 1,4^*$	$0,11 \pm 0,002$	$0,14 \pm 0,003$
Група 4. (n = 15) Вітамін А — $26,8 \pm 0,6$ мкг%, Вітамін Е — $8,1 \pm 0,15$ мкг/см ³	$80,0 \pm 1,88$	$31,9 \pm 1,1$	$62,0 \pm 1,12$	$0,12 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,011$
Норма [†]	72,0–86,0	28,9–48,6	60,0–71,0	—	—

Примітки: * — різниця вірогідна щодо відповідних показників корів з фізіологічним рівнем вітамінів А та Е; † — «Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин» за ред. В. І. Левченка [9].

У сироватці крові корів з ознаками А-гіповітамінозу (3-тя група) виявлено зниження активності лізоциму на 10,0 % щодо фізіологічних значень. Порівняно з показниками 4-ї групи встановлено вірогідне підвищення вмісту глобулінів на 11,9 % та зниження загального білка на 12,4 % і активності лізоциму — на 12,9 %.

Також було проведено визначення стану системи ПОЛ-АОЗ у корів за різного вітамінного статусу (табл. 2).

Таблиця 2 — Стан системи ПОЛ-АОЗ у сироватці крові корів з різним вітамінним статусом ($M \pm m$)

Група	Каталаза, ммоль Н ₂ O ₂ /с/мг білка	ДК, мкмоль/дм ³	МДА, ΔD/см ³
Група 1. (n = 25) Вітамін А — $8,9 \pm 0,3$ мкг%, Вітамін Е — $2,5 \pm 0,05$ мкг/см ³	$22,0 \pm 0,88^*$	$25,5 \pm 1,3$	$1,8 \pm 0,09^*$
Група 2. (n = 10) Вітамін А — $17,9 \pm 1,4$ мкг%, Вітамін Е — $3,9 \pm 0,35$ мкг/см ³	$22,7 \pm 0,50^*$	$25,2 \pm 1,0^*$	$1,77 \pm 0,04^*$
Група 3. (n = 40) Вітамін А — $16,3 \pm 1,1$ мкг%, Вітамін Е — $7,6 \pm 0,32$ мкг/см ³	$29,05 \pm 0,72$	$22,2 \pm 1,0$	$1,69 \pm 0,084^*$
Група 4. (n = 15) Вітамін А — $26,8 \pm 0,6$ мкг%, Вітамін Е — $8,1 \pm 0,15$ мкг/см ³	$27,9 \pm 1,0$	$21,0 \pm 1,8$	$1,4 \pm 0,07$
Норма [†]	25,0–40,0	12,0–23,0	0,5–1,55

Примітки: * — різниця вірогідна щодо відповідних показників корів з фізіологічним рівнем вітамінів А та Е; † — Методичні рекомендації «Методи перекисного окиснення ліпідів та його регуляція у біологічних об'єктах» [6].

Так, за зниження забезпеченості організму корів вітамінами А та Е на 64,4 та 37,5 % відповідно (1-ша група) щодо референтних значень встановлено зниження активності каталази на 12,0 %, а також підвищення рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів: ДК — на 10,8 % та МДА — на 16,1 %. Менш виражений «подвійний» гіповітаміноз у тварин 2-ї групи супроводжувався незначним зниженням активності каталази (на 9,2 %) та збільшенням концентрації ДК і МДА на 9,6 і 14,2 % відповідно.

У порівнянні з показниками тварин 4-ї групи виявлено вірогідне зниження активності каталази (на 21,1 %) та накопичення продуктів ПОЛ (ДК і МДА) на 21,4 та 28,5 % відповідно. У тварин 2-ї групи встановлено аналогічні зміни — пригнічення каталазної активності склало 18,6 %, а підвищення продуктів ПОЛ — на 20,0 та 6,4 % відповідно.

У корів 3-ї групи з А-гіповітамінозом вірогідні зміни виявлені щодо концентрації МДА, яка була підвищеною щодо рівня тварин 4-ї групи на 20,7 %.

Таким чином, враховуючи результати проведених досліджень і літературних даних [1, 4, 5] можна констатувати, що «подвійний» гіповітаміноз А та Е різного ступеня вираженості та гіповітаміноз А супроводжуються зрушеннями системи природної резистентності в організмі дійних корів. Це, зокрема, проявляється у підвищенні синтезу глобулінів на фоні зниження рівня загального білка, а також пригніченні активності лізоциму сироватки крові, який є одним з факторів уродженої резистентності організму [12]. Зміни концентрації таких медіаторів імунної відповіді, як ЦІК та серомукоїди [13, 14] виявлені лише за найбільш вираженого зниженого рівня вітамінів А та Е (на 64,4 і 37,5 % відповідно). У тварин цієї групи встановлено також і максимальні зрушення оксидантно-антиоксидантної рівноваги — на фоні зниження активності каталази відбувається накопичення продуктів ПОЛ (ДК і МДА). Аналогічні зміни встановлено й у корів за менш вираженого «подвійного» гіповітамінозу, тоді як А-гіповітаміноз супроводжувався накопиченням лише кінцевого продукту ПОЛ — МДА. Таке зрушення оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі продуктивних тварин може призводити до порушення їхньої природної резистентності не лише опосередковано через вплив на активність макрофагів та стан біомембран [15–17], а й напряму, через малоновий діальдегід, який, за сучасними даними [18], є лігандом імунних рецепторів, що беруть участь у реакціях уродженого імунітету.

Висновки. У високопродуктивних корів за зниження забезпеченості їхнього організму вітамінами А та Е порівняно з тваринами, які мають їх фізіологічний рівень, відбуваються зрушення маркерів природної резистентності та процесів переокиснення ліпідів різного ступеня. Виразений гіповітаміноз А та Е (зниження на 64,4 і 37,5 % відповідно) супроводжується вірогідним підвищенням глобулінів, циркулюючих імунних комплексів і серомукоїдів на 50,0–71,4 %, а також зниженням активності каталази та накопиченням продуктів ПОЛ на 21,1–28,5 %. За вітамінної недостатності А та Е на рівні 26,4 і 2,5 % відповідно відбуваються менш виражені зміни аналогічної направленості (підвищується рівень глобулінів на 24,5 %, ДК — на 18,6 % і МДА — на 26,4 %). Зниження рівня вітаміну А у сироватці крові корів на 34 % супроводжується лише підвищенням накопичення малонового діальдегіду на 20,7 %.

Активність лізоциму виявилась зниженою у тварин усіх досліджених груп з А- та Е-вітамінною недостатністю, однак ступінь її змін не залежав від вираженості гіповітамінозів.

Відносно показників фізіологічної норми за нестачі вітамінів А та Е у сироватці крові корів знижується рівень загального білка на 11,2–18,0 %, активність лізоциму — на 9,0–10,0 %, активність каталази — на 11,0–12,0 %, та активується перекисне окиснення ліпідів (за показниками ДК і МДА на 4,8–11,0 і 16,0–22,5 % відповідно).

Перспективи подальших досліджень. Планується продовжити вивчення впливу порушень обміну речовин на стан природної резистентності організму високопродуктивних тварин і птиці з метою розробки заходів їх направленої корекції.

Список літератури

1. Politis I. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal*. 2012. Vol. 6, No. 9. P. 1427–1434. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731112000225>.
2. Безух В. М., Чуб О. В., Надточій В. П. Обмін речовин у високопродуктивних корів та його аналіз. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2011. Вип. 8(87). С. 5–8. URL: <https://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/309>.
3. Ионов И. А. и др. Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц: справ. пособие Харьков: Институт животноводства НААН, 2011. 376 с.
4. Rubin L. P. et al. Metabolic effects of inflammation on vitamin A and carotenoids in humans and animal models. *Advances in Nutrition*. 2017. Vol. 8, No. 2. P. 197–212. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.116.014167>.
5. Oliveira L. M., Teixeira F. M. E., Sato M. N. Impact of retinoic acid on immune cells and inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*. 2018. Vol. 2018. P. 3067126. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/3067126>.
6. Коваленко Л. В. та ін. Діагностика метаболічних порушень у великої рогатої худоби. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2015. Вип. 101. С. 166–168. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/101/7_48.pdf.
7. Стегній Б. Т. та ін. Методи оцінки перекисного окиснення ліпідів та його регуляція у біологічних об'єктах: метод. реком. Харків: ННЦ «ІЕКВМ», 2009. 64 с.

8. Влізло В. В. (ред.) Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
9. Стегній Б. Т. та ін. Методи досліджень маркерів функціонального стану клітин периферичної крові та кісткового мозку тварин: метод. реком. Харків: ННЦ «ІЕКВМ», 2013. 59 с.
10. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Москва: Медицина, 1978. 155 с.
11. Левченко В. І. (ред.) Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин. Біла Церква, 2004. 608 с.
12. Мазуркевич А. Й. та ін. Ветеринарна імунологія. Практикум: навч. посіб. Київ: Агроосвіта, 2014. 168 с.
13. Rosales C. Fcγ receptor heterogeneity in leukocyte functional responses. *Frontiers in Immunology*. 2017. Vol. 8. P. 280. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00280>.
14. Радченко О. М., Стрільчук Л. М. Роль серомукоїдів у патогенезі внутрішньої патології та діагностичне значення їх визначення. *Практикуючий лікар*. 2017. Т. 6, № 2. С. 45–48. URL: <https://plr.com.ua/index.php/journal/article/view/78>.
15. Batista-Gonzalez A. et al. New insights on the role of lipid metabolism in the metabolic reprogramming of macrophages. *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 10. P. 2993. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02993>.
16. Barnett K. C., Kagan J. C. Lipids that directly regulate innate immune signal transduction. *Innate Immunity*. 2020. Vol. 26, No. 1. P. 4–14. DOI: <https://doi.org/10.1177/1753425919852695>.
17. Weismann D., Binder C. J. The innate immune response to products of phospholipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. Vol. 1818, No. 10. P. 2465–2475. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2012.01.018>.
18. Binder C. J. Lipid modification and lipid peroxidation products in innate immunity and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2017. Vol. 1862, No. 4. P. 369–370. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.01.006>.

BIOMARKERS OF NATURAL RESISTANCE IN CAWS WITH DEFICIENCY OF VITAMINS A AND E

Kovalenko L. V., Rudenko O. P., Boiko V. S., Pazushchan O. Ye.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The article highlights the results of studies of the state of natural resistance in highly productive cattle with disorders of vitamin metabolism. The aim of the study was to investigate the effect of hypovitaminoses A and E of varying severity on biomarkers of natural resistance in cows. Serum from 90 cows from farms in different regions of Ukraine was used as research material. Levels of vitamins A and E in serum, the levels of some markers of innate immunity (total protein, globulins, circulating immune complexes, seromucoids, lysozyme activity) and the state of oxidative-antioxidant homeostasis (content of diene conjugates and malonic dialdehyde, catalase activity) were measured. Common methods based on spectrophotometry were used. It has been found that in highly productive cows with vitamin A and E deficiency compared to animals with normal physiological level of vitamins, there are shifts in the markers of natural resistance. Thus, severe hypovitaminoses A and E (decrease by 64.4% and 37.5% respectively) is accompanied by a probable increase in globulins, circulating immune complexes and seromucoids by 50.0–71.4%, as well as a decrease in catalase activity and accumulation of lipid peroxidation products by 21.1–28.5%. With vitamin A and E deficiency at the level of 26.4% and 2.5% respectively, there is an increase in the level of globulins (by 24.5%) and less pronounced changes (by 18.6–26.4%) of a similar orientation in the system of lipid peroxidation-antioxidant protection. The decrease in the level of vitamin A in the blood serum of cows by 34% is accompanied only by an increased accumulation of malonic dialdehyde by 20.7%. Lysozyme activity was reduced in animals of all experimental groups with vitamin A and E deficiency, but the degree of its changes did not depend on the severity of hypovitaminoses

Keywords: *innate immunity, oxidative-antioxidant homeostasis, hypovitaminoses*

УДК 619:616.98:[578.82/.83(PCV2)+579.843.95]:615.371.038:636.4 DOI [10.36016/VM-2020-106-16](https://doi.org/10.36016/VM-2020-106-16)

ІМУНОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ВАКЦИН «РЕПРО-СУІ-ВАК-П» У ПРОМИСЛОВОМУ СВИНАРСТВІ

Бузун А. І.¹, Кольчик О. В.¹, Боровкова В. М.², Бобровицька І. А.¹

¹ Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: epibuz@ukr.net

² Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

У статті наведено дані щодо оптимізації клінічного протоколу застосування оливної та адсорбованої форм експериментальних вакцин лінійки «РепроСуіВак-П» в індустріальному свинарстві (в основному стаді та в групі дорощування) у системі біобезпечних заходів «СтопАЧСмікс» на основі імунологічних показників — загальних (індекси конституційного імунітету, включно з гуморальним і клітинним, з урахуванням середньодобового приросту поросят) і специфічних (динаміка поствакцинальних антитіл, стійкість щеплених свиней до пастерелоносії). Отримані результати дозволили на рівні вірогідності не менше $p \leq 0,01$ ($n = 879$ свиней різних технологічних груп) розробити технологічну карту щеплень, яка передбачає застосування: а) оливної форми «РепроСуіВак-П» з бактерином на кнурках, лактуючих і холостих свиноматках дворазово з інтервалом 3 тижні у дозах $5+5 \text{ см}^3$; б) оливної форми вакцини на групі відлучених поросят 32–35 добового віку одноразово у дозі $1-2 \text{ см}^3$; в) адсорбованої з анатоксином форми вакцини свиноматкам другого триместру поросності дворазово з інтервалом 2 тижні в дозах $5+7 \text{ см}^3$. На основі показників конституційного та специфічного поствакцинального імунітету проти асоційованої цирковірус-пастерельозної інфекції була розроблена технологічна карта застосування експериментальних вакцин лінійки «РепроСуіВак-П» в основному стаді та в групах дорощування промислового свинарства.

Ключові слова: цирковірус-пастерельозна інфекція, поствакцинальний імунітет, конституційний імунітет, специфічний імунітет

Репродуктивно-неонатальні інфекції свиней (РНІС) — це інфекційні хвороби, збудники яких практично на доклінічному рівні персистують у репродуктивному ядрі (нуклеусі) стада, але клінічно проявляються на похідному від нього поголів'ї поросят. Ця класифікація вказує на реальну можливість контролювання епізоотичної ситуації у промисловому свинарстві шляхом викорінення носійства збудників РНІС у нуклеусі товарно-плеємного стада [1]. Цирковірус 2-го генотипу (ЦВС-2) і пастерели є типовими та актуальними для промислового свинарства [2] — і не лише як збудники РНІС з високим епізоотичним потенціалом. За даними ННЦ «ІЕКВМ» ЦВС-2 і гемолітична пастерела (ГП, за новою класифікацією *Mannheimia haemolytica*) у тандемі сприяють ще й прихованому поширенню низьковірulentних варіантів вірусу африканської чуми свиней (АЧС) у її євразійському нозоареалі [3]. Отже задача викорінення носійства зазначених збудників у нуклеусі товарного стада та ліквідація відповідної захворюваності в інших технологічних групах промислового свинарства на сьогодні набуває особливого значення.

Вакцинопрофілактика є важливим інструментом вирішення зазначеної задачі. Але практика показує, що існуючі комерційні вакцини, через часткову невідповідність протективних антигенів з певними польовими варіантами ЦВС-2 та ГП, на жаль неспроможні забезпечити викорінення носійства останніх у нуклеусі, а тим більше в інших технологічних групах промислового свинарства. Вони ефективні лише у запобіганні летальності та захворюваності на відповідні РНІС [4–6]. У зв'язку з цим, у ННЦ «ІЕКВМ» було розроблено технологію виготовлення аутовакцин лінійки «РепроСуіВак» на основі епізоотично актуальних для сучасної ситуації в Україні ізолятів збудників [7, 8].

Метою дослідження було оптимізувати схему вакцинопрофілактики асоційованої цирковірус-пастерельозної інфекції (ЦПІ) із застосуванням відповідних вакцин лінійки «РепроСуїВак» на основі імунологічних критеріїв оцінки її ефективності.

Матеріали та методи. Відпрацювання протоколу застосування експериментальних серій препаратів лінійки «РепроСуїВак» (оптимізацію рецептури вакцини за показниками конституційного та специфічного імунітету свиней) проводили у ДП «Іванівська ДСС» НААН України (Сумська область) та в науково-навчальному центрі Харківської державної зооветеринарної академії (ННЦ ХДЗВА). Оптимізацію схеми щеплень з метою викорінення носійства збудників ЦПІ у свиней ензоотичних з ЦПІ товарних свиногосподарств проводили у господарствах-партнерах ННЦ «ІЕКВМ» у Харківській, Херсонській і Київській областях з річним обігом 0,8–3,0 тис. свинопоголів'я з повним технологічним циклом екстенсивного свинарства, а також на одному з індустриальних свинокомплексів Асоціації свинарів України з річним обігом більше 20,0 тис. свинопоголів'я (повний цикл інтенсивного свинарства). У польових і лабораторних дослідженнях було обстежено 879 свиней. Польові дослідження проводили епізоотологічним методом з урахуванням середньодобового приросту поросят, збереженості поголів'я, летальності та морбідності щодо ЦПІ за клінічними та патоморфологічними даними; пробовідбір назального слизу, крові та патматеріалу для оцінки носійства збудників ЦПІ проводили загальноприйнятими способами [9]. Для цього спочатку досліджували імунологічні параметри свиней різних технологічних груп, щеплених двома варіантами оливної і двома варіантами сорбованої вакцини «РепроСуїВак-П» (з бактерином чи анатоксином ГП) згідно схеми досліджень, представленої в табл. 1. Оскільки найбільш небезпечним фактором патогенності ГП є їхні токсини, для щеплення порослих свиноматок і, на першому етапі, підсвинків групи дорощування в цих дослідженнях у складі вакцини використовували анатоксин пастерел.

Таблиця 1 — Схема досліджень з оптимізації рецептури вакцини за показниками конституційного та специфічного імунітету свиней

Рецептура вакцини					Кількість піддослідних свиней			
№ з/п	Ад'ювант	Антиген ЦВС-2	Бактерин ГП	Анатоксин ГП	Поросні свиноматки	Холості свиноматки	Кнури	Підсвинки віком 32–35 діб
1	Олива	+	+	–	–	6	4	18
2	Олива	+	–	+	7	–	–	21
3	Адсорбент	+	+	–	–	7	3	–
4	Адсорбент	+	–	+	5	–	–	19

Для викорінення носійства збудників ЦПІ у свиней, ензоотичних щодо цієї інфекції, в індустриальних свиногосподарствах оптимізацію схеми щеплень проводили з використанням переважно оливного варіанту вакцини зі вмістом протективного цирковірусного антигену та бактерину гемолітичної пастерели. Адсорбовану «РепроСуїВак-П» зі вмістом пастерельозного анатоксину застосовували майже виключно лише на порослих свиноматках згідно зі схемою досліджень, наведеною у табл. 2.

Таблиця 2 — Схема досліджень з оптимізації щеплень свиней промислових господарств вакциною «РепроСуїВак-П»

Параметри вакцинації					Кількість піддослідних свиней			
№ з/п	Різнovid вакцини	Доза вакцини, см ^{3*}			Поросні свиноматки	Холості свиноматки	Кнури	Підсвинки віком 32–35 діб
		1	2	3				
1	Оливна	2,0	–	–	–	–	–	187
2	Оливна	3,0	5,0	–	32	289	14	24
3	Оливна	5,0	7,0	–	–	26	–	–
4	Адсорбована	3,0	5,0	7,0	57	–	–	13
5	Адсорбована	5,0	7,0	–	147	–	–	–

Примітка. * — інтервал між щепленнями оливною вакциною — 3 тижні, адсорбованою — 2 тижні.

Рівень конституційного імунітету у піддослідних (вакцинованих і невакцинованих) свиней основного стада (нуклеусу) контролювали за показниками динаміки живої маси, опоросів, запліднюваності, багатопліддя, за гематологічними показниками (еритроцити, лейкоцитарний профіль, фагоцитарна, бактерицидна та лізоцимна активність крові) до і після щеплення (у порівнянні з нещепленими). Стан конституційного імунітету молодняка групи дорощування оцінювали за динамікою середньодобового приросту у щеплених і нещеплених поросят, за гематологічними (див. вище) та біохімічними показниками (загальний білок та білкові фракції, рівень сечовини та креатиніну, активність аспаратамінотрансферази, аланінамінотрансферази) до і після щеплення (у порівнянні з нещепленими). Зазначені показники визначали за загальноприйнятими методиками [10].

Специфічний поствакцинальний імунітет щеплених і нещеплених свиней досліджували у форматі оцінки динаміки антитіл проти ЦВС-2 та ГП до і після щеплення свиней (у порівнянні з нещепленими), а також напруженості групового поствакцинального імунітету щеплених свиней (у % тварин з протективним титром антитіл), згідно відповідних чинних СОП ННЦ «ІЕКВМ».

Ключовим показником ефективності вакцинопрофілактики на основі препаратів лінійки «РепроСуїВак-П» вважали активне пастереленосійство серед щеплених свиней (до і після їх щеплення, у порівнянні з нещепленими). Ознакою останнього вважали бактеремію (присутність ГП у осадах проб стабілізованої за допомоги ЕДТА крові). Ознакою пасивного пастереленосійства вважали присутність ГП у пробах носового слизу свиней [9].

Статистичну обробку зазначених показників (середнє арифметичне, помилка середньої арифметичної) проводили за допомогою програми «Excel-2000», достовірність різниці показників між групами встановлювали за методом Ван-дер-Вардена.

Результати дослідження. Під час відпрацювання протоколу застосування експериментальних серій препаратів лінійки «РепроСуїВак-П», що містили протективний антиген ЦВС-2 і пастерельозні бактерин чи анатоксин у сумішах з оливою чи адсорбентом встановлено значну інформаційну цінність показників приросту маси тіла саме поросят групи дорощування, які наочно характеризують загальний стан конституційного імунітету вакцинованого свиногоголів'я. За отриманими даними, ці показники в інших технологічно-вікових групах не мали такого інформаційного навантаження, як на групі дорощування, тому тут не наводяться. У табл. 3 показано, що оливні вакцинні препарати з бактерином і анатоксином ГП на відповідно 31 % і майже на 14 % з вірогідністю $p \leq 0,01$ ($n = 646$) більш ефективно стимулювали приріст живої маси щеплених поросят у порівнянні з нещепленими. У той же час, літературні дані вказують, що цей показник є похідним саме від міцності конституційного імунітету свині [11]. З даних табл. 3 також видно, що пастерельозний анатоксин як в оливному, так і, особливо, у сорбованому варіантах вакцини «РепроСуїВак-П» поступається за рівнем стимуляції конституційного імунітету свиней у порівнянні з пастерельозним бактерином на 13 і на 45 % відповідно ($p \leq 0,01$, $n = 224$). З високою вірогідністю це пов'язано із залишковою загальною токсичністю пастерельозного анатоксину для організму свині.

Таблиця 3 — Приріст живої маси піддослідних підсвинків за даними до і через 30–35 діб після останнього щеплення вакцинами лінійки «РепроСуїВак-П» ($n = 659$, $p \leq 0,01$)

Показники	Дослідні групи*			
	Контрольна ($n = 435$)	Група 1 ($n = 187$)	Група 2 ($n = 24$)	Група 4 ($n = 13$)
Маса тіла, кг**	26,5 ± 2,5	22,3 ± 1,3	24,3 ± 2,7	24,5 ± 2,7
	40,2 ± 2,7	40,3 ± 1,6	39,9 ± 1,9	39,4 ± 2,6
Абсолютний приріст, кг	13,7 ± 2,6	18,0 ± 1,4	15,6 ± 2,4	9,9 ± 1,2
Середньодобовий приріст, г	422,3 ± 5,6	553,8 ± 1,6	480,0 ± 2,2	304,6 ± 3,5

Примітки: * — згідно колонки 1 табл. 2; ** — чисельник — початок дослід, знаменник — кінець дослід.

За показниками запліднюваності холостих свиноматок, багатопліддя та середньої ваги новонароджених поросят у гніздах різниці між щепленими та нещепленими порослими свиноматками в жодному випадку не зареєстровано. Проте у сімох з 211 порослих свиноматок, щеплених оливними варіантами вакцини, зареєстровано акушерську патологію (3 випадки

мертвонароджень до 40 % гнізда, у решти — затримка опоросу, що супроводжувалася затримкою відділення посліду та призвела до катаральних і катарально-гнійних метритів). Адсорбат-вакцина «РепроСуїВак-П» навіть зі вмістом анатоксину до таких наслідків не призводила, тому її взято за основу для застосування на поросних свиноматках другої третини поросності.

Випробування зазначених форм вакцини на підсвинках групи дорощування дозволило також встановити важливі особливості їхнього впливу на обмінні фізіологічні процеси, що становлять основу конституційного імунітету свині (рис. 1).

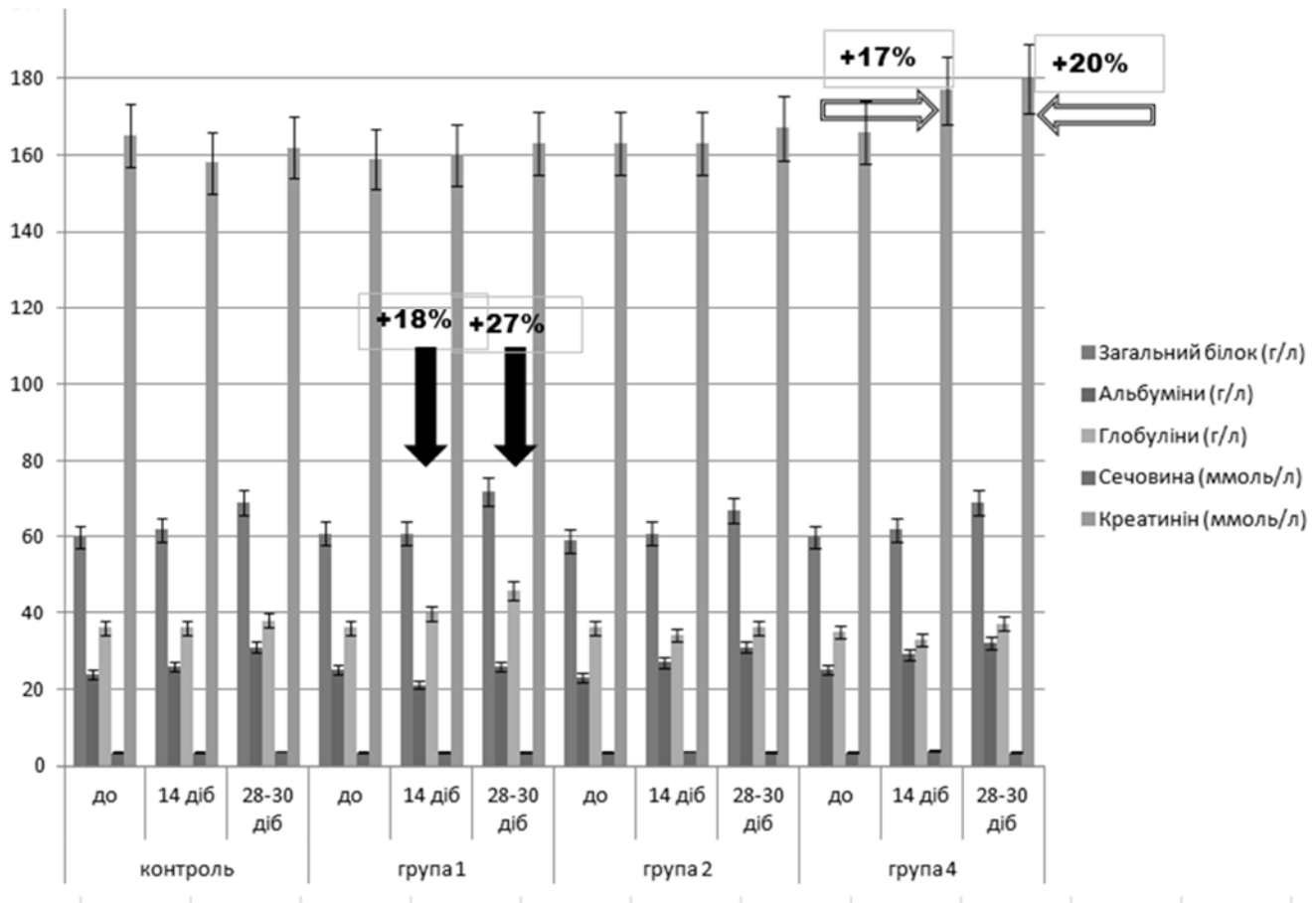


Рис. 1. Результати вивчення впливу різних форм вакцини «РепроСуїВак-П» на біохімічні показники крові щеплених свиней.

За даними досліджень, узагальнених на рис. 1, видно, що анатоксин-вмісні препарати «РепроСуїВак-П» спричиняють деяке (на 3–5 %, $n = 19$, $p \leq 0,03$) зростання концентрації сечовини і значне (на 17–20 %) зростання вмісту креатиніну в крові свиней у поствакцинальний період (до 30 діб після щеплення, на рис. 1 позначено горизонтальними білими стрілками). Це з високим рівнем вірогідності може вказувати на певну нефротоксичність цих форм вакцини. У той же час установлено значне (до 18–27 %, $n = 19$, $p \leq 0,03$) зростання вмісту глобулінів у крові після щеплення бактерин-вмісними формами вакцини «РепроСуїВак-П» (на рис. 1 позначено вертикальними чорними стрілками).

У поросних свиноматок, вакцинованих двічі з інтервалом 3 тижні оливними формами препарату «РепроСуїВак-П» упродовж трьох тижнів після останнього щеплення зареєстровано підвищення активності аспаратамінотрансферази (до 10–15 %, $n = 18$, $p \leq 0,015$), але не аланінамінотрансферази. У той же час, у поросних свиноматок, щеплених тричі з інтервалом 2 тижні адсорбованими формами препарату «РепроСуїВак-П» підвищення рівня цих ферментів у крові не зареєстровано ($n = 42$, $p \leq 0,01$). Це може вказувати на можливий негативний вплив вакцинної оливи на міокард і гладку мускулатуру серцево-судинної системи поросних свиноматок.

Цінну інформацію про вплив адсорбованої анатоксин-вмісної вакцини на поросних свиноматок (дворазово по 5+7 см³, інтервал 2 тижні), оливної бактерин-вмісної вакцини — на свиней решти технологічно-вікових груп (підсвинкам одноразово по 1 см³, а свиноматкам і кнурам дворазово 5+5 см³, інтервал 3 тижні) дало вивчення гематологічних показників (табл. 4).

Таблиця 4 — Динаміка гематологічних показників свиней за даними до (чисельник) і через 21–30 діб після (знаменник) останнього щеплення препаратами лінійки «РепроСуїВак-П» (n = 61, p ≤ 0,01)

Показники	Технологічні групи свинопоголів'я			
	Свиноматки поросні (n = 12)	Свиноматки холості (n = 17)	Кнури (n = 9)	Підсвинки (n = 23)
Еритроцити, Т/л	8,1 ± 0,5	6,8 ± 0,2	8,2 ± 0,7	6,1 ± 0,2
	8,0 ± 0,2	6,7 ± 0,1	8,5 ± 0,3	7,3 ± 0,2
Гемоглобін, мкг/см ³	11,7 ± 0,8	9,8 ± 0,8	12,4 ± 0,9	9,8 ± 0,6
	12,5 ± 0,2	11,0 ± 0,7	11,4 ± 0,4	11,4 ± 0,3
Лейкоцити, Т/л	9,8 ± 0,8	9,5 ± 0,7	8,9 ± 0,6	8,4 ± 0,6
	9,4 ± 0,1	9,7 ± 0,1	9,7 ± 0,2	8,5 ± 0,3
Фагоцитарна активність, %	39,3 ± 0,9	34,4 ± 1,1	33,5 ± 1,4	31,3 ± 1,2
	39,8 ± 0,6	38,8 ± 1,5	38,5 ± 0,9	39,2 ± 0,8
Бактерицидна активність, %	58,2 ± 2,6	53,3 ± 2,6	58,6 ± 2,1	56,5 ± 2,2
	58,7 ± 0,4	56,4 ± 0,9	58,9 ± 0,8	58,2 ± 0,9
Лізоцимна активність, %	38,0 ± 1,7	35,9 ± 2,3	38,4 ± 2,3	36,1 ± 2,5
	38,2 ± 0,9	37,5 ± 0,8	38,1 ± 0,7	38,7 ± 0,9

З даних табл. 4 видно, що у тварин після щеплення достовірно збільшився рівень еритроцитів та, особливо, гемоглобіну, підвищилися бактерицидна, лізоцимна та фагоцитарна активності крові. Це свідчить як про покращення загального еритропоезу, так і про посилення гуморального та клітинного імунітету і, у свою чергу, — про суттєве зміцнення конституціонального імунітету щеплених свиней.

Дані з вивчення впливу різних форм вакцини «РепроСуїВак-П» на гуморальний імунітет (титри антитіл проти ЦВС-2 та антигенного комплексу капсулярного антигену з лейкотоксинам ГП в реакції пасивної гемаглютинації, РПГА) і статус носійства ГП щепленими свинями узагальнено на рис. 2.

Установлено, що застосування адсорбованої анатоксин-вмісної вакцини поросним свиноматкам (дворазово по 5+7 см³ з інтервалом 2 тижні), а оливної бактерин-вмісної вакцини — на свинях решти технологічно-вікових груп (підсвинкам одноразово по 1–2 см³, а свиноматкам і кнурам — дворазово по 5+5 см³ з інтервалом 3 тижні) в усіх випадках забезпечувало вироблення цільових антитіл у протективних титрах — 1:32–1:256 як проти ЦВС-2, так і проти ГП. Дані, наведені на рис. 2, свідчать, що ознакою нормалізації гуморального імунітету проти ЦВС-2 і ГП в ензоотичних осередках ЦПІ є поступове заміщення пост-інфекційних антитіл, титр яких в РПГА характеризується високим рівнем строкатості в діапазоні від 0 до 1:2048 для ЦВС-2 і від 0 до 1:4096 для ГП (CV = 25–45 % і вище), поствакцинальними антитілами, що в РПГА характеризуються відсутністю строкатості (CV ≤ 10 %) і титрами в діапазоні від 1:16 до 1:128 для ЦВС-2 та від 1:16 до 1:256 — для ГП.

На рис. 2 показано, що щеплення основного стада та поросят за зазначеними вище схемами дозволяє вже після застосування першої дози вакцини припиняти в ензоотичних вогнищах ЦПІ активне пастерелоносійство, пов'язане з бактеремією ГП в організмі свині [4]. Проте сама по собі вакцинація, як показали отримані нами дані, неспроможна завадити пасивному пастерелоносійству свиней (персистенції збудника на слизовій носу). Проте, за попередніми даними, воно відбувається переважно вже за рахунок *P. multocida*, яка майже завжди супроводжує ГП (*Mannheimia haemolytica*) у сучасних ензоотичних осередках ЦПІ в Україні (не опубліковано).

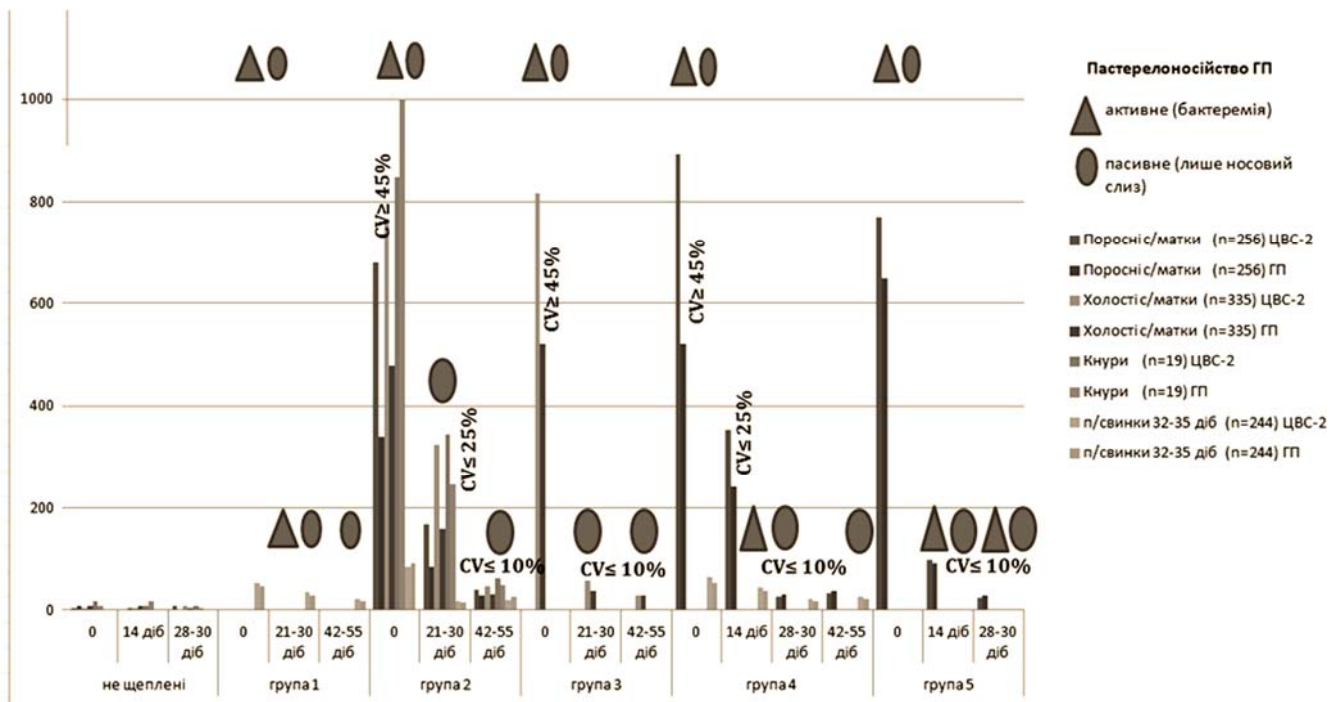


Рис. 2. Результати вивчення впливу різних форм вакцини «РепроСуїВак-П» на гуморальний імунітет і статус пастерелоносійства ГП у щеплених свиней.

Висновки. На основі імунологічних критеріїв застосування експериментальних вакцин лінійки «РепроСуїВак-П» розроблено схему щеплень промислового свиногоголів'я для його оздоровлення від цирковірус-пастерельозної інфекції в ензоотичних щодо неї свиногосподарствах. Схема щеплень включає застосування оливної з бактеринном ГП вакцини «РепроСуїВак-П» лактуючим і холостим свиноматкам, 5+5 см³ дворазово, інтервал 3 тижні, а відлученим пороссятам — одноразово в дозі 1–2 см³. Поросятам свиноматок доцільно імунізувати адсорбованою, з анатоксином ГП вакциною «РепроСуїВак-П» дворазово, в дозах 5+7 см³ з інтервалом 2 тижні.

Список літератури

1. Thrusfield M. et al. Veterinary epidemiology. 4th ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2018. 896 pp. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118280249>.
2. Ouyang T. et al. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses*. 2019. Vol. 11, No. 2. P. 185. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11020185>.
3. Buzun A.-I. Development of "StopASFmix" biosafety system for commodity piggery of Ukraine. *Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference "Interdisciplinary Research: Scientific Horizons and Perspectives"*, Vilnius, March 12, 2021. Vilnius, 2021. Vol. 2. P. 9–14. DOI: <https://doi.org/10.36074/scientia-12.03.2021>.
4. Ran X. et al. Generation of porcine *Pasteurella multocida* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in mice. *Microbial Pathogenesis*. 2019. Vol. 132. P. 208–214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.04.016>.
5. Hemann M. et al. Vaccination with inactivated or live-attenuated chimeric PCV1–2 results in decreased viremia in challenge-exposed pigs and may reduce transmission of PCV2. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 158, No. 1–2. P. 180–186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.01.024>.
6. Foerster T. et al. An inactivated whole-virus porcine parvovirus vaccine protects pigs against disease but does not prevent virus shedding even after homologous virus challenge. *The Journal of General Virology*. 2016. Vol. 97, No. 6. P. 1408–1413. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000446>.
7. Бузун А. І. та ін. Вакцина проти репродуктивно-респіраторного синдрому цирковірусної та парвовірусної інфекції свиней асоційована інактивована емульсована: патент 122732 Україна. № u201707521; заявл. 17.07.17; опубл. 25.01.18, бюл. № 2. 4 с.
8. Бузун А. І. та ін. Вакцина «Репросуївак-П» проти асоційованих інфекцій свиней (цирковірусна інфекція, репродуктивно-респіраторний синдром та пастерельоз свиней): патент 136316 Україна. № u201902406; заявл. 11.03.19; опубл. 12.08.19, бюл. № 15. 2 с.
9. OIE (World Organisation for Animal Health). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). 8th ed. Paris: OIE, 2018. 1833 pp.

10. Whitbread T. J. Clinical biochemistry (last full review/revision Jun 2015). URL: <https://www.msdsvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/diagnostic-procedures-for-the-private-practice-laboratory/clinical-biochemistry>.
11. Helke K. L. et al. Biology and diseases of swine. In: Fox J. G. et al. (eds) *Laboratory Animal Medicine*. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2015. P. 695–769. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00016-X>.

IMMUNOLOGICAL EVALUATION OF THE APPLICATION OF EXPERIMENTAL VACCINES “REPRO-SUI-VAC-P” IN INDUSTRIAL PIG BREEDING

Buzun A. I. ¹, Kolchuk O. V. ¹, Borovkova V. M. ², Bobrovytska I. A. ¹

¹ National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

² Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

*The article presents data on the optimization of the clinical protocol for the use of oil and adsorbed forms of experimental vaccine “ReproSuiVac-P” in industrial pig breeding (in the nucleus of herd, in groups of growing and fattening) in the system of biosafety measures “StopASFmix” based on immunological indicators of immunity, including humoral and cellular, with regards of the average daily growth of piglets) and specific (dynamics of postvaccinal antibodies, the intensity of population immunity, the resistance of vaccinated pigs relative to carrier-status of *Mannheimia haemolytica*). The obtained results allowed, at the level of probability not less than $p \leq 0.01$ ($n = 879$ pigs of different technological groups), to develop a technological card of vaccinations, which provides application of: a) oil form “ReproSuiVac-P” with bacterin on boars, lactating and barren sows twice with an interval 3 weeks in doses of $5+5 \text{ sm}^3$; b) oil form of the vaccine in the group of weaned piglets 32nd–35th days of age at a single dose of $1-2 \text{ sm}^3$; c) adsorbed with toxoid form of vaccine to sows of the second trimester of gestation twice with an interval of 2 weeks in doses of $5+7 \text{ sm}^3$. Based on the indicators of constitutional and specific post-vaccination immunity against associated circovirus-pasteurellosis infection, a technological card of application of experimental vaccine “ReproSuiVac-P” in the main herd and in rearing groups of the industrial pig breeding was developed*

Keywords: circovirus-pasteurellosis infection, post-vaccination immunity, constitutional immunity, specific immunity

7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

УДК 619:616-002.957:595.77

DOI 10.36016/VM-2020-106-17

ЕПІЗООТОЛОГІЧНЕ ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ДВОКРИЛИХ ПАРАЗИТУЮЧИХ КОМАХ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

Палій А. П., Сумакова Н. В.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: paliy.dok@gmail.com***Павліченко О. В.***Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна***Палій А. П.***Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. Петра Василенка, Харків, Україна*

Розвиток тваринництва, збільшення виробництва молока та м'яса в значній мірі залежать від своєчасного і якісного проведення комплексних ветеринарно-санітарних заходів. Одним з резервів підвищення рентабельності тваринництва є профілактика хвороб інвазійної етіології, у тому числі ентомозів, і захист тварин від кровосисних двокрилих комах. Ентомози сільськогосподарських тварин мають значне поширення на території України та завдають тваринництву значних економічних збитків. Установлено, що у хворих тварин знижується молочна, м'ясна та вовнова продуктивність, племінні якості, народжується ослаблений молодняк, який легко піддається різним захворюванням заразної та незаразної етіології. Навколишнє середовище впливає на особливості морфології, фізіології, екології, поведінки кровосисних комах. Масові спалахи їх розмноження спричиняють колосальні збитки народному господарству, сприяють поширенню трансмісивних хвороб. Вивчення ролі комах у передачі збудників трансмісивних інфекцій є актуальним напрямом сучасних досліджень. Токсична дія слини є одним з аспектів шкідливого впливу кровосисних двокрилих комах на організм людини та тварин. За високої чисельності нападу кровососів інтоксикація може мати серйозне значення та проявлятися як зовнішніми ознаками у вигляді запальних процесів у шкірі, так і зміною фізіологічних показників (температура тіла, формула крові). У тваринницьких та антропогенних біоценозах виникає необхідність проведення ряду ветеринарно-санітарних заходів із захисту тварин від негативної дії паразитуючих двокрилих комах. Перспектива подальших досліджень полягає у вдосконаленні існуючих схем ветеринарно-санітарних заходів на тваринницьких підприємствах з урахуванням сучасних вітчизняних розробок

Ключові слова: збудники трансмісивних хвороб, слина, токсична дія, алергія

На сьогодні у ветеринарній ентомології суттєвою проблемою є недостатня вивченість фауни комах комплексу гнусу на території нашої країни, що, у свою чергу, перешкоджає більш змістовному аналізу складу фауни з урахуванням субрегіональних кліматичних умов.

Зазначене питання необхідно розглядати з урахуванням особливостей місцевих джерел водного живлення та природного дренажу, тобто характеристик ландшафтів, обумовлених рельєфом, ґрунтами, рослинним покривом [1].

Кровосисні двокрилі комахи розповсюджені в усіх ландшафтних зонах і розмножуються у великій кількості протягом усього весняно-літнього періоду року. Вони нападають на тварин, своїми укусами виснажують їх, висмоктують велику кількість крові, вводять в організм зі слиною токсичні речовини. Напад кровосисних комах настільки шкодить тварині, що за масового їх нападу тваринництво стає малорентабельним [2].

Комплекс гнусу, до якого входять гедзі, комарі, мошки та мокреці, відносяться до вільних кровососів, проте антагоністичний характер відносин цих комах і господарів, а також особливості використання господаря, дозволяють вважати кровосисних двокрилих паразитичними організмами. [3, 4]. Імаго комах комплексу гнусу харчуються різними рослинними соками, а кров теплокровних необхідна тільки самкам для дозрівання яєць. З цією метою вони активно нападають на людину, домашніх і диких тварин, птахів [5–8]. Серед сільськогосподарських тварин найбільшому нападу гнусу піддається велика рогата худоба [9]. Результати вивчення сезонної та добової динаміки активності основних компонентів гнусу показали, що протягом літа в північно-східній зоні Якутії розвивається одна генерація цих комах, сезон льоту імаго комарів починається в першій декаді червня та триває до кінця другої декади серпня, а масовий прояв спостерігається в першій–другій декадах липня. Гедзі літають з початку липня до першої декади серпня, сезон льоту мошок і мокреців починається з перших чисел липня. Період масового льоту мошок спостерігається в II декаді липня, а мокреців у III декаді липня та I декаді серпня, при цьому літ припиняється в I декаді вересня [10].

Шкідливий вплив комарів на організм господаря-живителя виражається у сильному неспокої унаслідок хворобливості укусів, дратівливому та токсичному впливі слини, втраті крові та перенесенні цілого ряду збудників інвазійних та інфекційних захворювань [11]. Слина комарів є токсичною для тварин і людини. У місцях укусів у великої рогатої худоби розвиваються запальні процеси, підвищується температура тіла, частішають пульс і дихання, знижується рівень гемоглобіну та кількість еритроцитів у крові, збільшується частка лімфоцитів, погіршується загальний стан організму [12]. Різні теплокровні мають неоднакову чутливість до укусів комарів, а їхня реакція часто залежить від виду комара. Так, уколи малярійних комарів, як правило, менш відчутні, ніж комарів родів *Ochlerotatus* та *Aedes*. У разі масових уколів реакція шкірних покривів і суб'єктивні відчуття зростають, часто спостерігаються набряки, що супроводжуються підвищенням температури тіла [13].

Крім безпосередньої реакції на укуси комарів спостерігаються випадки алергічної реакції [14, 15]. Так, описано випадки госпіталізації людей у Республіці Комі внаслідок сильної алергічної реакції на укуси *Culex pipiens pipiens* L. У результаті інтоксикації від укусів комарів відзначаються випадки захворювання на хронічний гломерулонефрит [16]. Крім того, у результаті уколів комарів спостерігається побічні явища, що виражаються, перш за все, у місцевих нагноєннях. Таке ускладнення є вторинним і пояснюється тим, що попередньо комар харчувався інфікованим матеріалом і під час укусу механічно інокулював його в ранку на тілі людини або тварини [13]. Підвальный комар *Culex pipiens molestus*, ареал якого охоплює багато міст Європи, Азії, Африки, Америки, відіграє особливу роль як масовий кровосос, нападаючи на людей в їхніх оселях і поблизу них, і завдаючи цим величезної шкоди населенню [17].

Токсичну дію слини гедзів на організм людини вивчали ряд науковців Є. Н. Павловський, О. К. Штейн (1935) і М. Г. Олсуф'єв (1935), які вже тоді встановили, що внутрішньошкірне введення суспензії слинних залоз цих комах спричиняє на місці ін'єкції появу почуття печіння, а потім почервоніння та набряклості, іноді зі збільшенням місцевих лімфатичних вузлів. В окремих випадках спостерігалось загальне нездужання, підвищення температури тіла на 1 °C [18, 19]. Отримані дані показують, що хворобливі відчуття за кровосання гедзів спричиняються не тільки механічним пошкодженням шкіри під час уколу, але й, головним чином, токсичною дією слини комах, яка перешкоджає також і згортанню крові та зумовлює тим самим можливість кровосання [20].

На пасовищах і фермах великої рогатої худоби півдня Тюменської області виявлено 9 видів кровосисних мошок, що відносяться до 10 родів, у тому числі в підзоні південної тайги — 4, дрібнолистих лісів — 9 і в лісостеповій зоні — 4 види. Масовими та численними, що заподіюють найбільше занепокоєння тварин на пасовищах, у різних ландшафтно-географічних зонах є види: у підзоні південної тайги — *Byssodon maculatus* (Meigen, 1804) (ІД — 71,4 %) і *Schoenbaueria pusilla* (Fries, 1824) (ІД — 28%), у підзоні осиково-березових лісів — *B. maculatus* (ІД — 21,2–79,6 %) і *Sch. pusilla* (ІД — 17,6–60,0 %), у зоні лісостепу — *B. maculatus* (ІД — 58,1 %) і *Sch. pusilla* (ІД — 22,1 %), *Boophthora erythrocephala* (De Geer, 1776) (ІД — 16,7 %) [21–23].

Найбільш активними гематофагами серед мошок є види: *Schoenbaueria nigra* (Meigen, 1804), *Byssodon maculatus* (Meigen, 1804), *Simulium morsitans* (Edwards, 1915), *S. paramorsitans*

(Rubzov, 1956) [24]. Слина мошок містить фермент апіразу й володіє сильною гемолітичною дією та антикоагулятивною активністю [25]. Отрута у слині сімুলіід володіє токсичною дією і їй притаманна досить суттєва стійкість до дії негативних чинників (температура, луги, спирти). На місці укусу цих комах з'являється точковий крововилив, що супроводжується сильною сверблячкою та пухлиною. У літературі описані випадки госпіталізації людей у південно-східних районах України внаслідок укусів і інтоксикації слиною мошок [26]. У разі інтенсивного нападу мошок розвивається хвороба сімুলіідотоксикоз, яка визнана нозологічною одиницею [27]. Так, у результаті масового нападу *Sch. pusilla* і *Sch. nigra* у людей і тварин відзначено розвиток сімুলіідотоксикозу [28]. Слід зазначити, що випадки сімুলіідотоксикозу та загибелі тварин відзначені в Білорусі [29], Україні [30–32], окремих регіонах Російської Федерації [24, 33–36], Німеччині [37–39], Данії [40], Азербайджані [41] та інших країнах. Клінічна картина захворювання проявляється наявністю множинних точкових крововиливів завбільшки зі шпилькову голівку, які добре помітні на непігментованій ділянці шкіри (особливо на вимені), а також набряків. Протягом перших 6 год набряки досягають свого максимального розвитку, на дотик вони тістоподібні та болючі, загальний стан тварин погіршується [42–44]. Масове паразитування мошок на тваринах спричиняє інтоксикацію, за якої порушуються всі життєво важливі системи організму зі зміною картини крові [45, 46].

Слина кровосисних мокреців, як і інших представників комплексу гнусу також містить токсичні речовини. Установлено, що реакція після укусу *Culicoides minutissimus* Zett. триває до 13 діб [47, 48]. Тваринам мокреці завдають більше шкоди, ніж людям. Через неперервні укуси мокреців на окремих ділянках тіла тварин з тонкою шкірою часто виникають місцеві запальні процеси та виразки [49]. Укуси деяких кровосисних двокрилих, у тому числі і мокреців, можуть спричиняти однакову клінічну картину, за якої характер і ступінь відповідної реакції шкіри теплокровного залежить від його імунної реактивності [50]. Масовий напад мокреців може супроводжуватись алергічним захворюванням, яке називають квінслендською коростою. Цим терміном позначають сезонний дерматит коней. Доведено, що дане захворювання спричинюють мокреці роду *Culicoides* [51].

Токсична дія слини є одним з аспектів шкідливого впливу кровосисних двокрилих комах на організм людини та тварин. У разі високої чисельності нападників-кровососів інтоксикація може мати серйозне значення та проявлятися як зовнішніми ознаками у вигляді запальних процесів у шкірі, так і зміною фізіологічних показників, таких як температура тіла та формула крові [52].

Установлено, що антропогенний вплив на склад і структуру паразитоценозів веде до зниження видового різноманіття кровосисних ектопаразитів. У відповідь реакцією паразитоценозів на даний вплив є зміна домінуючих видів у паразитарних системах, підвищення чисельності адаптованих видів і адаптивна зміна їхніх життєвих циклів. Дані дії будуть посилюватися у міру наростання антропогенного впливу і не залежати від таксономічної приналежності кровосисних ектопаразитів [53].

Природно-вогнищеві інфекції (ПВІ) є однією з актуальних проблем у системі епідеміологічного та епізоотологічного нагляду за інфекційними захворюваннями. Серед актуальних ПВІ слід відмітити геморагічну лихоманку з нирковим синдромом і кліщові трансмісивні інфекції. Останнім часом спостерігається активізація природних вогнищ як цих захворювань, так і туляремії та лептоспірозів, а також виявляються (завдяки впровадженню нових сучасних лабораторних методів) нові, раніше невідомі захворювання [54]. У зв'язку з цим вивчення ролі комах у передачі збудників трансмісивних інфекцій є актуальним напрямом сучасних досліджень. [55, 56].

Оленяча кровососка (лосина муха, лосина воша) — *Lipoptena cervi* (Linnaeus, 1758) належить трибі Lipoptenini підродино Lipopteninae родини Hippoboscidae. Дорослі мухи є облигатними позитивними ектопаразитами диких парнокопитних тварин. Масову появу *L. cervi* відзначено в хвойних лісах у теплі дні «бабиного літа».

Головні переносники хвороби Лайма — іксодові кліщі та оленяча кровососка мають багато спільного, будучи облигатними ектопаразитами, що підстерігають свою жертву. *L. cervi* харчується кров'ю тих же видів диких тварин, які одночасно є живителями іксодід, і займає той же ареал, що і основні переносники хвороби Лайма. Від її укусів на шкірі людини розвиваються різного роду дерматити, у тому числі і еритеми, що супроводжуються запальними явищами, спостерігаються випадки некліщового парентерального зараження хворобою Лайма та

наявність у вмісті кишечника голодних окрилених мух *L. servi* спирохет (збудників хвороби Лайма), а також виявлення за допомогою імуноферментного аналізу в тілі кровососів антигенів *Borrelia burgdorferi*. Беручи до уваги ці факти, видається цілком ймовірним, що *L. servi* може слугувати переносником збудників лаймборреліозу [57].

Циркуляція збудника туляремії серед мошок підтверджена індикацією антигенів у чотирьох пробах, відібраних у травні 2013 року у Новохоперському районі Воронежської області [24].

Показано, що комахи є одним з потенційних факторів переносу та розповсюдження ряду збудників захворювань деревних видів у лісових розплідниках. Серед виявлених у комах фітопатогенних грибів домінують види родів *Cladosporium* і *Alternaria* [58].

Муха *Stomoxys calcitrans* може діяти як ефективний механічний вектор вірусу африканської чуми свиней. Так, вірус африканської чуми свиней був переданий сприйнятливим свиням мухами, зараженими через годину і 24 год раніше, і вірус вижив у цих мух принаймні протягом двох діб без очевидної втрати титру [59].

Результати показують, популяції *Escherichia coli*, отримані в результаті годування личинок домашньої мухи *Musca domestica* L. и мух *Stomoxys calcitrans*, зберігаються на стадії лялечки, тоді як дорослі мухи *Stomoxys calcitrans* відіграють незначну роль у поширенні *E. coli*. Однак лялечки обох видів мають потенціал виступати як резервуари для *E. coli*. [60].

Домашні мухи (*Musca domestica*) були інфіковані *Campylobacter jejuni* після того, як були замкнуті протягом 5 діб у ізоляторі Horsfall де утримували 25-добових курчат. Даний експеримент демонструє потенційну роль мух у поширенні пташиного кампілобактеріозу [61].

Спостережувана картина відображає щорічне інфікування людей *Campylobacter* spp. та епідемію, спричинену розповсюдженням збудників мухами, що контактували з фекаліями [62].

Під час експериментальних досліджень мухи (*M. domestica*) на молочній фермі та птахокомплексі виявились носіями *S. enteritidis* [63], а також *E. coli* та *S. aureus* [64]. Визначено, що *M. domestica* відіграє провідну роль у передачі екзогенних форм гельмінтів, під час її дослідження було виявлено яйця аскарид та езофагостом. Доведено, що джерелом забруднення доквілля яйцями трихостронгіят може бути *Musca autumnalis* [65]. В умовах кінологічного центру *M. domestica* є джерелом забруднення доквілля екзогенними формами гельмінтів *Toxocara canis* і *Trichuris vulpis*, а вид *Muscina stabulans* F. та *Stomoxys calcitrans* L. можуть бути джерелом поширення личинок *Ancylostoma caninum* та яєць *Trichuris vulpis* відповідно [66].

Установлено, що види *S. sitiens* і *S. indica* є переносниками трипаносом [67].

Установлена роль комах у перенесенні збудників гельмінтозних інвазій людини [68, 69].

Проведені впродовж кількох років у квітні та травні спостереження за комплексом гнуса на пасовищах та збори двокрилих у місцях випасу тварин у Дергачівському, Харківському та Зміївському районах Харківської області показали значну чисельність кровосисних комах — комарів, мокреців, мошок і гедзів. На пасовищах, де випасалися корови, а також біля тваринницьких приміщень з утримання великої рогатої худоби, уранці (7–8 год) та ввечері (18–20 год) за оптимальної температури (17–19 °C) найбільш активними були комарі (Culicidae). Мошки (Simuliidae) і гедзі (Tabanidae) були активними в світлий час доби. Гедзі для кровосання особливо вибирали спекотні сонячні дні.

У зборах двокрилих було виявлено понад 1 500 самок комарів різних видів. Під час дослідження малярійних комарів (*Anophele maculipens* Mg.) і комарів-піскунів або звичайних комарів (*Culex pipiens* L.) у самок у слинних залозах були виявлені мікрофілярії. Результати досліджень яєчників показали, що самки мали по 3 яйцекладки. Тобто кожна самка не менше трьох разів споживала кров. Малярійний комар виду *A. maculipens* є не тільки переносником збудника малярії, а ще й нематод роду *Dirofilaria* [70].

Так, у комах виду Blattodea (*Periplaneta americana* — американський тарган) виявлені такі форми гельмінтів: яйця Oxyuridae (36,4 %), яйця Ascaridae (28,04 %), личинки нематоди (4,8 %), яйця цестоди (3,5 %) і іншої нематоди (0,08 %) і яйця Toxocaridae (0,08 %) [71].

Найкращий ефект у боротьбі з паразитичними комахами досягається за інтеграції відомих екологічно безпечних методів і засобів, спрямованих на знищення личинок і захист тварин від нападу імаго [72]. На основі вивчення біоекологічних особливостей копрофільних стафілінід можливе виділення перспективних видів-ентомофагів для використання у біорегуляції чисельності зоофільних мух [73]. Доведено, що ектопаразити швидко поширюються у разі

недотримання ветеринарно-санітарних норм і правил, наявності механічних переносників тощо [74].

На сьогодні найбільш ефективними за обробок тварин проти гнусу є синтетичні піретроїди, більшість з яких, поряд з виключно високою інсектицидною ефективністю та низькою токсичністю для теплокровних, володіють значно тривалішою залишковою дією. Також, комплекс заходів щодо захисту тварин від гнусу включає використання відлякуючих речовин — репелентів [75]. Запорукою високого санітарного стану на тваринницьких фермах і комплексах є вчасне та якісне проведення комплексу ветеринарно-санітарних заходів шляхом застосування високоефективних сануючих засобів [76–79].

Висновок. Навколишнє середовище впливає на особливості морфології, фізіології, екології, поведінки кровосисних комах. Масові спалахи їх розмноження завдають колосальних збитків народному господарству, сприяють поширенню трансмісивних хвороб. Вивчення ролі комах у передачі збудників трансмісивних інфекцій є актуальним напрямом сучасних досліджень.

Токсична дія слини є одним з аспектів шкідливого впливу кровосисних двокрилих комах на організм людини та тварин. За високої кількості нападів кровососів інтоксикація може мати серйозне значення та проявлятися як зовнішніми ознаками у вигляді запальних процесів у шкірі, так і зміною фізіологічних показників (температура тіла, формула крові).

У тваринницьких та антропогенних біоценозах виникає необхідність проведення ряду ветеринарно-санітарних заходів із захисту тварин від негативної дії паразитуючих двокрилих комах.

Перспектива подальших досліджень полягає в удосконаленні існуючих схем ветеринарно-санітарних заходів на тваринницьких підприємствах з урахуванням сучасних вітчизняних розробок.

Список літератури

1. Медведев С. Г., Айбулатов С. В. Фауна кровососущих насекомых комплекса гнуса (Diptera) Ленинградской области и Санкт-Петербурга. *Паразитология*. 2012. Т. 46, № 5. С. 350–368. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/2012/prz_2012_5_3_Medvedev.pdf.
2. Сидорчук А. А. и др. Ветеринарная санитария. Санкт-Петербург: Лань, 2011. 368 с.
3. Алексеев В. И. Материалы по фауне и биологии кровососущих двукрылых (Diptera: Brachycera) Калининградской области. *Новые энергосберегающие технологии в зоотехнии и ветеринарии*: материалы междунар. науч.-практ. семинара (Калининград, 10–11 нояб. 2005 г.). Калининград, 2005. С. 3–11.
4. Полякова П. Е. О роении кровососущих комаров в районах севера Сибири и Дальнего Востока. *Паразитология*. 1974. Т. 8, № 1. С. 22–27. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/1974/prz_1974_1_4_Poljakova.pdf.
5. Sota T., Hayamizu E., Mogi M. Distribution of biting *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) among pigs: effects of host size and behavior. *Journal of Medical Entomology*. 1991. Vol. 28, No. 3. P. 428–433. DOI: <https://doi.org/10.1093/jmedent/28.3.428>.
6. Нарчук Э. П. Имагинальное питание у двукрылых насекомых (Diptera) и роль питания кровью в эволюции отряда. *Материалы I Всероссийского совещания по кровососущим насекомым (Санкт-Петербург, 24–27 окт. 2006 г.)*. Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 2006. С. 129–132. URL: https://www.zin.ru/conferences/blsuck1/Tezisy_html/Nartshuk.htm.
7. Медведев С. Г. Фауна кровососущих насекомых комплекса гнуса (Diptera) Северо-Западного региона России. Анализ распространения. *Энтомологическое обозрение*. 2011. Т. 90, № 3. С. 527–547. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16713612>.
8. Мезенев Н. П. Соотношение компонентов гнуса на Таймыре и в других районах Крайнего Севера. *Паразитология*. 1968. Т. 2, № 4. С. 347–351. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/1968/prz_1968_4_14_Mezenev.pdf.
9. Kuntz K. J., Olson J. K., Rade B. J. Role of domestic animals as hosts for blood-seeking females of *Psorophora columbiae* and other mosquito species in Texas rangelands. *Mosquito News*. 1982. Vol. 42, No. 2. P. 202–210. URL: http://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/MN_V42_N2_P202-210.pdf.
10. Решетников А. Д. и др. Сезонный ход численности компонентов гнуса северо-восточной Якутии и их фенологическая сигнализация. *Наука и образование*. 2009. № 2. С. 100–103. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=12568230>.
11. Пителина Л. А. Фауна и биология комаров бассейна нижнего течения Вилюя. *Паразитология*. 1973. Т. 7, № 5. С. 450–456. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/1973/prz_1973_5_11_Pitelina.pdf.
12. Кудрявцева Г. А. К вопросу о токсичности слюны комаров р. *Aedes* для животных. *Зоологический журнал*. 1956. Т. 35, № 12. С. 1853–1860.
13. Горностаева Р. М. Данилов А. В. Комары Москвы и Московской области. Москва: KMK Scientific Press, 1999. 342 с.

14. Galindo P. A. et al. Mosquito bite hypersensitivity. *Allergologia et Immunopathologia*. 1998. Vol. 26, No. 5. P. 251–254. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9885733>.
15. Singh S., Mann B. K. Insect bite reactions. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2013. Vol. 79, No. 2. P. 151–164. DOI: <https://doi.org/10.4103/0378-6323.107629>.
16. Рысс Е. С. и др. Случай хронического гломерулонефрита после укуса комара. *Терапевтический архив*. 1991. Т. 63, № 6. С. 132–134.
17. Виноградова Е. Б. Городские комары или «Дети подземелья». Москва-Санкт-Петербург: Товарищество научных изданий КМК, 2004. 96 с. (Разнообразие животных. Вып. 2).
18. Балашов Ю. С. и др. Разлёт и численность слепней рода *Hybomytra* Enderlein (Tabanidae) вокруг стад крупного рогатого скота. *Энтомологическое обозрение*. 1985. Т. 64, № 1. С. 74–78.
19. Иванов В. П. Экспериментальное исследование маршрутной ориентации слепней *Hybomitra* (Diptera, Tabanidae) в полевых условиях. *Паразитология*. 1994. Т. 28, № 5. С. 364–372. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/1994/prz_1994_5_3_Ivanov.pdf.
20. Соболева Р. Г. Слепни (Diptera, Tabanidae) юга Приморского края. Новосибирск: Наука, 1974. 262 с.
21. Павлова Р. П., Фёдорова О. А. Места выплода и экология кровососущих мошек (Diptera, Simuliidae) лесостепного Зауралья. *Труды Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии*. 2006. № 48. С. 132–145.
22. Павлова Р. П., Фёдорова О. А. К экологии кровососущих мошек (Diptera, Simuliidae) подзоны мелколиственных осиново-берёзовых лесов Тюменской области. *Труды Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии*. 2007. № 49. С. 175–186.
23. Павлова Р. П., Хлызова Т. А., Фёдорова О. А. Экология кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) и мошек (Diptera, Simuliidae) лесостепного Зауралья. *Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование*. 2007. № 6. С. 165–172. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=11665674>.
24. Будаева И. А. и др. О массовом нападении насекомых комплекса гнуса в Воронежской области в 2013 году. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2015. № 4. С. 51–55. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25979425>.
25. Демьянченко Г. Ф. Токсичность слюны мошек (сем. Simuliidae) для организма сельскохозяйственных животных. *Труды Всесоюзного научно-исследовательского института ветеринарной санитарии и эпизоотологии*. 1957. Т. 12. С. 91–104.
26. Усова З. В., Рева М. В., Семушин Р. Д. Мошки (Diptera, Simuliidae) юго-востока Украины. *Материалы I Всероссийского совещания по кровососущим насекомым (Санкт-Петербург, 24–27 окт. 2006 г.)*. Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 2006. С. 202–203. URL: https://www.zin.ru/conferences/blsuck1/Tezisy_hm/Usova.htm.
27. Андреев К. П. Ветеринарная энтомология и дезинсекция. Москва: Колос, 1966. 327 с.
28. Усова З. В., Семушин Р. Д., Кузнецов А. В. Условия массового размножения кровососущих мошек (Diptera, Simuliidae) и случаи симулиидотоксикоза людей в долинах рек Северский Донец и её притоков. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1983. № 1. С. 37–40.
29. Каплич В. М. Вредоносность кровососущих мошек в условиях Белоруссии. *Молодёжь и современная наука: тез. докл. II респ. конф. мол. исследователей (Кишинёв, 14–15 дек. 1989 г.)*. Секц. биол. и с.-х. науки, хим. науки. Кишинёв, 1989. С. 51–52.
30. Лукьянов Н. И., Иваненко Н. М. Симулиотоксикоз крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 1965. № 6. С. 89–91.
31. Ковбан В. З. Случаи симулиотоксикоза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 1966. № 5. С. 88–90.
32. Прудкина Н. С., Солодовникова В. С., Гусакова В. А. Массовое размножение мошек (Diptera, Simuliidae) в восточной Украине. *Кровососущие и зоофильные двукрылые (Insecta: Diptera)*. Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 1992 (1993). С. 133–135.
33. Тощев А. П., Соловьев Ф. А., Фомина Т. М. О симулиидотоксикозе с/х животных. *Ветеринария*. 1953. № 7. С. 49–52.
34. Митрохин В. У. Экономический ущерб, причиняемый мошками. *Вопросы ветеринарной арахноэнтомологии: науч.-техн. бюл. ВНИИВЭА. Тюмень, 1975. Вып. 6. С. 104–109.*
35. Лысков Л. В., Прокопьев З. С. Массовая гибель северных оленей от нападения кровососущих двукрылых и оводов в Якутии. *Охрана и рациональное использование животного мира и природной среды Якутии: матер. VIII респ. совещ. по охране природы Якутии*. Якутск 1979. С. 29–31.
36. Хицова Л. Н., Будаева И. А. Новые данные о массовом размножении мошек (Diptera, Simuliidae) в Воронежской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2006. № 1. С. 39–40. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=9186370>.
37. Größler R. Kriebelmückenplage in Teilen Hessens. *Tierärztliche Praxis*. 1981. Bd. 9, Hf. 2. S. 175–179. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7348928>.
38. Grafner G., Betke P. Zur Bedeutung des Kriebelmückenbefalls bei Weidetieren mit einem geschichtlichen Überblick über das Vorkommen von Kriebelmücken (Diptera; Simuliidae) auf dem Territorium der DDR. *Monatshefte für Veterinärmedizin*. 1982. Bd. 37, Hf. 12. S. 448–450.
39. Rühm W. Die Bekämpfung von Kriebelmücken (Simuliidae, Diptera) am Rind in Mitteleuropa Voraussetzungen, Problematik, Wege. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 1983. Bd. 96, Hf. 3. S. 97–101. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6847600>.
40. Nielsen O. V. et al. Kvægmygangreb i Danmark. Erfaringer fra perioden 1978–1986. *Dansk Veterinærtidsskrift*. 1988. Bd. 71, Hf. 2. S. 55–58.
41. Абусалимов Н. С. Кровососущие мошки в Азербайджане. *Ветеринария*. 1947. № 8. С. 79–83.

42. Погорелый Л. И., Ковбан В. З. Заболевание и гибель крупного рогатого скота от массовых укусов кровососущих мошек на территории Волынской области. *Ветеринария*. 1966. № 6. С. 105–110.
43. Погорелый Л. И., Ковбан В. З. О патогенезе заболеваний крупного рогатого скота от укусов мошек. *Ветеринария*. 1967. № 11. С. 68–72.
44. Edgar S. A. A field study of the effect of black fly bites, on egg production of laying hens. *Poultry Science*. 1953. Vol. 32, No. 5. P. 779–780. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0320779>.
45. Ковбан В. З. Прогнозирование и профилактика массовых нападений кровососущих мошек. *Ветеринария*. 1968. № 6. С. 89–91.
46. Скуловец М. В., Ятусевич А. И., Каплич В. М. Симулидотоксикоз животных в пойме Полесья Республики Беларусь. *Учёные записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»*. Витебск, 2012. Т. 48, вып. 2, ч. 1. С. 21–23. URL: <http://repo.vsavm.by/handle/123456789/605>.
47. Hase A. Hautreaktionen nach Stichen der Gnitzze *Culicoides minutissimus* Zett (Diptera, Heleidae). *Zeitschrift fur Parasitenkunde*. 1953. Bd. 15, Hf. 6. S. 519–537. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00260173>.
48. Lee D. J. A delayed diagnosis of bung eye. *The Medical Journal of Australia*. 1958. Vol. 45, No. 22. P. 743. DOI: <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1958.tb86761.x>.
49. Бродская Н. К. Фенология и сезонный ход численности массовых видов мокрецов рода *Culicoides* на юге Псковской области. *Паразитология*. 1992. Т. 26, № 3. С. 257–259. URL: https://www.zin.ru/journals/parazitologiya/content/1992/prz_1992_3_10_Brodsкая.pdf.
50. Цыркунов Л. П. Дерматоз, вызванный укусами кровососущих насекомых. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1989. № 1. С. 74–76.
51. Mellor P. S., McCaig J. The probable cause of “sweet itch” in England. *The Veterinary Record*. 1974. Vol. 95, No. 18. P. 411–415. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.95.18.411>.
52. Хлызова Т. А., Фёдорова О. А., Сивкова Е. И. Патологическое воздействие слюны кровососущих двукрылых насекомых на организм человека и животных (обзор). *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2017. № 7(207). С. 90–96. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30608655>.
53. Денисов А. А. Биоэкологическая характеристика адаптации кровососущих эктопаразитов мелких млекопитающих в антропогенных биоценозах Волгоградской области зоны Нижнего Поволжья. *Экологическая безопасность и охрана окружающей среды в регионах России: теория и практика: материалы II Всерос. науч.-практ. конф. (Волгоград, 17–18 нояб. 2016 г.)*. Волгоград: Изд-во ВолГУ, 2016. С. 265–268. URL: https://volsu.ru/upload/medialibrary/b6a/ЭКОБЕЗ_2016_сборник.pdf.
54. Нафеев А. А. Проблемы в организации профилактики заражения городского населения клещевыми инфекциями. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2010. Т. 15, № 4. С. 42–44. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15179554>.
55. Cholewiński M., Derda M., Hadaś E. Parasitic diseases in humans transmitted by vectors. *Annals of Parasitology*. 2015. Vol. 61, No. 3. P. 137–157. DOI: <https://doi.org/10.17420/ap6103.01>.
56. Heck M. Insect transmission of plant pathogens: a systems biology perspective. *mSystems*. 2018. Vol. 3, No. 2. P. e00168-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00168-17>.
57. Островский А. М. Оценка роли *Lipoptena cervi* (linnaeus, 1758) в трансмиссии возбудителя лайм-боррелиоза на юго-востоке Беларуси. *Паразитарные системы и паразитоценозы животных: матер. V науч.-практ. конф. Междунар. ассоциации паразитоценологов (Витебск, 24–27 мая 2016 г.)*. Витебск: УО ВГАВМ, 2016. С. 129–131. URL: <http://repo.vsavm.by/handle/123456789/1060>.
58. Пантелеев С. В. Оценка роли насекомых в распространении возбудителей кладоспориоза и альтернариоза в лесных питомниках на основании использования методов ДНК-анализа. *Труды Белорусского государственного технологического университета*. 2012. № 1(148): Лесное хозяйство. С. 253–257. URL: <https://elib.belstu.by/handle/123456789/2276>.
59. Mellor P. S., Kitching R. P., Wilkinson P. J. Mechanical transmission of capripox virus and African swine fever virus by *Stomoxys calcitrans*. *Research in Veterinary Science*. 1987. Vol. 43, No. 1. P. 109–112. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30753-7](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30753-7).
60. Rochon K., Lysyk T. J., Selinger L. B. Retention of *Escherichia coli* by house fly and stable fly (Diptera: Muscidae) during pupal metamorphosis and eclosion. *Journal of Medical Entomology*. 2005. Vol. 42, No. 3. P. 397–403. DOI: <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.3.397>.
61. Shane S. M., Montrose M. S., Harrington K. S. Transmission of *Campylobacter jejuni* by the housefly (*Musca domestica*). *Avian Diseases*. 1985. Vol. 29, No. 2. P. 384–391. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4026732>.
62. Nichols G. L. Fly transmission of *Campylobacter*. *Emerging Infectious Diseases*. 2005. Vol. 11, No. 3. P. 361–364. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1103.040460>.
63. Mian L. S., Maag H., Tacal J. V. Isolation of *Salmonella* from muscoid flies at commercial animal establishments in San Bernardino County, California. *Journal of Vector Ecology*. 2002. Vol. 27, No. 1. P. 82–85. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12125877>.
64. Barreiro C. et al. Role of flies as vectors of foodborne pathogens in rural areas. *ISRN Microbiology*. 2013. Vol. 2013. P. 718780. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/718780>.
65. Paliy A. P. et al. Biological control of house fly. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No. 2. P. 230–234. URL: <https://www.ujecology.com/articles/biological-control-of-house-fly.pdf>.
66. Paliy A. P. et al. Contamination of animal-keeping premises with eggs of parasitic worms. *Biosystems Diversity*. 2018. Vol. 26, No. 4. P. 327–333. DOI: <https://doi.org/10.15421/011848>.
67. Masmeathip R. et al. First survey of seasonal abundance and daily activity of *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae) in Kamphaengsaen Campus, Nakornpathom province, Thailand. *Parasite*. 2006. Vol. 13, No. 3. P. 245–250. DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2006133245>.

68. El-Sherbini G. T. The role of insects in mechanical transmission of human parasites. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2011. Vol. 13, No. 9. P. 678–679. DOI: <https://doi.org/10.5812/kowsar.20741804.2253>.
69. Graczyk T. K., Knight R., Tamang L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005. Vol. 18, No. 1. P. 128–132. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.18.1.128-132.2005>.
70. Стегній Б. Т. та ін. Ектопаразити як механічні і трансмісивні переносники інфекційних хвороб. *Вісник аграрної науки*. 2017. № 11. С. 35–38. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201711-05>.
71. Thyssen P. J. et al. O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. *Cadernos de Saude Publica*. 2004. Vol. 20, No. 4. P. 1096–1102. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2004000400025>.
72. Палій А. П. та ін. Застосування інсектицидів у промисловому тваринництві. *Ветеринарна медицина: міжвід. тематич. наук. зб.* 2019. Вип. 105. С. 102–107. DOI: <https://doi.org/10.36016/VM-2019-105-21>.
73. Paliy A. P. et al. Distribution, bioecological peculiarities of staphylinids (Coleoptera, Staphylinidae) in livestock biocenoses of forest-steppe and steppe Ukraine. *Biosystems Diversity*. 2020. Vol. 28, No. 1. P. 24–28. DOI: <https://doi.org/10.15421/012004>.
74. Paliy A. P. et al. Distribution of poultry ectoparasites in industrial farms, farms, and private plots with different rearing technologies. *Biosystems Diversity*. 2018. Vol. 26, No. 2. P. 153–159. DOI: <https://doi.org/10.15421/011824>.
75. Палій А. П. та ін. Науково-методичні основи контролю розробки та застосування засобів дезінфекції. Харків: Міськдрук, 2020. 318 с.
76. Paliy A. P. et al. A study of the efficiency of modern domestic disinfectants in the system of TB control activities. *Agricultural Science and Practice*. 2015. Vol. 2, No. 2. P. 26–31. DOI: <https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.026>.
77. Paliy A. P. et al. Effectiveness of aldehyde disinfectant against the causative agents of tuberculosis in domestic animals and birds. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No. 1. P. 845–850. URL: <https://www.ujecology.com/articles/effectiveness-of-aldehyde-disinfectant-against-the-causative-agents-of-tuberculosis-in-domestic-animals-and-birds.pdf>.
78. Палій Анд., Палій Анат. Техніко-технологічні інновації у молочному скотарстві. Харків: Міськдрук, 2019. 324 с.
79. Завгородній А. І. та ін. Наукові та практичні аспекти дезінфекції у ветеринарній медицині. Харків: ФОП Бровін О. В., 2013. 222 с.

**EPIZOOTOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF PARASITIC DIPTERIANS
(LITERATURE REVIEW)**

Paliy A. P., Sumakova N. V.

National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

Pavlichenko O. V.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Palii A. P.

Petro Vasylenko Kharkiv National Technical University of Agriculture, Kharkiv, Ukraine

The development of animal husbandry, the increase in milk and meat production largely depend on the timely and high-quality implementation of integrated veterinary and sanitary measures. One of the reserves to increase the profitability of animal husbandry is the prevention of diseases of invasive etiology, including entomoses, and the protection of animals from blood-sucking dipterians. Entomoses of farm animals are widespread in Ukraine and cause significant economic damage to livestock farming. It has been established that in sick animals milk, meat and wool productivity, breeding qualities are reduced, weakened young animals are born, which are susceptible to various diseases of infectious and not infectious etiology. The environment affects the characteristics of morphology, physiology, ecology, the behavior of blood-sucking insects. Mass outbreaks of their reproduction cause significant losses to the national economy, contribute to the spread of vector-borne diseases. The study of the role of insects in the transmission of pathogens of vector-borne infections is an important area of modern research. The toxic effect of saliva is one of the aspects of the harmful effects of blood-sucking dipterians on humans and animals. With a high number of attacks by bloodsuckers, intoxication can be of serious importance and manifest itself both in external signs in the form of inflammatory processes on the skin, and in a change in physiological parameters (body temperature, blood balance). In livestock and anthropogenic biocenoses, there is a need for a number of veterinary and sanitary measures to protect animals from the negative effects of parasitic dipterians. The prospect of further research is to improve the existing schemes of veterinary and sanitary measures at livestock enterprises, taking into account modern domestic developments

Keywords: *causative agents of transmissible diseases, saliva, toxic effect, allergy*

УДК 619:616-002.91:576.893.19:612.11:636.22/.28.082.35

DOI 10.36016/VM-2020-106-18

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ НА МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ТЕЛЯТ ЗА ЗМІШАНОГО ПЕРЕБІГУ КРИПТОСПОРИДІОЗУ ТА ЕЙМЕРІОЗУ

Богач М. В., Скальчук В. В., Бондаренко Л. В.

Одеська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Одеса, Україна, e-mail: bogach_nv@ukr.net

Метою роботи було з'ясувати вплив препаратів на морфологічні показники крові телят за змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу. Сформовано три групи телят ($n = 7$) спонтанно інвазованих криптоспоридіями і еймеріями. Проведено їх лікування бровітакокцидом (I група) і препаратом «Ампролев-плюс» (II група) та визначено зміни морфологічних показників крові до застосування препаратів та на 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу доби. За спонтанного змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу телят екстенсивність бровітакокциду за криптоспоридіозу склала 85,7 %, за еймеріозу — 100 %, тоді як ефективність препарату «Ампролев-плюс» за криптоспоридіозу становила 100 %, а за еймеріозу — 85,7 %. За змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу телят відновлення морфологічних показників крові після застосування препарату «Ампролев-плюс» реєстрували на 14-ту добу, а бровітакокциду — на 21-шу добу. Запропоновані препарати відновлюють вміст еритроцитів до рівня $6,91 \pm 0,52$ і $6,86 \pm 0,55$ Т/дм³ і гемоглобіну — до $115,85 \pm 1,22$ і $116,22 \pm 0,24$ г/дм³. Кількість лейкоцитів зменшилася на 28,9 і 35,7 % порівняно до застосування препаратів, лімфоцитів — на 10,5 і 9,0 %, моноцитів — 10,5 і 8,8 %. Позитивна кореляція показників вмісту лейкоцитів і абсолютної кількості лімфоцитів указує на активізацію клітинної ланки імунітету

Ключові слова: бровітакокцид, Ампролев-плюс, клітинна ланка імунітету

Cryptosporidium parvum — це найпростіший паразит, який в даний час визнаний однією з основних причин діареї у телят раннього віку [1].

Зараження *Cryptosporidium* spp. відбувається в перші години після народження, так як мінімальний препатентний період становить від 2 до 3 діб [2, 3]. За даними інших авторів, виділення ооцист у телят реєструють у віці від 14 до 53 діб, що вказує на тривалий період виділення ооцист у довкілля [4, 5].

Криптоспоридії часто паразитують сумісно з еймеріями та гельмінтами, що призводить до ускладнення лікувально-оздоровчих заходів і підвищення рівня загибелі молодняку тварин [6].

Патогенез гельмінтозних захворювань розглядається як складний комплекс взаємопов'язаних і взаємообумовлених процесів, які виникають, з одного боку, у результаті патогенетичного впливу гельмінтів, а з іншого, є реакцією-відповіддю організму хазяїна на проникнення паразитів. Вплив гельмінтів на організм пов'язаний з механічною, трофічною та токсичною їхньою діями, а також із негативним впливом на мікрофлору кишечника [7, 8].

Паразитовання гельмінтів в організмі хазяїна супроводжується розвитком імунної відповіді із залученням різноманітних клітинних і гуморальних феноменів, а також реакції гіперчутливості негайного та сповільненого типів. Імунобіологічна перебудова організму за паразитарних хвороб, будучи фактором захисту, водночас слугує основним патогенетичним фактором [6, 9, 10].

За криптоспоридіозу у крові телят реєструють гіперхромемію, еритроцитоз і лейкоцитоз, еозинофілію, збільшення кількості паличкоядерних та зменшення сегментоядерних нейтрофілів [11].

У крові телят за еймеріозу виявляється гемоглобінемія, еритропенія та лейкоцитоз. Установлений лейкоцитоз супроводжується дегенеративним зрушенням ядра нейтрофілів вправо й еозинопенією, що свідчить про компенсаторну реакцію організму тварин у відповідь на подразнення токсинами еймерій і медіаторами запалення [12].

На сьогоднішній день немає препаратів або профілактичних заходів для контролю цього захворювання [13]. Ні вакцинація, ні пробіотики не були ефективними для запобігання виникнення та поширення *Cryptosporidium parvum* у телят [14].

Тому, пошук ефективних лікувально-профілактичних засобів за криптоспоридіозу телят є актуальним зі з'ясуванням їхнього впливу на морфологічні показники крові.

Метою роботи було з'ясувати вплив препаратів на морфологічні показники крові телят за змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу.

Матеріали та методи. У господарстві ДП ЕБ «Дачна» СГП-НЦНС Біляївського району Одеської області, неблагополучного щодо криптоспоридіозу та еймеріозу було сформовано три групи телят по 7 гол. у кожній.

Тваринам першої дослідної групи задавали бровітакокцид (ТОВ «Бровафарма») орально в суміші з водою у дозі 1,5 г/10 кг маси тіла протягом 5 діб двома курсами з інтервалом 5 діб.

Телятам другої дослідної групи задавали препарат «Ампролев-плюс» [15] орально у дозі 1,0 г/10 кг маси тіла протягом 5 діб також двома курсами з інтервалом 5 діб.

Телята третьої групи слугували контролем (неінвазовані). Тваринам контрольної групи задавали ізотонічний розчин натрію хлориду у дозі 3 см³/10 кг маси тіла, одноразово.

Кров для досліджень відбирали у телят вранці до годівлі з яремної вени з дотриманням правил асептики та антисептики.

Морфологічні показники крові визначали загальноприйнятими методами [16, 17] до застосування препаратів та на 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу доби. Кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну визначали на ФЕК-М за методикою Є. С. Гаврилець, кількість лейкоцитів — за допомогою лічильної камери Горяєва, лейкограму виводили підрахунком окремих лейкоцитів у фіксованих мазках, пофарбованих за Романовським–Гімза, концентрацію гемоглобіну — гемоглобінціанідним методом за методикою Дервіза–Воробйова.

Дослідження на тваринах проводили з урахуванням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених на Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [18, 19].

Результати досліджень. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що за спонтанного змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу телят екстенсефективність бровітакокциду за криптоспоридіозу склала 85,7 %, за еймеріозу — 100 %, тоді як ефективність препарату «Ампролев-плюс» за криптоспоридіозу становила 100 %, а за еймеріозу — 85,7 %. Інтенсефективність бровітакокциду за криптоспоридіозу була на рівні 78,6 % і 100 % — за еймеріозу. Засіб «Ампролев-плюс» проявив 100 %-ву інтенсефективність за криптоспоридіозу, а за еймеріозу — на рівні 92,9 %.

У крові телят дослідних груп до застосування бровітакокциду та «Ампролеву-плюс» вміст гемоглобіну був відповідно на 15,6 і 14,8 % менше, порівняно до контролю. У другій дослідній групі показник наблизився до контролю на 14-ту добу і склав $115,85 \pm 1,22$ г/дм³ проти $118,22 \pm 1,07$ г/дм³ у контрольній групі, тоді як у першій групі лише на 21-шу добу — $116,22 \pm 0,24$ г/дм³ проти $118,46 \pm 0,92$ г/дм³ (рис. 1).

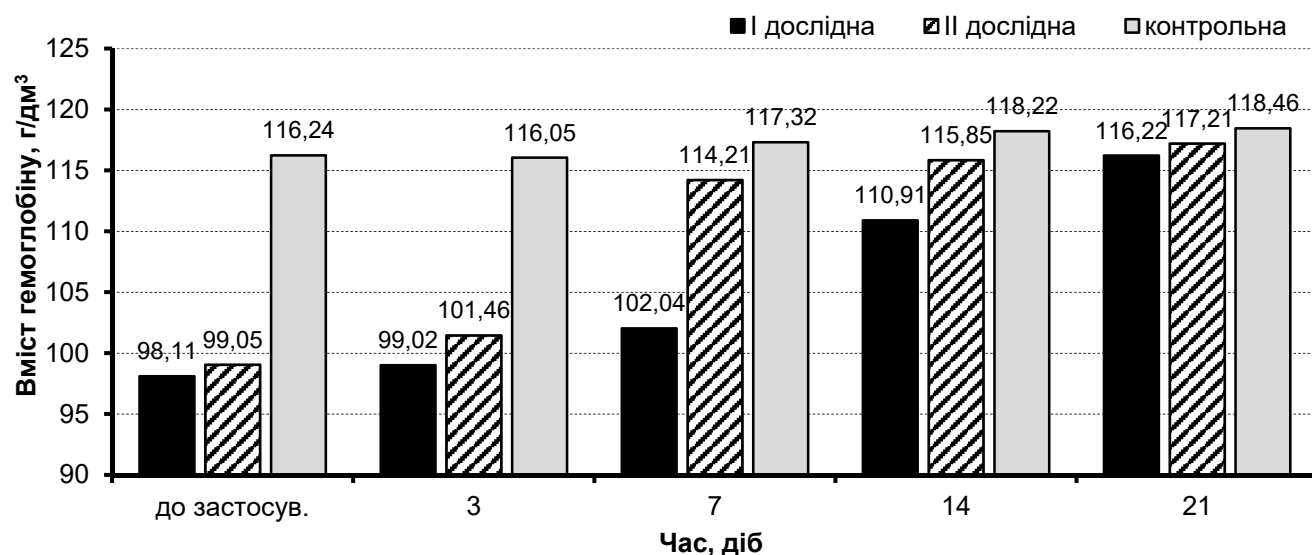
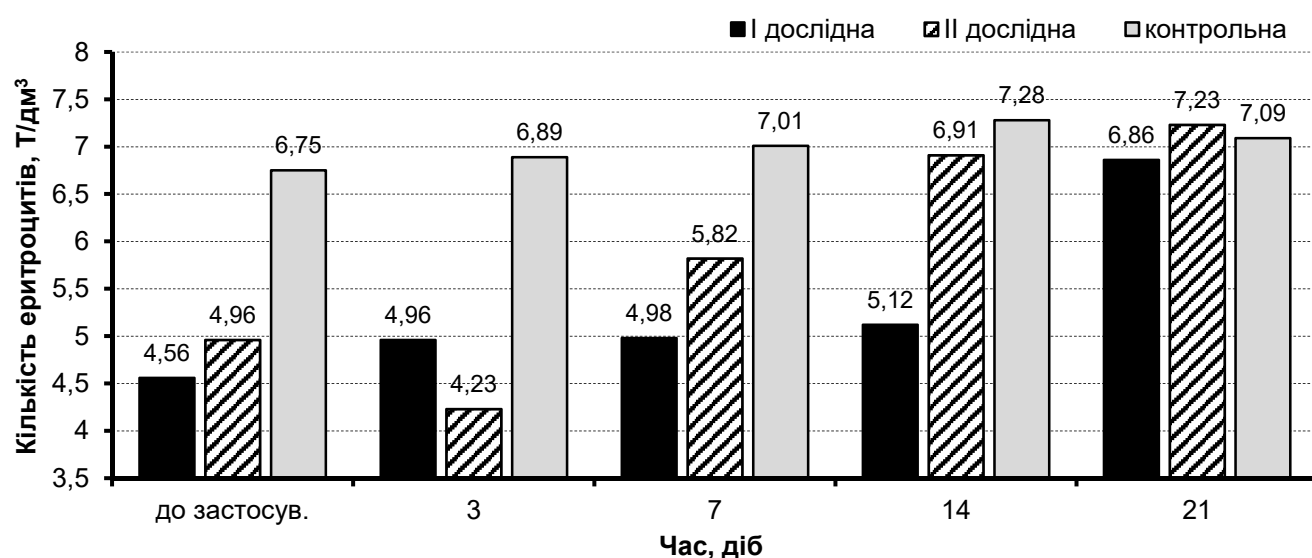
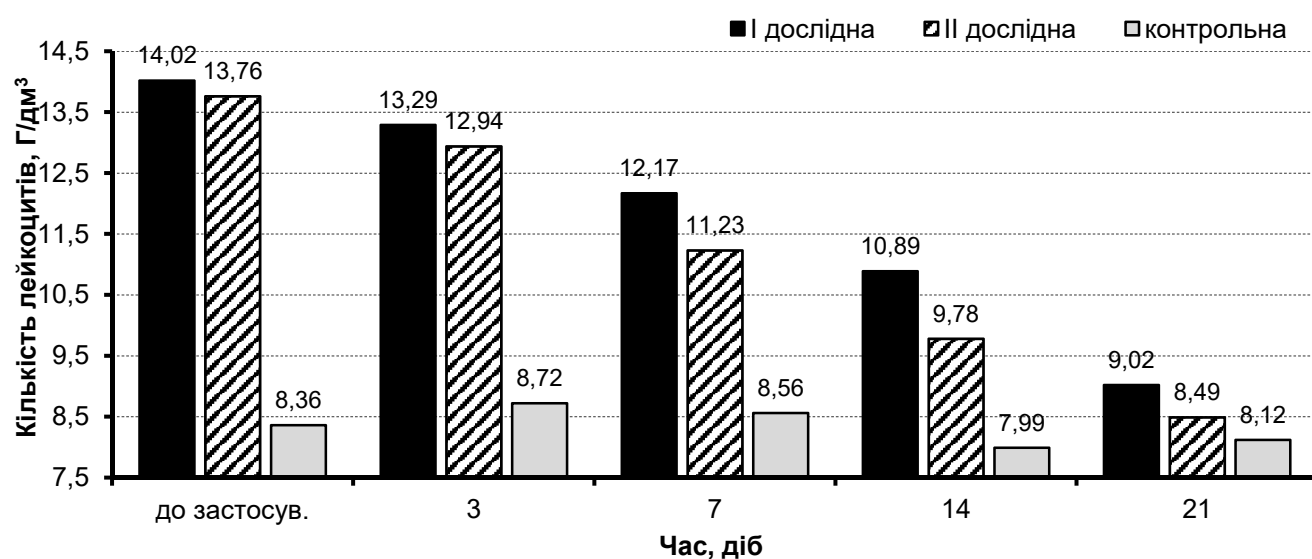
Кількість еритроцитів до застосування препаратів становила $4,56 \pm 0,21$ і $4,96 \pm 0,12$ Т/дм³, що на 32,4 і 26,5 % менше, порівняно до контролю.

У другій групі показник наблизився до контролю ($7,28 \pm 0,72$ Т/дм³) на 14-ту добу та склав $6,91 \pm 0,52$ Т/дм³, а в першій групі — на 21-шу добу та склав $6,86 \pm 0,55$ Т/дм³ проти $7,09 \pm 0,28$ Т/дм³ (рис. 2).

Кількість лейкоцитів на початку досліду була досить високою і становила $14,02 \pm 0,32$ і $13,76 \pm 0,12$ Г/дм³, що на 67,7 і 64,6 % більше, порівняно до контролю. У другій групі кількість лейкоцитів знизилась на 14-ту добу і склала $9,78 \pm 0,68$ Г/дм³, тоді як такий показник у першій групі реєстрували лише на 21-шу добу — $9,02 \pm 0,43$ Г/дм³ (рис. 3).

Збільшення кількості еозинофілів у першій дослідній групі тварин відмічали на 21-шу добу ($5,24 \pm 0,49$ %), тоді як у другій дослідній групі — на 14-ту добу ($6,28 \pm 0,46$ %) (табл.).

Юні нейтрофіли до застосування препаратів були в межах від $0,32 \pm 0,02$ до $0,41 \pm 0,12$ %. Після застосування препаратів їхня кількість на 21-шу добу зменшилась і становила $0,15 \pm 0,01$ % у першій групі і $0,05 \pm 0,02$ % — у другій.

Рис. 1. Динаміка вмісту гемоглобіну в крові телят ($M \pm m$, $n = 7$).Рис. 2. Динаміка кількості еритроцитів у крові телят ($M \pm m$, $n = 7$).Рис. 3. Динаміка кількості лейкоцитів у крові телят ($M \pm m$, $n = 7$).

Таблиця — Показники лейкограми крові телят за змішаного перебігу еймеріозу та криптоспоридіозу ($M \pm m$, $n = 7$)

Показники		Період досліджень, діб	Групи		
			I дослідна	II дослідна	контрольна
Базофіли, %		до застосування	0,34 ± 0,04	0,56 ± 0,02	—
		3	0,42 ± 0,01	0,55 ± 0,05	—
		7	0,49 ± 0,03***	0,96 ± 0,01***	0,21 ± 0,01
		14	0,59 ± 0,01***	0,99 ± 0,02***	0,10 ± 0,01
		21	0,87 ± 0,02***	0,98 ± 0,01***	0,12 ± 0,01
Еозинофіли, %		до застосування	4,11 ± 0,32***	4,43 ± 0,24***	7,0 ± 0,21
		3	4,09 ± 0,21***	4,35 ± 0,11***	6,90 ± 0,11
		7	4,02 ± 0,17***	4,92 ± 1,02*	7,03 ± 0,02
		14	4,49 ± 1,01***	6,28 ± 0,46*	7,01 ± 0,01
		21	5,24 ± 0,49***	6,32 ± 0,52*	6,98 ± 0,03
Нейтрофіли, %	Юні	до застосування	0,41 ± 0,12	0,32 ± 0,02	—
		3	0,42 ± 0,02***	0,40 ± 0,01	0,12 ± 0,01
		7	0,38 ± 0,01***	0,22 ± 0,02***	0,10 ± 0,01
		14	0,30 ± 0,03***	0,20 ± 0,01***	0,10 ± 0,01
		21	0,15 ± 0,01***	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,01
	Паличкоядерні	до застосування	14,72 ± 0,48*	14,86 ± 0,92*	16,00 ± 1,07
		3	14,62 ± 0,25*	14,72 ± 1,05*	16,12 ± 0,92
		7	14,98 ± 0,22*	15,03 ± 0,82*	16,24 ± 1,12
		14	15,21 ± 0,05***	15,27 ± 0,09***	16,09 ± 0,05
		21	15,22 ± 0,07***	15,96 ± 0,22*	16,17 ± 0,10
	Сегментоядерні	до застосування	20,88 ± 2,24*	21,25 ± 1,17*	25,24 ± 2,19
		3	21,14 ± 1,05*	21,85 ± 1,21*	24,93 ± 1,01
		7	21,75 ± 0,22***	22,96 ± 0,95*	25,02 ± 0,72
		14	23,82 ± 2,01*	24,75 ± 2,02*	25,20 ± 1,04
		21	24,30 ± 1,11*	25,10 ± 1,40*	25,15 ± 0,95
Лімфоцити, %		до застосування	40,29 ± 1,72*	39,71 ± 1,12*	35,26 ± 3,17
		3	40,26 ± 0,92*	39,36 ± 0,71*	35,22 ± 2,10
		7	40,03 ± 1,02**	38,67 ± 1,11*	35,01 ± 0,95
		14	37,50 ± 0,69*	35,54 ± 0,52*	35,10 ± 1,15
		21	36,66 ± 1,01***	35,35 ± 0,98***	35,18 ± 1,48
Моноцити, %		до застосування	19,25 ± 0,23***	18,96 ± 0,46***	16,50 ± 0,35
		3	19,05 ± 0,04*	18,77 ± 1,01*	16,71 ± 1,03
		7	18,35 ± 0,62*	17,24 ± 0,82*	16,39 ± 1,01
		14	18,07 ± 1,02*	16,97 ± 0,36*	16,40 ± 0,94
		21	17,56 ± 0,92*	16,24 ± 1,16*	16,32 ± 0,45

Примітки: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Кількість сегментоядерних нейтрофілів у першій групі телят на 21-шу добу зросла до $24,30 \pm 1,11$ %, а в другій групі — на 14-ту добу до $24,75 \pm 2,02$ %. У контрольній групі показник склав $25,15 \pm 0,95$ %.

Кількість лімфоцитів після застосування препарату «Ампролев-плюс» на 14-ту добу досягла рівня контролю та склала $35,54 \pm 0,52$ %, тоді як у першій групі показник становив $37,50 \pm 0,69$ %.

Кількість моноцитів у першій дослідній групі зменшилася на 21-шу добу на 8,8 %, а в другій групі — на 14,3 % порівняно до застосування препаратів і наблизились до показників контрольної групи — $16,32 \pm 0,45$ %.

Висновки. 1. За змішаного перебігу криптоспоридіозу та еймеріозу телят відновлення морфологічних показників крові після застосування препарату «Ампролев-плюс» реєстрували на 14-ту добу, а бровітакокциду — на 21-шу добу.

2. Запропоновані препарати відновлюють вміст еритроцитів до рівня $6,91 \pm 0,52$ і $6,86 \pm 0,55$ Т/дм³ і гемоглобін — до $115,85 \pm 1,22$ і $116,22 \pm 0,24$ г/дм³. Кількість лейкоцитів зменшилася на 28,9 і 35,7 % порівняно до застосування препаратів, лімфоцитів — на 10,5 і 9,0 %, моноцитів — 10,5 і 8,8 %. Позитивна кореляція показників вмісту лейкоцитів і абсолютної кількості лімфоцитів указує на активізацію клітинної ланки імунітету.

Список літератури

80. Olias P. et al. Die Bedeutung der Cryptosporidiose für die Kälbergesundheit in der Schweiz. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 2018. Bd. 160, Hf. 6. P. 363–374. DOI: <https://doi.org/10.17236/sat00163>.
81. Silverlås C. et al. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 2009. Vol. 90, No. 3–4. P. 242–253. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.04.006>.
82. Fayer R. et al. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*. 1998. Vol. 28, No. 1. P. 49–56. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(97\)00170-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(97)00170-7).
83. Garro C. J. et al. Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina. *Parasite Epidemiology and Control*. 2016. Vol. 1, No. 2. P. 36–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2016.03.008>.
84. Castro-Hermida J. A., González-Losada Y. A., Ares-Mazás E. A. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*. 2002. Vol. 106, No. 1. P. 1–10. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00036-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00036-5).
85. Журенко В. В. Вплив збудника криптоспоридіозу телят на біохімічні показники сироватки крові. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. Серія «Ветеринарні науки»*. 2016. Т. 18, № 3(70). С. 100–102. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7023>.
86. Астафьев Б. А., Петров О. Е. Генетические основы паразитизма. *Ветеринарная патология*. 2004. № 3. С. 13–19. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9165679>.
87. Грицик О. Б. Вплив стронгілодозно-стронгілятозної інвазії на гематологічні та імунологічні показники овець. *Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького*. 2001. Т. 3, № 2. С. 23–25.
88. Джигова Т. Імуностимулювальна дія ізамбену на організм свиней. *Ветеринарна медицина України*. 2001. № 1. С. 46–47.
89. Ершов В. С. Проблемы иммунитета и аллергии при гельминтозах. *Проблемы ветеринарной иммунологии*. Москва: Агропромиздат, 1985. С. 17–22.
90. Журенко В. В. та ін. Вплив толтароксу на організм телят за криптоспоридіозу. *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. № 32, ч. 2. С. 157–163 DOI: [https://doi.org/10.31073/vet_biotech32\(2\)-18](https://doi.org/10.31073/vet_biotech32(2)-18).
91. Сорока Н. М., Слободян Р. О. Морфологічні зміни крові при еймеріозі телят. *Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету*. 2005. № 2. С. 215–217.
92. Harp J. A., Goff J. P. Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Journal of Dairy Science*. 1998. Vol. 81, No. 1. P. 289–294. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75578-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75578-X).
93. Constable P. D. Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 2009. Vol. 25, No. 1. P. 101–120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.012>.
94. Богач М. В., Стегній Б. Т., Бондаренко Л. В., Скальчук В. В. Препарат для лікування еймеріозу та криптоспоридіозу тварин «Ампролев-Плюс»: пат. 119843 Україна. № u201704014; заявл. 24.04.17; опубл. 10.10.17, бюл. № 19. 2 с. URL: <https://sis.ukrpatent.org/uk/search/detail/755953>.
95. Приступа Л. Н. (ред.) Методи дослідження в гематології: навч. посіб. Суми: СумДУ, 2019. 55 с. URL: <http://essuir.sumdu.edu.ua/handle/123456789/74594>.
96. Левченко В. І. (ред.) Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин. Київ: Аграрна освіта, 2010. 437 с. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/467>.
97. The Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: The Council of Europe, 1986. (European Treaty Series, No. 123). URL: <https://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>.
98. The Council of the European Communities. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *The Official Journal of the European Communities*. 1986. Vol. L, No. 358. P. 1–28. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/1986/609/oj>.

EFFECT OF DRUGS ON THE MORPHOLOGICAL INDICATORS OF CALF BLOOD DURING THE MIXED COURSE OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND EIMERIOSIS

Bogach M. V., Skalchuk V. V., Bondarenko L. V.

Odesa Experimental Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Odesa, Ukraine

The aim of the work was to determine the effect of drugs on the morphological parameters of the blood of calves during the mixed course of cryptosporidiosis and eimeriosis. Three groups of calves (n = 7)

spontaneously infected with cryptosporidia and eimeria were formed. The treatment with brovitacoccid (group I) and the drug "Amprolev-plus" (group II) was carried out and the change in morphological parameters of the blood was determined before the use of drugs and on the 3rd, 7th, 14th and 21st days. In the spontaneous mixed course of cryptosporidiosis and eimeriosis of calves, the efficacy of brovitacoccid for cryptosporidiosis was 85.7%, for eimeriosis — 100%, while the efficacy of the drug "Amprolev-plus" for cryptosporidiosis was 100%, and for eimeriosis — 85.7%. In the mixed course of cryptosporidiosis and eimeriosis of calves, the restoration of morphological parameters of blood after the use of the drug "Amprolev-plus" was recorded on the 14th day, and brovitacoccid — on the 21st day. The proposed drugs restore the content of erythrocytes to the level of 6.91 ± 0.52 T/l and 6.86 ± 0.55 T/l and hemoglobin 115.85 ± 1.22 g/l and 116.22 ± 0.24 g/l. The number of leukocytes decreased by 28.9% and 35.7% compared to their number before treatment, lymphocytes — by 10.5% and 9.0%, monocytes — 10.5% and 8.8%. A positive correlation between the content of leukocytes and the absolute number of lymphocytes indicates the activation of the cellular immune system

Keywords: brovitacoccid, Amprolev-plus, cellular immune system

ЗМІСТ

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ.
ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

<i>Лиманська О. Ю., Солодянкін О. С., Рудова Н. Г., Корнєйков О. М., Герілович А. П.</i> ЗАСТОСУВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ВІРУСУ ХВОРОБИ ШМАЛЛЕНБЕРГ	5
<i>Марченко Н. В., Лиманська О. Ю., Куценко В. А., Герілович А. П., Болотін В. І.</i> ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ <i>BRUCELLA OVIS</i> , ВИДІЛЕНИХ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ УПРОДОВЖ 1973–2019 РОКІВ.....	9
<i>Богач М. В., Селіщева Н. В., Лизогуб Л. Ю., Стегній О. О., Салієва Н. Є.</i> ЕПІЗООТИЧНА СИТУАЦІЯ ЩОДО ОСОБЛИВО НЕБЕЗПЕЧНИХ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ СЕРЕД ПТАХІВ ПІВДНЯ УКРАЇНИ.....	15

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

<i>Корнєйков О. М., Бородай Н. І., Олешко А. Ю., Перфілова С. І., Аль Джабарі Мунір</i> ГЕМАГЛЮТИНУЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЗБУДНИКІВ ПАРАГРИПУ-3, КОРОНАВІРУСНОЇ ТА РОТАВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ.....	19
<i>Горбатенко С. К., Солодянкін О. С., Горбатенко В. П., Коваленко Л. В., Рудова Н. Г., Кузнецова О. В., Мягих Н. В., Зданевич П. П.</i> ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СПУМАВІРУСУ ВРХ НА МОДЕЛІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН	24

3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

<i>Гадзевич О. В., Гадзевич Д. В., Стегній Б. Т.</i> ДОЦІЛЬНІСТЬ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ, АНТИБІОТИКІВ І ВАКЦИН ЗА АСОЦІЙОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ	29
<i>Дунаєв Ю. К., Гадзевич О. В., Дунаєва О. В.</i> ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ ТА ПЕРЕБІГУ КЛОСТРИДІОЗІВ У ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ У 2019 РОЦІ	36
<i>Перфілова С. І., Олешко А. Ю., Герілович А. П.</i> ПРОБЛЕМА ВІРУСНИХ ПНЕВМОЕНТЕРИТІВ У СКОТАРСТВІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	40
<i>Завгородній А. І., Білушко В. В., Калашник М. В., Калашник Н. В., Позмогова С. А., Кіптенко А. В., Стешенко Л. М.</i> ДІАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У БЛАГОПОЛУЧНИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ	48
<i>Калініченко Т. В., Куценко В. А., Болотін В. І.</i> ДІАГНОСТИКА ГЕНІТАЛЬНОГО КАМПІЛОБАКТЕРІОЗУ ЖУЙНИХ ЗА РЕАКЦІЇ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ В ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ.....	55

4. ЯКІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА. ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

Коваленко Л. В.

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ПРЕПАРАТІВ,
ОТРИМАНИХ НА ОСНОВІ ОРГАНІЧНОЇ СИРОВИНИ..... 60

Хіміч М. С., Родіонова К. О., Горобей О. М., Безкоровайна А. Р.

ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ОЦІНКА КОВБАСИ ВАРЕНО-
КОПЧЕНОЇ «МОСКОВСЬКА» РІЗНИХ ТОРГОВИХ МАРОК..... 68

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

Павлов С. Л., Стегній Б. Т.

ПІДБІР ОЛІГОНУКЛЕОТИДНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ З МЕТОЮ
ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ *CHLAMYDIA* SPP.
ЗА ДОПОМОГОЮ РЕАКЦІЇ АМПЛІФІКАЦІЇ..... 73

Гужвинська С. О., Палій А. П., Павліченко О. В.

ВИВЧЕННЯ РІВНЯ АДГЕЗИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОБІОТИЧНИХ
КУЛЬТУР ЗА РІЗНИХ ТЕРМІНІВ ЗБЕРЕЖЕННЯ..... 78

6. ІМУНОЛОГІЯ ТА ПАТОЛОГІЯ В ГУМАННІЙ ТА ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

Коваленко Л. В., Руденко О. П., Бойко В. С., Пазущан О. Є.

БІОМАРКЕРИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ КОРІВ
ЗА А- ТА Е-ВІТАМІННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ..... 82

Бузун А. І., Кольчик О. В., Боровкова В. М., Бобровицька І. А.

ІМУНОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ
ВАКЦИН «РЕПРО-СУІ-ВАК-П» У ПРОМИСЛОВОМУ СВИНАРСТВІ..... 87

7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

Палій А. П., Сумакова Н. В., Павліченко О. В., Палій А. П.

ЕПІЗООТОЛОГІЧНЕ ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ
ДВОКРИЛИХ ПАРАЗИТУЮЧИХ КОМАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)..... 94

Богач М. В., Скальчук В. В., Бондаренко Л. В.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ НА МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ТЕЛЯТ
ЗА ЗМІШАНОГО ПЕРЕБІГУ КРИПТОСПОРИДІОЗУ ТА ЕЙМЕРІОЗУ..... 102

CONTENTS

1. PROBLEMS OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY. EMERGENT INFECTIONS

- Lymanska O. Yu., Solodiankin O. S., Rudova N. G.,
Kornieikov O. M., Gerilovych A. P.*
APPLICATION OF MOLECULAR TECHNOLOGIES
FOR THE SCHMALLENBERG VIRUS DETECTION 5
- Marchenko N. V., Lymanska O. Yu., Kutsenko V. A.,
Gerilovych A. P., Bolotin V. I.*
STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF *BRUCELLA OVIS* STRAINS
ISOLATED ON THE TERRITORY OF UKRAINE DURING 1973–2019 9
- Bogach M. V., Selishcheva N. V., Lyzohub L. Yu.,
Stegniy O. O., Salieva N. Ye.*
EPIZOOTIC SITUATION CONCERNING ESPECIALLY DANGEROUS
VIRAL INFECTIONS AMONG BIRDS OF SOUTH UKRAINE..... 15

2. VETERINARY VIROLOGY AND MICROBIOLOGY

- Kornieikov O. M., Borodai N. I., Oleshko A. Y.,
Perfilova S. I., Al Jabari Munir*
HEMAGGLUTINATING PROPERTIES OF BOVINE PARAINFLUENZA-3,
CORONAVIRUS AND ROTAVIRUS INFECTIONS' PATHOGENS IN CATTLE..... 19
- Gorbatenko S. K., Solodiankin O. S., Gorbatenko V. P.,
Kovalenko L. V., Rudova N. G., Kuznetsova O. V.,
Miahkykh N. V., Zdanevych P. P.*
STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF BOVINE FOAMY
VIRUS ON THE MODEL OF LABORATORY ANIMALS 24

3. EPIZOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

- Hadzevych O. V., Hadzevych D. V., Stegnyy B. T.*
FEASIBILITY AND EFFICIENCY OF PROBIOTICS, ANTIBIOTICS AND VACCINES
IN ASSOCIATED BACTERIAL INFECTIOUS DISEASES IN CATTLE..... 29
- Dunaiev Yu. K., Hadzevych O. V., Dunaieva O. V.*
FEATURES OF THE SPREAD AND COURSE OF CLOSTRIDIOSIS
IN LIVESTOCK FARMS OF UKRAINE IN 2019 36
- Perfilova S. I., Oleshko A. Yu., Gerilovych A. P.*
THE PROBLEM OF VIRAL PNEUMOENTERITIDES
IN ANIMAL HUSBANDRY (LITERATURE REVIEW)..... 40
- Zavgorodniy A. I., Bilushko V. V., Kalashnyk M. V., Kalashnyk N. V.,
Pozmogova S. A., Kiptenko A. V., Steshenko L. M.*
DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS IN FREE
FROM TUBERCULOSIS FARMS OF UKRAINE 48
- Kalinichenko T. V., Kutsenko V. A., Bolotin V. I.*
DIAGNOSIS OF BOVINE GENITAL CAMPILOBACTERIOSIS USING
THE COLD COMPLEMENT FIXATION TEST IN UKRAINIAN FARMS 55

4. QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL PRODUCTIONS. VETERINARY AND SANITARY EXPERTISE. VETERINARY PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

Kovalenko L. V.

CONTEMPORARY ASPECTS OF THE STUDY OF THE PHARMACODYNAMICS
OF DRUGS OBTAINED ON THE BASE OF ORGANIC RAW MATERIALS..... 60

Khimych M. S., Rodionova K. O., Gorobei O. M., Bezkorovaina A. R.

VETERINARY AND SANITARY EVALUATION OF COOKED SMOKED
SAUSAGE "MOSKOVSKA" OF DIFFERENT BRANDS 68

5. BIOTECHNOLOGY

Pavlov S. L., Stegnyy B. T.

SELECTION OF OLIGONUCLEOTIDE SEQUENCES FOR
THE PURPOSE OF DETECTION OF GENETIC MATERIAL
OF *CHLAMYDIA* SPP. BY THE REACTION OF AMPLIFICATION..... 73

Guzhvynska S. O., Paliy A. P., Pavlichenko O. V.

STUDY OF THE LEVEL OF ADHESIVE ACTIVITY OF PROBIOTIC
CULTURES AT DIFFERENT STORAGE PERIODS 78

6. IMMUNOLOGY AND PATHOLOGY IN HUMAN AND VETERINARY MEDICINE

Kovalenko L. V., Rudenko O. P., Boiko V. S., Pazushchan O. Ye.

BIOMARKERS OF NATURAL RESISTANCE IN CAWS
WITH DEFICIENCY OF VITAMINS A AND E..... 82

Buzun A. I., Kolchuk O. V., Borovkova V. M., Bobrovytska I. A.

IMMUNOLOGICAL EVALUATION OF THE APPLICATION OF EXPERIMENTAL
VACCINES "REPRO-SUI-VAC-P" IN INDUSTRIAL PIG BREEDING..... 87

7. PARASITOLOGY

Paliy A. P., Sumakova N. V., Pavlichenko O. V., Paliy A. P.

EPIZOOTOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL SIGNIFICANCE
OF PARASITIC DIPTERANS (LITERATURE REVIEW) 94

Bogach M. V., Skalchuk V. V., Bondarenko L. V.

EFFECT OF DRUGS ON THE MORPHOLOGICAL INDICATORS OF CALF BLOOD DURING
THE MIXED COURSE OF CRYPTOSPORIDIOSIS AND EIMERIOSIS 102

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА
МІЖВІДОМЧИЙ ТЕМАТИЧНИЙ НАУКОВИЙ ЗБІРНИК

Заснований у 1964 році

Випуск 106

Відповідальні за випуск: Герілович А. П., Унковська О. М.

Редактори: Унковська О. М., Вовк Д. В., Пазущан О. Є.

Технічні редактори: Унковська О. М., Вовк Д. В., Пазущан О. Є.

Реєстраційне свідоцтво: Серія КВ № 15925-4397р від 26.10.2009 р.