

ISSN 0321-0502

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

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

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**МІЖВІДОМЧИЙ
ТЕМАТИЧНИЙ
НАУКОВИЙ
ЗБІРНИК**

107

ХАРКІВ

2021

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), **Поляк М. П.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **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), **Сметанка К.**, д-р вет. наук, проф. (Польща), **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 № 12 від 04.11.2021 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

107

KHARKIV
2021

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), **Gladiy 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), **Polak M. P.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **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), **Śmietanka K.**, Dr. Sci. (Vet. Med.), Prof. (Poland), **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. 12 from 04.11.2021).

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 619:616.98-036.22:578.82/.83:579.843.95:636.4

DOI [10.36016/VM-2021-107-1](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-1)

КОНЦЕПЦІЯ «КОРМОВОГО ЛАНЦЮГА» ЦИРКОВІРУС- БАКТЕРІЙНИХ ІНФЕКЦІЙ У СВИНАРСТВІ

Бузун А. І., Кольчик О. В.

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

Музика В. П.

Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів і кормових добавок, Львів, Україна

Северин Р. В., Гонтарь А. М., Гринченко Д. М., Войтенко Р. В.

Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна

Отримані експериментально-епізоотологічні дані вказують на суттєвий ризик виникнення цирковірус-асоційованих синдромокомплексів від присутності у зерні ячменю пастерел і пастерелоподібних бактерій ($OR = 3,48$; $2,21 < OR < 5,50$; $p \leq 0,01$ при $n = 633$) і критичне значення цих бактерій для клінічної маніфестації цих синдромокомплексів у свиногосподарствах України, неблагополучних одночасно по ЦВС-2 і ХА ($OR = 35,45$; $18,12 < OR < 69,35$; $p \leq 0,001$ при $n = 433$). Таким чином, зерно ячменю, вирощеного на кормових угіддях «здобрих» свинячим гноєм, є фактором передачі принаймні пастерел у епізоотичному ланцюгу проліферативно-некротичної пневмонії та комплексу респіраторних хвороб свиней, а отже формують «кормовий ланцюг» цих і інших інфекцій, етіологічно залежних від ЦВС-2. Обговорюються перспективи подальшого розвитку концепції «кормового ланцюга» цирковірус-асоційованих інфекцій у свинарстві

Ключові слова: вірус хвороби Ауескі, пастерели, ячмінь

В ЄС концентрація свинокомплексів досягла критичної межі. Бельгія на своїй території, як одна область України, утримує 6 млн свиней, Нідерланди на своїй території, як дві області України утримують 12 млн свиней, так само Данія. В Україні на території 24 областей на свинокомплексах утримується 3 млн свиней. Країна з найбільш сприятливими умовами для бізнесу у свинарстві стала аутсайдером у глобальному ринку. Разючою різницею складових цього бізнесу в ЄС і Україні є ставлення його учасників до біобезпеки кормового ланцюга свинарства. У нас фермери утилізують гній (суміш сечі, фекалій і стічних вод) традиційно: просто розкидаючи його на землі як добриво. Це категорично заборонено в ЄС: гній має бути перероблено на компост, зокрема на очисних спорудах: хоч на його транспортування і припадає 60 % витрат на переробку. Лише у 2008 році в ЄС було перероблено понад 930 млн м³ свинячого гною. Процес такої переробки вельми громіздкий, але ЄС та інші країни з успішним свинарством ретельно контролюють і дотують цю складову свинарства **як критично важливу не лише з огляду екології, але й біобезпеки кормового ланцюга** [1, 2].

На самій поверхні цього блоку проблем вітчизняного свинарства лежить використання гною зі свиноферм для удобрення власних кормових угідь. За нашим переконанням, учасники вітчизняного бізнесу дуже легковажають базовим принципом використання «органіки» лише після її повного знезараження за певними технологіями компостування [3]. До чого це призводить, ми вирішили дослідити на прикладі вірусно-бактерійного забруднення кормового ячменю, як однієї з критично важливих кормових культур для вирощування поросят — найбільш уразливої щодо збереженості технологічної ланки свинарства [4].

Метою досліджень було застосування QMRA-моделювання [5, 6] для вивчення впливу бактерійного забруднення ячменю з власних кормових угідь господарств, ензоотично неблагополучних vs. умовно благополучних, на рушійні сили епізоотичного процесу цирковірус-асоційованих синдромокомплексів — проліферативно-некротизуючої пневмонії (PNP) та комплексу респіраторних хвороб свиней (PRDC). За даними літератури в етіології PNP активну участь приймають актинобацили плевропневмонії свиней та гемофіли, а PRDC, крім ЦВС-2, часто спричиняє вірус хвороби Ауєскі у асоціації з бактеріями родини пастерел [7–10].

Матеріали та методи. Цільовим показником цього циклу досліджень (об'єктом дослідження) був ризик виникнення цирковірус-асоційованих синдромокомплексів PNP та PRDC через циркуляцію збудників ЦВС-2 та ХА (за результатами серологічного скринінгу партій проб сироваток крові), а також за участі пастерел, актинобацил і гемофіл (за результатами баквисівів з партій проб ячменю та патматеріалів). Проби матеріалів для досліджень упродовж 2016–2020 рр. систематично відбиралися зі 17 свиного господарств 9 областей України (табл. 1), у форматі проведення відповідних експертиз (до 30 %) або в рамках навчального процесу ХДЗВА. Усі зазначені свиного господарства мали власні кормові угіддя, на яких, зокрема, вирощували кормовий ячмінь, і які традиційно удобрювали практично свіжим свинячим гноєм (сумішшю сечі, фекалій і стічних вод з буртів поруч зі свинарниками). Ензоотичними щодо ЦВС-2 та/або ХА вважали господарства, відповідна серопозитивність свиногоголів'я (будь-якої технологічно-вікової групи) яких проявлялась упродовж трьох умовних турів опоросу основних свиноматок і супроводжувалася клінічними проявами PNP та/чи PRDS у групах дорощування поросят та відгодівлі відповідно.

Таблиця 1 — Розподіл проб, відібраних у 17 свиного господарствах 9 областей України в період 2016–2020 рр. для серологічного та бактеріологічного моніторингу по когортах/стратах (по областях, видах проб, видах досліджень)

№ когорт	Область (кількість господарств)	Доставлено проб (n = 1 070 у 302 партіях зі 17 свиного господарств) для дослідження на такі інфекції					
		Сироватки крові (n = 237 у 63 партіях)		Патматеріал і носовий слиз (n = 196 у 37 партіях) / зерно ячменю (n = 637 у 202 партіях)			
		ХА	ЦВС-2	АПП	ПСС	<i>P. multocida</i>	<i>P. (Mannheimia) haemolytica</i>
1	Харківська (n = 2)	25	25	21/29	21/29	23/63	23/63
2	Сумська (n = 3)	33	33	28/73	28/73	28/100	28/100
3	Херсонська (n = 2)	21	20	24/63	22/63	24/76	24/76
4	Полтавська (n = 3)	27	25	32/86	32/86	32/116	32/116
5	Вінницька (n = 2)	18	18	27/82	27/82	27/116	27/116
6	Тернопільська (n = 1)	7	7	9/49	9/49	9/63	9/63
7	Київська (n = 1)	9	9	13/27	13/27	13/31	13/31
8	Дніпропетровська (n = 2)	82	82	31/22	31/22	31/30	31/30
9	Черкаська (n = 1)	15	15	9/35	9/35	9/42	9/42
Усього		237	234	194/496	192/496	196/637	196/637

Вірусологічні, серологічні та бактеріологічні дослідження проводили згідно відповідних СОП, з дотриманням норм біобезпеки на рівні BSL-2 за умов лабораторії вивчення хвороб свиней ННЦ «ІЕКВМ», з використанням відповідних референтних матеріалів. було досліджено 196 проб патологічного і клінічного матеріалів (зразки легень, лімфовузлів і селезінок, носових квачів) і 237 проб сироваток крові у складі 63 та 37 партій зразків біоматеріалу відповідно. Паралельно, у тих же господарствах, упродовж 4 років також дослідили 637 проб зерна кормового ячменю (по 70–120 г зерна кожна проба) у 37 партіях зразків, відібраних з бурту/годівниці методом «конверту». Через можливу присутність у пробах зерна мікробних біоплівків, їхні екстракти досліджували у розведенні 1:30–1:50 [11].

Отримані дані лабораторних досліджень зазначених партій проб з ензоотично неблагополучних та умовно-благополучних (без клінічного прояву) щодо PNP-PRDC аналізували методом факторного аналізу (Cohort study) з використанням пакету епідеміологічних програм

Epi Info™ v. 7 (CDC, USA, <https://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>). Масив даних з експертизи патматеріалів було використано для створення аналітичної матриці «2х2» за № 1, а з експертизи проб ячменю — матриці № 2 (рис. 1).

матриця 1		Серопозитивність на ХА-ЦВС	
свиногосподарства серо (+) і серо (-)		Є (+)	Немає (-)
Пастерели та Пастерелоподібні бактерії у баквисівах клінічного патматеріалів	Є (+)	n_1	n_2
	Немає (-)	n_3	n_4

матриця 2		Ензоотичність ХА-ЦВС (3 тури і більше)	
ензоотичні свиногосподарства (+) благополучні (-)		Є (+)	Немає (-)
Пастерели та Пастерелоподібні бактерії у баквисівах корму	Є (+)	n_1	n_2
	Немає (-)	n_3	n_4

Рис. 1. Аналітичні матриці «2х2» для епіданалізу ризиків загострення цільової ситуації від циркуляції збудників ЦВС-2 та ХА (матриця 1) та від бакзабруднення партій ячменю бактеріями родини пастерел (матриця 2).

При цьому позитивним проявом ризику за визначенням матриці № 1 була серопозитивність партій проб на ЦВС-2 і/чи ХА, тоді як за відсутністю ризику групували партії проб/свиногосподарства, серонегативні щодо ХА та/чи ЦВС-2 і ХА. У матриці № 2 позитивним проявом ризику визначали показник ензоотичності ЦВС і ХА (тобто виявлення в одному й тому ж свиногосподарстві партій проб, серопозитивних щодо ЦВС-2 та/чи ХА впродовж трьох і більше турів опоросів поспіль); за відсутністю ризику групували партії проб/свиногосподарства, що три тури опоросів поспіль були серонегативними щодо ХА та/чи ЦВС-2 і ХА. Призначенням матриці № 1 для чинної публікації є вивчення за індексами ризику OR та RR корелятивної залежності серопозитивності промислового стада свиней щодо ХА та/чи ЦВС-2, як збудників PNP та/чи PRDS. Призначенням матриці № 2 для чинної публікації є вивчення впливу за індексами ризику OR та RR бакзабруднення проб зерна кормового ячменю пастерелами двох видів (*P. multocida*, *P. (Mannheimia) haemolytica*) на ензоотичність обстежуваних свиногосподарств щодо PNP та/чи PRDS (циркуляцію збудників ЦВС-2 та/чи ХА одночасно з клінічними та патоморфологічними проявами цих синдромокомплексів).

Результати досліджень. У період 2016–2020 рр. синдромокомплекс PNP та/або PRDC час-від-часу клінічно проявлялися у всіх 17 обстежених свиногосподарствах — від спорадичних (переважно у весняно-літній період) до хвиль ензоотичних проявів (майже виключно восени—на початку зими), як типові факторні хвороби. У 4 областях (5 свиногосподарств Тернопільської, Київської, Дніпровської та Черкаської областей) масової захворюваності на синдромокомплекс PNP та/або PRDC у цей період не зареєстровано, хоч весь цей час в екстрактах зерна ячменю були присутні пастерели, актинобацили та гемофіли (рис. 2а), у зразках патматеріалу і сироваток крові (рис. 2б) періодично виявляли відповідно ті самі бактерії і антитіла проти ЦВС-2 (але не проти збудника ХА!). Одночасно у 12 свиногосподарствах 5 областей (Харківської, Сумської, Херсонської, Полтавської та Вінницької) синдромокомплекс PNP та/або PRDC клінічно проявлялися постійно на рівні середньорічної морбідності відповідно до 40 % в групах дорощування і до 30 % у відгодівельних групах і летальністю — до 10 % та до 3 % відповідно. Характерно, що у партіях проб крові свиноголові'я цих 12 господарств не менше двох раз на рік реєструвалася серопозитивність не лише на ЦВС-2, але й на вірус ХА (переважно після хвиль масового захворювання на PNP та/або PRDC).

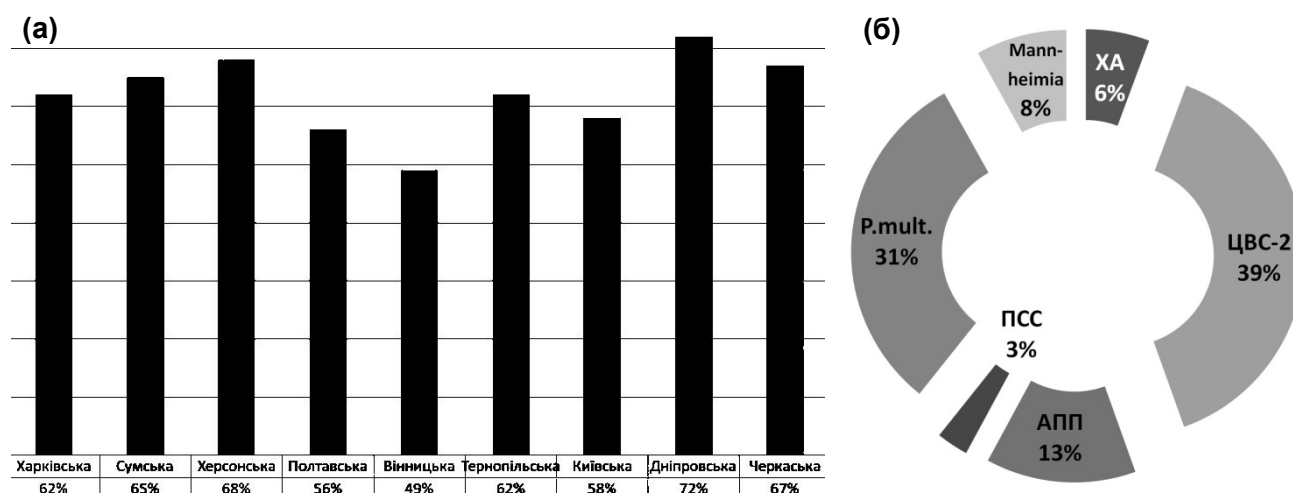


Рис. 2. Результати вивчення (а) мікробного забруднення кормового зерна ячменю в обстежуваних господарствах (за часткою партій зерна, досліджених на забруднення бактерійною складовою синдромокомплексів PNP та PRDC у розведенні 1:30–1:50) та етіологічної структури синдромокомплексів PNP та PRDC у свиногоголів'я цих господарств (б). Усереднені дані по всім 17 господарствам за період 2016–2020 рр.

Більш докладний аналіз епізоотичної ситуації в обстежуваних господарствах узагальнено в табл. 2.

Таблиця 2 — Звітні дані лабораторних досліджень проб сироваток крові ($n = 237$) та патологічного матеріалу ($n = 196$) методами серомоніторингу та бактеріологічного аналізу відповідно у період 2016–2020 рр.

№ страт	Область	Позитивні результати лабораторних досліджень на такі інфекції					
		Серомоніторинг ($n = 63$ партії проб)		Баканаліз проб клінічного та патологічного матеріалів ($n = 37$ партій проб)			
		ХА	ЦВС-2	АПП	ПСС	<i>P. multocida</i>	<i>P. (Mannheimia) haemolytica</i>
1	Харківська	7	21	11	4	19	1
2	Сумська	7	22	13	3	22	2
3	Херсонська	6	17	12	3	18	2
4	Полтавська	9	19	11	3	23	1
5	Вінницька	5	14	18	1	17	1
6	Тернопільська	0	5	0	0	9	5
7	Київська	0	7	0	0	12	9
8	Дніпропетровська	0	74	0	0	19	9
9	Черкаська	0	9	0	0	11	9
Усього		34	188	65	14	150	39
Частка, %		14	96	33	7	77	20

За результатами серомоніторингу впродовж трьох турів опоросів поспіль неблагополучними по ЦВС-2 та ХА є обидва обстежуваних свиного господарства Харківської області в період 2016–2020 років включно (21 і 7 з 25 доставлених партій проб відповідно). У Сумській області — два з трьох обстежених свиного господарств (22 та 7 доставлених партій проб відповідно); у Херсонській — одне з двох господарств (17 і 6 партій проб відповідно); у Полтавській — два з трьох господарств (19 і 9 партій проб відповідно); у Вінницькій — обидва обстежені господарства (14 і 5 серопозитивних партій проб відповідно). У той же час обстежувані в період 2016–2020 рр. свиного господарства Тернопільської ($n = 1$), Київської ($n = 1$), Дніпропетровської ($n = 2$) та Черкаської ($n = 1$) областей були неблагополучними лише щодо ЦВС-2. На відміну від неблагополучних щодо ХА свиного господарств, у баквисівах проб клінічного та патологічного матеріалів збудників актинобацильозу та хвороби Глєсєра/полісерозиту у

період 2016–2020 рр. не було виявлено. Проте пастерели *P. multocida* висівалися з проб клінічного й патологічного матеріалів 70–100 % партій з усіх господарств. Цікаво, що пастерели *P. (Mannheimia) haemolytica* значно частіше висівалися з проб патологічного матеріалу господарств, неблагополучних щодо ХА (55–100 % партій проб, тоді як усереднений показник по цій страті становив 20 %).

Ризик-аналіз виникнення PNP та/або PRDC за участі збудників цирковірусної інфекції свиней та/чи хвороби Ауескі у асоціації з пастерелами та пастерелоподібними бактеріями за даними з неблагополучних і благополучних щодо ХА свиного господарств (n = 433) провели з використанням програмного продукту Epi Info™ v. 7 (матриця № 1, див. Матеріали і методи). За отриманими на рівні вірогідності $p \leq 0.001$ результатами обчислень показують високий рівень ризиків клінічного прояву PNP та/або PRDC у неблагополучних щодо ХА свиного господарствах (рис. 3а) від присутності пастерел, актинобацил та гемофіл як за індексом OR ($OR = 35,45$; $18,12 < OR < 69,35$), так і за індексом RR ($RR = 6,79$; $4,42 < RR < 10,42$).

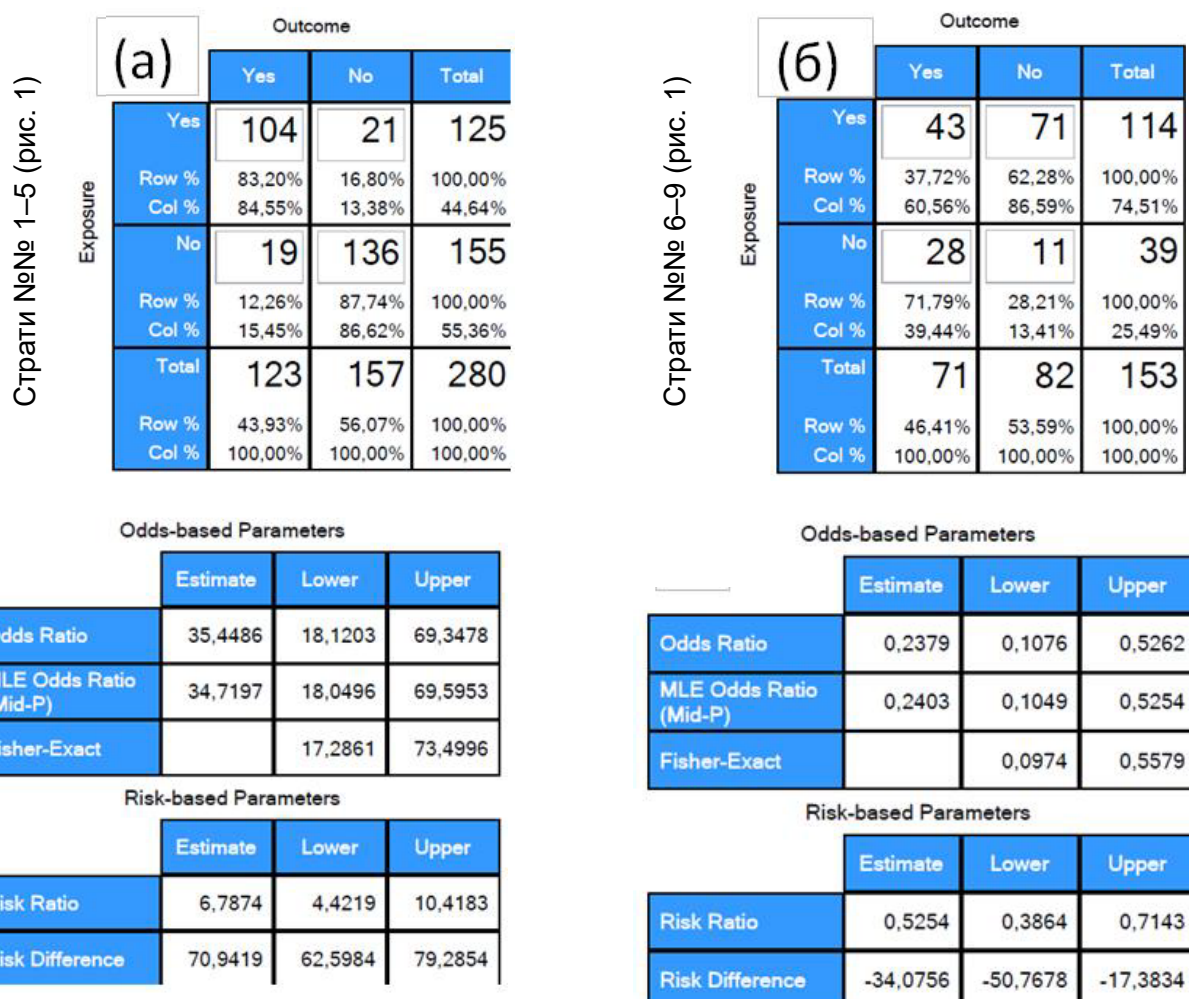


Рис. 3. Ризик-аналіз виникнення PNP та/або PRDC за участі збудників хвороби Ауескі та цирковірусної інфекції свиней у асоціації з пастерелами, актинобацилами та гемофілами за даними з неблагополучних (а) та благополучних (б) щодо ХА свиного господарств (n = 433) (програмний продукт Epi Info™ v. 7, CDC, USA).

На рис. 4 узагальнено результати моніторингу бакзабруднення зерна кормового ячменю, вирощеного у період 2015–2019 рр. в обстежуваних свиного господарствах з використанням свинячого гною як добрива.

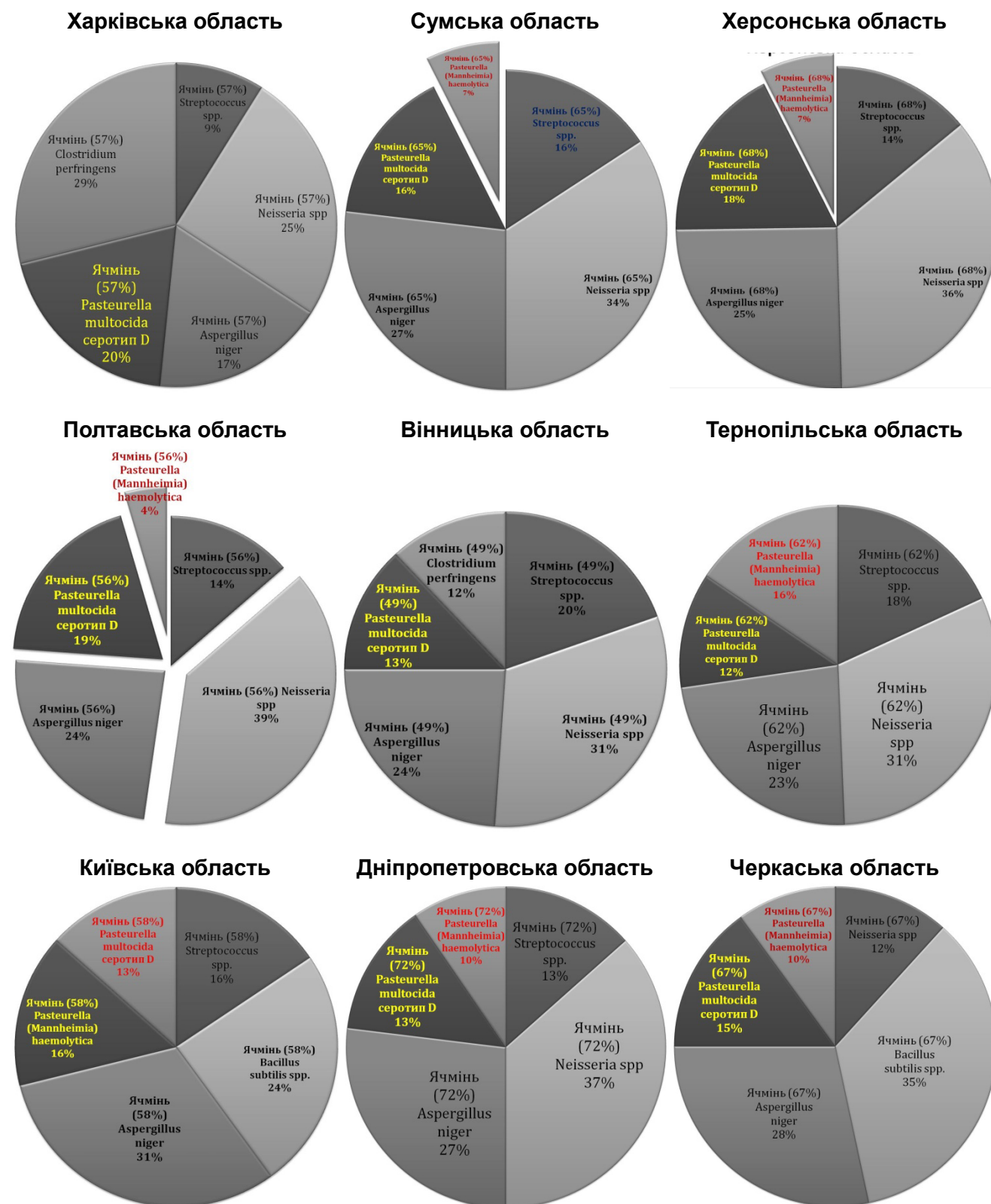


Рис. 4. Географічний розподіл небезпечних для свинарства мікроорганізмів, які траплялися в ячмені неблагополучних щодо ХА-ЦВС-2 товарних свиного господарств, вирощеному у 2015–2019 рр. на власних кормових угіддях.

Від 49 % (в обох господарствах Вінницької області) до 72 % (в обох господарствах Дніпропетровської області) проб зерна ячменю, екстракти яких висівали в розведенні 1:30–1:50, у період 2016–2020 рр. містили полімікробні біоплівки зі вмістом небезпечних для свиней інфекційних агентів. У складі баквисів цієї мікрофлори зареєстровано наступні мікробні агенти:

— гриби *Aspergillus niger* (від 17 до 31 % партій проб, усі господарства у зимово-весняний період);

— збудник анаеробної ентеротоксемії *Clostridium perfringens* (лише у Харківській та Вінницькій областях, авірулентні для мишей ізоляти, на рівні 29 і 12 % партій проб відповідно) та сапрофітні спороутворюючі анаеробні бактерії *Bacillus subtilis* (лише у господарствах Київської та Черкаської областей — у 24 і 35 % партій проб відповідно);

— кокова мікрофлора роду *Neisseria* (від 25 до 39 % партій проб, усі господарства, за виключенням Київської області) та роду *Streptococcus* (від 9 до 20 % партій проб, усі господарства, за виключенням Черкаської області);

— пастерели *P. multocida* виділяли з екстрактів проб зерна з усіх свиногосподарств (від 12 до 20 % партій проб); пастерели *P. (Mannheimia) haemolytica* у зерні ячменю з господарств Харківської і Вінницької областей не виявлено; в екстрактах проб з решти областей вони виявлялися на рівні 4–7 % партій проб зерна з неблагополучних щодо ЦВС-2 та ХА свиногосподарств і на рівні 10–16 % партій проб у свиногосподарствах, благополучних щодо ХА.

Ризик-аналіз виникнення PNP та/або PRDC через контамінацію зерна ячменю мікробними біоплівками з включенням пастерел, актинобацил і гемофіл за даними баквисівів проб зерна з неблагополучних і благополучних щодо ЦВС-2 та ХА свиногосподарств ($n = 633$ проби 202 партій; 4 проби були непридатними для дослідження через перемішування між собою під час транспортування) провели з використанням програмного продукту Epi Info™ v. 7 (матриця № 2, див. Матеріали та методи). За отриманими результатами обчислень з вірогідністю $p \leq 0,01$ встановлено суттєвий рівень ризиків виникнення PNP та/або PRDC у неблагополучних щодо ЦВС-2 та ХА свиногосподарствах (рис. 5а) від присутності у зерні ячменю пастерел, актинобацил і гемофіл як за індексом OR ($OR = 3,48; 2,21 < OR < 5,50$), так і за індексом RR ($RR = 1,74; 1,38 < RR < 2,20$).

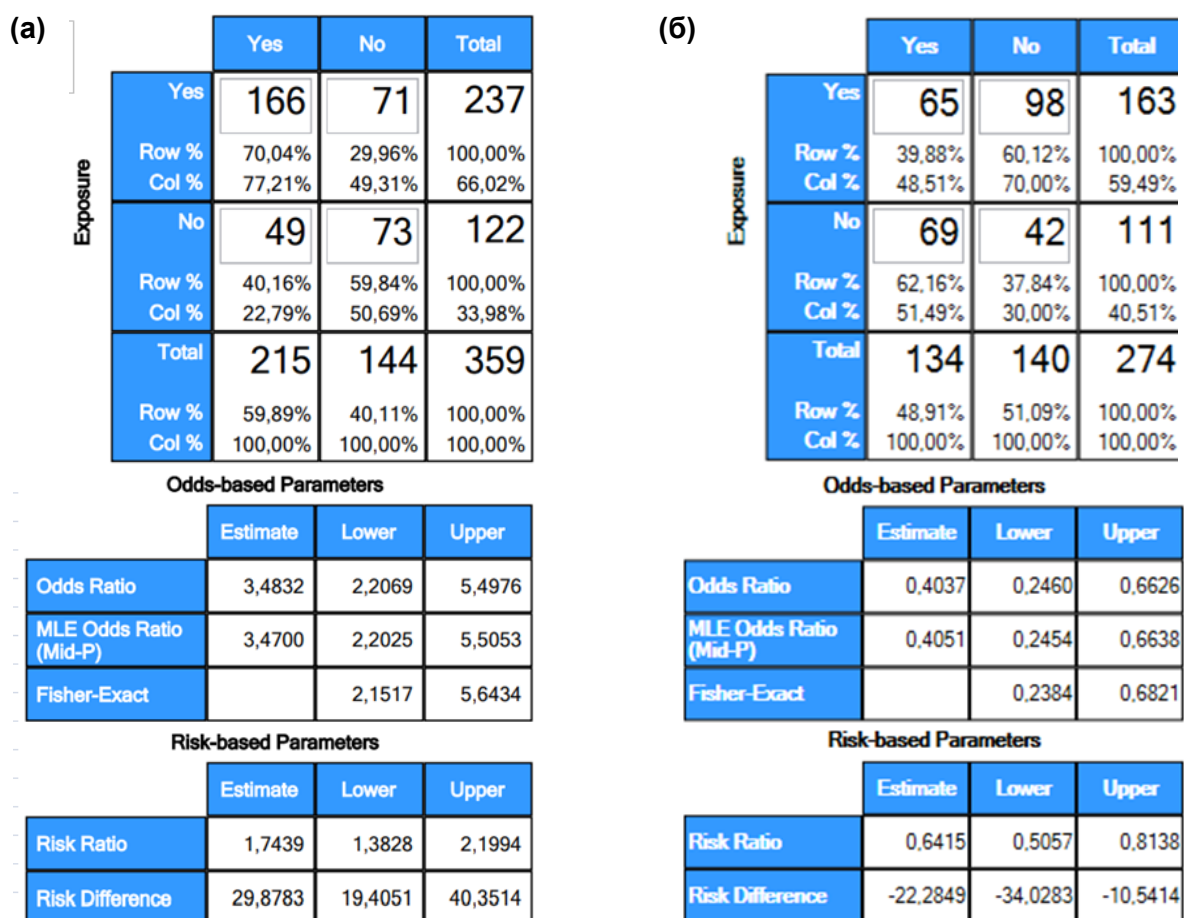


Рис. 5. Статистичний аналіз ризиків виникнення цирковірус-асоційованих інфекцій свиней (включно з ХА) з пастерелами, актинобацилами та гемофілами в зерні кормового ячменю з власних угідь за даними з неблагополучних (а) та благополучних (б) щодо ЦВС-2 та ХА свиногосподарств ($n = 633$ проби у 202 партіях). Програмний продукт Epi Info™ v. 7 (CDC, USA).

Обговорення та висновки. Провідну роль в етіології пневмоентеритів тварин відіграють полімікробні вірус-бактеріальні асоціації [12–14]. Серед них у промисловому свинарстві превалюють цирковірус-асоційовані захворювання [15, 16]. На сьогодні все популярнішою стає філогенетична концепція що цирковіруси свиней та інших видів ссавців (включно з мавпами), птиці та риб [17–21] походять від рослинних цирко- та гермінівірусів, які між собою активно гібридизуються та вектором яких є комахи певних видів [22–28]. Яскравим підтвердженням важливої ролі цирковірусів в еволюції рослин є присутність у їхньому геномі регуляторів трансляції рослинних білків, виявлених і запатентованих ще у 1996 році командою американських та австралійських учених [29]. Вірогідно завдяки саме цьому цирковіруси водних рослин і тварин мають критичний вплив на структуру та функції водних харчових мереж Світового океану [30]. Сучасна ситуація з цирковірозами у свинарстві та виявлення цирковірусів у зростаючому колі різних видів тварин-носіїв є наглядним свідченням того, що ці агенти набувають усе більшого значення як регулятори епізоотичного процесу.

Установлено, що вже на початку 1970-х цирковірус почав адаптуватися до організму свиней: тоді його виявили як контамінанта перещеплюваної лінії клітин свині PK-15 [31]. У 1980-х роках його поширення у свинарстві з 1940-х років (за результатами аналізу архівних зразків крові свиней і диких кабанів) розглядали як цікавий суто науковий феномен («невинну гру Природи»), адже весь цей період спостерігався високий рівень серопозитивності без будь-якої шкоди для свинарства США, Канади та Великої Британії [32–36]. Проте, уже з середини 1990-х років, спочатку французькі, а потім американські дослідники довели етіологічну роль асоційованих інфекцій цирковірусу свиней у низці синдромокомплексів, що вже зараз завдають колосальних збитків світовому свинарству [37–39].

Отже, засновуючись на літературних та отриманих нами експериментально-епізоотологічних даних, не буде великим перебільшенням припустити, що цирковіруси у складі мікробних асоціацій (можливо й мікробних біоплівки), беруть активну участь у формуванні «кормового ланцюга» епізоотичного процесу репродуктивно-неонатальних інфекцій у промисловому свинарстві. Отримані нами дані досліджень кормового ячменю з високою ймовірністю вказують на те, що згаданий «кормовий ланцюг» через удобрення кормових угідь гноєм зі свиноферм замикається в ензоотичний цикл репродуктивно-неонатальних інфекцій свиней, які в промисловому свинарстві клінічно проявляються як типові факторні хвороби: спорадичними репродуктивними розладами в маточному стаді та масовими пневмоентеритами на молочних поросятах та/або підсвинках групи дорощування.

Отже отримані нами дані вказують на суттєвий ризик виникнення цирковірус-асоційованих синдромокомплексів від присутності у зерні ячменю пастерел, актинобацил і гемофіл ($OR = 3,48$; $2,21 < OR < 5,50$; $p \leq 0,01$ за $n = 633$) і критичне значення цих бактерій для клінічної маніфестації цих синдромокомплексів у свиногосподарствах України, неблагополучних одночасно по ЦВС-2 і ХА ($OR = 35,45$; $18,12 < OR < 69,35$; $p \leq 0,001$ за $n = 433$). Таким чином, зерно ячменю, вирощеного на кормових угіддях, «здобраних» свинячим гноєм, є фактором передачі принаймні пастерел у епізоотичному ланцюгу PNP та PRDC, а отже формують «кормовий ланцюг» репродуктивно-натальних інфекцій, етіологічно залежних від ЦВС-2 на критичному рівні.

Для подальшого розвитку концепції кормового ланцюга PHIC важливо прийняти до уваги наведені вище численні наукові дані про високу рекомбінантну активність цирковірусів свиней і рослин. З огляду розроблюваної нами концепції питання репродукції цирковірусу свиней в тканинах кормових рослин постає як вельми нагальне і є критичним для вдосконалення біобезпеки вітчизняного свинарства.

Список літератури

1. Dee S. A., Bauermann F. V., Niederwerder M. C., Singrey A., Clement T., de Lima M., Long C., Patterson G., Sheahan M. A., Stoian A. M. M., Petrovan V., Jones C. K., De Jong J., Ji J., Spronk G. D., Minion L., Christopher-Hennings J., Zimmerman J. J., Rowland R. R. R., Nelson E., Sundberg P., Diel D. G. Survival of viral pathogens in animal feed ingredients under transboundary shipping models. *PLoS One*. 2018. Vol. 13, iss. 3. P. e0194509. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194509>.
2. New Zealand Government. Biosecurity (Meat and Food Waste for Pigs) Regulations 2005 (SR 2005/150). Wellington, 7 June 2005. URL: <https://www.legislation.govt.nz/regulation/public/2005/0150/latest/096be8ed81296cad.pdf>.

3. European Council. Council directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources (91/676/EEC). *Official Journal of the European Union*. 1991. Vol. L 375. P. 1–8. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/1991/676/oj>.
4. Zijstra R., Beltranena E. Barley in swine diets. In: McAllister T., Meale S., eds. *Barley Grain Feed Industry Guide*. Calgary : Alberta Barley, 2015. P. 22–24. URL: [https://www1.agric.gov.ab.ca/\\$Department/deptdocs.nsf/all/lr14779/\\$FILE/barleyfeedguide-swinediets.pdf](https://www1.agric.gov.ab.ca/$Department/deptdocs.nsf/all/lr14779/$FILE/barleyfeedguide-swinediets.pdf).
5. Schijven J., Derx J., de Roda Husman A. M., Blaschke A. P., Farnleitner A. H. QMRACatch: microbial quality simulation of water resources including infection risk assessment. *Journal of Environmental Quality*. 2015. Vol. 44, iss. 5. P. 1491–1502. DOI: <https://doi.org/10.2134/jeq2015.01.0048>.
6. Demeter K., Derx J., Komma J., Parajka J., Schijven J., Sommer R., Cervero-Aragó S., Lindner G., Zoufal-Hruza C. M., Linke R., Savio D., Ixenmaier S. K., Kirschner A. K. T., Kromp H., Blaschke A. P., Farnleitner A. H. Modelling the interplay of future changes and wastewater management measures on the microbiological river water quality considering safe drinking water production. *The Science of the Total Environment*. 2021. Vol. 768. P. 144278. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144278>.
7. Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research*. 2012. Vol. 164, iss. 1–2. P. 10–19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.007>.
8. Ребенко Г. І. Етіологія та епізоотологія інфекційних хвороб респіраторного тракту свиней (огляд літератури). *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія : Ветеринарна медицина*. 2014. Вип. 1. С. 114–121. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2014_1_34.
9. Ситюк М. П., Байдалюк В. А., Ничик С. А., Розумнюк А. В., Галка І. В., Шапошник В. М., Фурда І. Л. Цирковірусні інфекції. Київ : Аграрна наука, 2017. 128 с. ISBN: 9789665404576.
10. Yu X., Sun Q., Ku X., He D., Li Z., Ghonaim A. H., Fan S., He Q. The epidemiological investigation of co-infection of major respiratory bacteria with pseudorabies virus in intensive pig farms in China. *Veterinary Medicine and Science*. 2021. Vol. 7, iss. 1. P. 175–183. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.289>.
11. Kolchuk O. V., Buzun A. I., Paliy A. P., Nalivayko L. I., Chekan O. M., Grebenik N. P., Bondarenko I. V., Rebenko H. I., Kushnir V. Yu., Todorov N. I. Biofilms of pathogenic bacteria in pig industry. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, iss. 4. P. 202–209. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_189.
12. Неволько О. М., Ситюк М. П. Результати серологічних моніторингових досліджень щодо цирковірусної інфекції серед свійських свиней на території України за період 2010–2014 рр. Науковий вісник ветеринарної медицини : зб. наук. праць. 2013. Вип. 12. С. 40–45. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvvm_2013_12_0.
13. Ситюк М. П. Показники рівня постінфекційних нейтралізуючих антитіл проти цирковірусу свиней другого типу у сироватках крові диких свиней. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* 2014. Вип. 98. С. 68–71. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2014_98_19.
14. Прохорятюва О. В., Корнейков О. М., Кольчик О. В., Ісаков М. М. 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.
15. López-Soria S., Maldonado J., Riera P., Nofrías M., Espinal A., Valero O., Blanchard P., Jestin A., Casal J., Domingo M., Artigas C., Segalés J. Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2010. Vol. 57, iss. 3. P. 171–179. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01135.x>.
16. Chen N., Huang Y., Ye M., Li S., Xiao Y., Cui B., Zhu J. Co-infection status of classical swine fever virus (CSFV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) in eight regions of China from 2016 to 2018. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019. Vol. 68. P. 127–135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.12.011>.
17. Allan G. M., Ellis J. A. Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2000. Vol. 12, iss. 1. P. 3–14. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870001200102>.
18. Banda A., Galloway-Haskins R. I., Sandhu T. S., Schat K. A. Genetic analysis of a duck circovirus detected in commercial Pekin ducks in New York. *Avian Diseases*. 2007. Vol. 51, iss. 1. P. 90–95. DOI: [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2007\)051\[0090:GAOADC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2007)051[0090:GAOADC]2.0.CO;2).
19. Blinkova O., Victoria J., Li Y., Keele B. F., Sanz C., Ndjango J. B., Peeters M., Travis D., Lonsdorf E. V., Wilson M. L., Pusey A. E., Hahn B. H., Delwart E. L. Novel circular DNA viruses in stool samples of wild-living chimpanzees. *The Journal of General Virology*. 2010. Vol. 91, iss. 1. P. 74–86. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.015446-0>.
20. Lőrincz M., Cságola A., Farkas S. L., Székely C., Tuboly T. First detection and analysis of a fish circovirus. *The Journal of General Virology*. 2011. Vol. 92, iss. 8. P. 1817–1821. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.031344-0>.
21. Todd D. Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. *Avian Pathology*. 2000. Vol. 29, iss. 5. P. 373–394. DOI: <https://doi.org/10.1080/030794500750047126>.
22. Kim K. S., Fulton R. W. Ultrastructure of *Datura stramonium* infected with a Euphorbia virus suggestive of a whitefly-transmitted virus. *Phytopathology*. 1984. Vol. 74, iss. 2. P. 236–241. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-74-236>.
23. Rojas M. R., Hagen C., Lucas W. J., Gilbertson R. L. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology*. 2005. Vol. 43. P. 361–394. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135939>.
24. Briddon R. W., Patil B. L., Bagewadi B., Nawaz-ul-Rehman M. S., Fauquet C. M. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. *BMC Evolutionary Biology*. 2010. Vol. 10. P. 97. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-97>.
25. Rosario K., Marinov M., Stainton D., Kraberger S., Wiltshire E. J., Collings D. A., Walters M., Martin D. P., Breitbart M., Varsani A. Dragonfly cyclovirus, a novel single-stranded DNA virus discovered in dragonflies

- (Odonata: Anisoptera). *The Journal of General Virology*. 2011. Vol. 92, iss. 6. P. 1302–1308. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.030338-0>.
26. Tiendrébéogo F., Lefeuvre P., Hoareau M., Harimalala M. A., De Bruyn A., Villemot J., Traoré V. S., Konaté G., Traoré A. S., Barro N., Reynaud B., Traoré O., Lett J. M. Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. *Virology Journal*. 2012. Vol. 9. P. 67. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-67>.
 27. Padilla-Rodriguez M. Detection of single-stranded DNA viruses in insects and wild vegetation : thesis submitted in partial fulfillment of the requirements of the University Honors Program. Saint Petersburg : University of South Florida, 2012. 22 pp. URL: <https://digitalcommons.usf.edu/honorstheses/113>.
 28. Jestin A., Clement G., eds, Proceedings of the symposium on ssDNA viruses of plants, birds, pigs and primates (Saint-Malo, France, 24–27 September 2001). Ploufragan : Zoo Pole, 2001. 147 pp.
 29. Boevink P. Ch. Surin B. P., Keese P. K., Chu P. W. G., Waterhouse P. M., Khan R. I., Larkin Ph. J., Taylor W. C., Marshall J. S. Plant transcription regulators from circovirus : patent WO1996006932A1 WIPO. International application No. PCT/AU1995/000552 ; international filing date 30.08.95 ; publication date 07.03.96. 121 pp. URL: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docid=WO1996006932>.
 30. Wilhelm S. W., Suttle C. A. Viruses and nutrient cycles in the sea: viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs. *BioScience*. 1999. Vol. 49, iss. 10. P. 781–788. DOI: <https://doi.org/10.2307/1313569>.
 31. Tischer I., Rasch R., Tochtermann G. Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A: Medizinische Mikrobiologie und Parasitologie*. 1974. Bd. 226, Hf. 2. S. 153–167. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4151202>.
 32. Tischer I., Gelderblom H., Vettermann W., Koch M. A. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature*. 1982. Vol. 295, iss. 5844. P. 64–66. DOI: <https://doi.org/10.1038/295064a0>.
 33. Tischer I., Miels W., Wolff D., Vagt M., Griem W. Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology*. 1986. Vol. 91, iss. 3–4. P. 271–276. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01314286>.
 34. Tischer I., Peters D., Rasch R., Pociuli S. Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence. *Archives of Virology*. 1987. Vol. 96, iss. 1–2. P. 39–57. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01310989>.
 35. Dulac G. C., Afshar A. Porcine circovirus antigens in PK-15 cell line (ATCC CCL-33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1989. Vol. 53, iss. 4. P. 431–433. PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255571>.
 36. Edwards S., Sands J. J. Evidence of circovirus infection in British pigs. *The Veterinary Record*. 1994. Vol. 134, iss. 26. P. 680–681. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.134.26.680>.
 37. LeCann P., Albina E., Madec F., Cariolet R., Jestin A. Piglet wasting disease. *The Veterinary Record*. 1997. Vol. 141, iss. 25. P. 660. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9466392>.
 38. Ellis J., Hassard L., Clark E., Harding J., Allan G., Willson P., Strokappe J., Martin K., McNeilly F., Meehan B., Todd D., Haines D. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Veterinary Journal*. 1998. Vol. 39, iss. 1. P. 44–51. PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1539838>.
 39. Segalés J., Allan G. M., Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews*. 2005. Vol. 6, iss. 2. P. 119–142. DOI: <https://doi.org/10.1079/ahr2005106>.

CONCEPTION OF THE “FEED’S CHAIN” FOR PORCINE CIRCOVIRUS-BACTERIAL INFECTIONS IN PIGGERY

Buzun A. I., Kolchyk O. V.

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

Muzyka V. P.

State Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

Severyn R. V., Gontar A. M., Hrynchenko D. M., Voitenko R. V.

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

The obtained experimental-analytical data indicate a significant risk of occurrence of circovirus-associated syndrome complexes proliferative necrotic pneumonia and a complex of respiratory diseases of pigs (PNP and PRDC) from the presence of Pasteurella and Pasteurellaceae bacteria in barley grain (OR = 3.48; 2.21 < OR < 5.50; p ≤ 0.01 at n = 633) and the critical importance of these bacteria for the clinical manifestation of these syndromes in pig farms of Ukraine, which are seropositive both for PCV-2 and AD (OR = 35.45; 18.12 < OR < 69.35; p ≤ 0.001 at n = 433). Thus, barley grain grown on forage lands “fertilized” with pig manure is a factor in the transmission of at least pasteurellae in the epizootic chains of PNP and PRDC, and thus form a “feed chain” of PCV-2. Prospects for further development of the concept of the food chain of circovirus-associated infections in pig breeding are discussed

Keywords: *Aujeszky disease virus, pasteurellae, barley*

РЕАКЦІЯ ПРЯМОЇ ІМУНОФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ В ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ СКАЗУ ТВАРИН В УКРАЇНІ

Полупан І. М.

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна, e-mail: vetmedic@ukr.net

Метою роботи було проаналізувати роль реакції прямої імунофлуоресценції (РПІФ) у системі лабораторної діагностики сказу тварин в Україні. Для проведення аналізу були використані матеріали офіційної ветеринарної звітності за Формою № 2-BET «Звіт про роботу державних лабораторій ветеринарної медицини» щодо результатів лабораторних досліджень патологічного матеріалу з підозрою на сказ Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) та вірусологічних відділів Державних регіональних лабораторій Держпродспожислужби України, а також аналітичні матеріали: Звіт «Про проведену оцінку ризику поширення сказу серед домашніх та сільськогосподарських тварин при діючій системі контролю сказу тварин в Україні» та Звіт «Про проведену оцінку ризику поширення сказу тварин в Україні». Установлено, що протягом останніх 15 років (2006–2020 рр.) у державних лабораторіях проведено 194 079 досліджень патологічного матеріалу. Реакція прямої імунофлуоресценції є основною базовою методикою для діагностики сказу в Україні, за використання якої у 94,5 % випадків ставиться заключний діагноз «сказ». Упроваджено з 2020 року в роботу науково-дослідного вірусологічного відділу ДНДІЛДВСЕ стандартизовані підходи, у тому числі використання референс-штаму вірусу сказу CVS-11 (ATCC VR 959), для організації та проведення міжлабораторних раундів професійного тестування BET-ТЕСТ з виявлення антигену згідно з вимогами ISO 17043:2017 «Оцінка відповідності. Загальні вимоги щодо перевірки професійного рівня». РПІФ є основною реакцією для діагностики сказу серед тварин в Україні. З 2020 року впроваджено стандартизовані підходи та організовано проведення міжлабораторних раундів професійного тестування BIT-ТЕСТ з виявлення антигену вірусу сказу відповідно до стандарту якості ISO 17043:2017. Установлено необхідність запровадження нових методів лабораторної діагностики сказу, таких як вірусовиділення в культурі клітин і полімеразно-ланцюгова реакція

Ключові слова: моніторинг, експрес-тест, ATCC VR 959

Серед усіх відомих людству інфекційних захворювань особливе значення займає сказ. Чутливість до цього захворювання численних видів домашніх і диких тварин поряд із надзвичайною небезпекою для людини визначають його соціально-економічне значення, привертають увагу, як ветеринарної, так і медичної науки та практики [1, 2]. У комплексі всіх антирабічних заходів, що застосовуються для контролю цього захворювання, поряд із використанням цілого арсеналу вакцинних засобів (парентеральна та пероральна вакцинація тварин), загальних протиепізоотичних засобів (регулювання популяції диких тварин, гуманне регулювання чисельності безпритульних тварин), важливою ланкою є епізоотичний нагляд, який є базовою складовою будь-якої програми контролю сказу. Однак, достовірність епізоотичного нагляду базується виключно на результатах лабораторних досліджень, адже заключний діагноз «сказ» можна поставити тільки на підставі постмортальних результатів лабораторних досліджень головного мозку [3, 4]. Сказ є основним серед зоонозів, для якого діагностичні методи були стандартизовані на міжнародному рівні [5, 6]. Реакція прямої імунофлуоресценції (РПІФ), в основі якої використано метод флуоресціюючих антитіл, визнана ВООЗ «золотим стандартом» у діагностиці сказу та дозволяє отримати результат уже через декілька годин [7, 8].

Метою наших досліджень було визначити роль РПІФ в лабораторній діагностиці сказу тварин в Україні.

Матеріали та методи. У роботі використано звіти відповідно Форми № 2-ВЕТ «Звіт про роботу державних лабораторій ветеринарної медицини» щодо результатів лабораторних досліджень патологічного матеріалу з підозрою на сказ, що надійшли на дослідження до науково-дослідного вірусологічного відділу Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) та вірусологічних відділів Державних регіональних лабораторій Держпродспоживслужби України, а також аналітичні матеріали: Звіт «Про проведену оцінку ризику поширення сказу серед домашніх та сільськогосподарських тварин за діючої системи контролю сказу тварин в Україні» та Звіт «Про проведену оцінку ризику поширення сказу серед диких тварин в Україні» [9].

Результати досліджень та обговорення. Відповідно до ветеринарної звітної документації в останні роки в Україні збільшується кількість діагностичних досліджень на сказ у Державних регіональних лабораторіях Держпродспоживслужби. Протягом останніх 15 років (2006–2020 рр.) у державних лабораторіях проведено 194 079 досліджень патологічного матеріалу від понад 40 видів тварин (рис. 1).

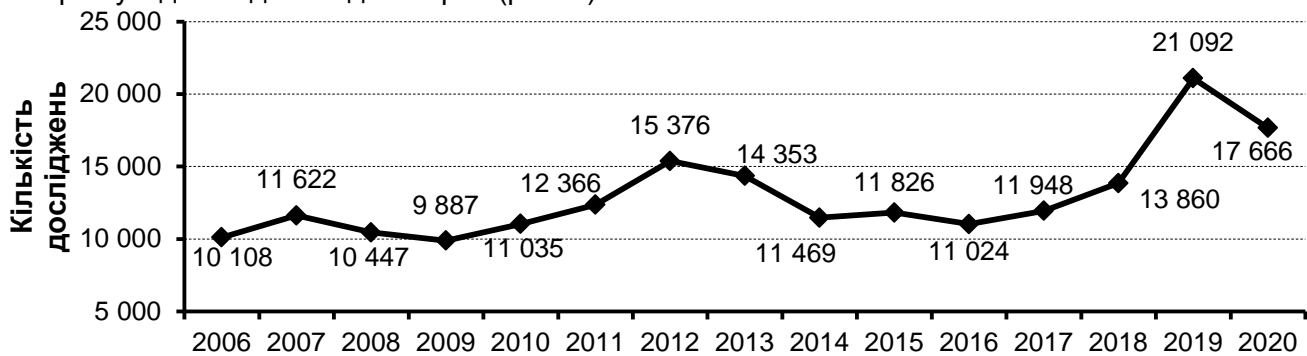


Рис. 1. Загальна кількість лабораторних досліджень на сказ, проведених у Державних регіональних лабораторіях Держпродспоживслужби та ДНДІЛДВСЕ протягом 2006–2020 рр.

Протягом 2001–2005 рр. щорічно в Україні досліджувалося близько восьми тисяч зразків патологічного матеріалу з підозрою на сказ, тоді як в останні 15 років (з 2006 року) кількість досліджень почала збільшуватися. Насамперед це пов'язано з проведенням пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу. Одним з елементів оцінки ефективності проведення пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу є дослідження зубів лисиць на наявність біомаркеру тетрацикліну та сироваток крові на наявність антитіл до вірусу сказу. Однак цим дослідженням, відповідно до Методичних рекомендацій «Планування, організація та проведення пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу», мають передувати дослідження мозку лисиць на наявність антигену вірусу сказу [10]. Саме завдяки широкомасштабним кампаніям з пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу, що розпочалися в Україні з 2018 року, та активному моніторингу значно збільшилася кількість лабораторних досліджень на сказ [11, 12].

В Україні лабораторна діагностика сказу на основі РПІФ є ключовою, оскільки всі Державні регіональні лабораторії Держпродспоживслужби акредитовані Державним акредитаційним агентством України на проведення досліджень цим методом і постійно його застосовують для рутинної лабораторної діагностики сказу тварин [3].

Відповідно до ДСТУ 7053:2009 «Ветеринарна медицина. Методи діагностики сказу» у разі негативного або сумнівного результату в РПІФ необхідно проводити дослідження іншим методом — біологічної проби на білих мишах або вірусовиділенням у культурі клітин з подальшою ідентифікацією в РПІФ. Аналіз ветеринарної звітності показав, що 94,5 % випадків постановки остаточного діагнозу «сказ» відбувається за допомогою РПІФ, а з використанням біологічної проби на мишах лабораторно встановлюється 5,5 % випадків захворювання.

З 2006 року спостерігається тенденція щодо зменшення частки позитивних результатів (у 2006 р. — 20 %, у 2020 р. — 7,2 %) у загальній кількості проведених лабораторних досліджень на сказ (рис. 2).

Причиною цього може бути непроведення Регіональними лабораторіями Держпродспоживслужби України постановки біологічної проби після отримання негативного результату в РПІФ у зразках, які направляються до лабораторій для оцінки ефективності

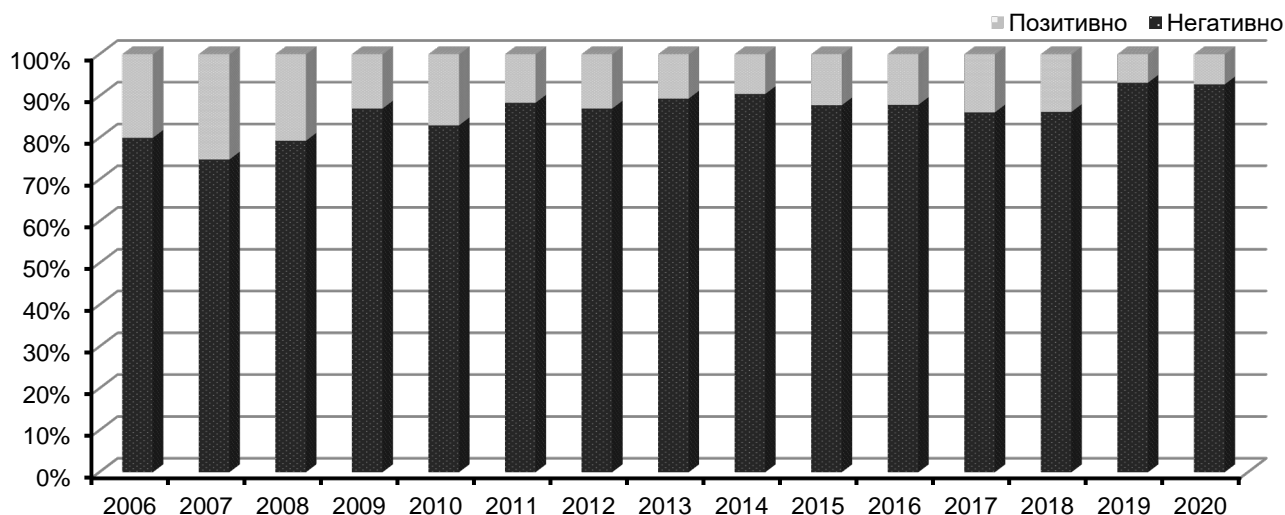


Рис. 2. Відсоткове співвідношення кількості позитивних і негативних досліджень на сказ в Україні у 2006–2020 рр.

пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу в рамках активного моніторингу. Постановка біологічної проби для цих зразків не проводиться у зв'язку з обмеженими ресурсами Регіональних лабораторій Держпродспоживслужби України, що може мати негативний вплив на ефективність моніторингу, адже використання дублюючого тесту (у тому числі біологічної проби на мишах) підвищує достовірність діагностики сказу [9].

Отже, РПІФ є швидким, чутливим і специфічним методом діагностики сказу, а також відноситься до експрес-тестів (результати можна отримати протягом кількох годин). Однак точність тесту залежить від таких факторів, як досвід працівників лабораторії, якість діагностичного кон'югату, обладнання (флуоресцентний мікроскоп) тощо.

Підтвердження спроможності та кваліфікації співробітників вірусологічних відділів Регіональних лабораторій Держпродспоживслужби України відбувається шляхом проведення незалежного професійного тестування BET-ТЕСТ, провайдером якого є ДНДІЛДВСЕ.

Упровадження в науково-дослідному вірусологічному відділі ДНДІЛДВСЕ визначених стандартизованих підходів у підготовці контрольних зразків, у тому числі й референс-штаму вірусу сказу CVS-11 (ATCC VR 959), дало змогу з 2020 року забезпечити організацію та проведення міжлабораторних раундів професійного тестування BET-ТЕСТ з виявлення антигену вірусу сказу відповідно до ISO 17043:2017 «Оцінка відповідності. Загальні вимоги до перевірки професійного рівня». Усі лабораторії, які приймали участь у незалежному професійному тестуванні BET-ТЕСТ у 2020 році, успішно його пройшли, що свідчить про належну кваліфікацію співробітників вірусологічних відділів у питаннях діагностики сказу [9].

Поряд з перевагами та широким упровадженням у лабораторну практику України РПІФ і біологічної проби для діагностики сказу указані методи мають деякі суттєві недоліки. Світовий досвід та експертна думка свідчать про необхідність імплементації системи культур клітин для діагностичних досліджень в Україні [8, 9]. Крім того, необхідно впровадити в лабораторну практику України різні варіанти полімеразно-ланцюгової реакції, що в рекомендаціях МЄБ з 2018 року визначено як діагностичний тест [5]. Забезпечення належної діагностики сказу та впровадження нових методів повинно створювати умови для ідентифікації усіх випадків сказу серед тварин.

Висновки. 1. Реакція прямої імунофлуоресценції є основною базовою методикою для діагностики сказу в Україні, за використання якої в 94,5 % випадків установлюється остаточний діагноз «сказ».

2. Упроваджено стандартизовані підходи в організацію та проведення міжлабораторних раундів професійного тестування BET-ТЕСТ з виявлення антигену вірусу сказу відповідно до ISO 17043:2017 «Оцінка відповідності. Загальні вимоги до перевірки професійного рівня».

3. Установлено виробничу та наукову необхідність упровадження нових методів лабораторної діагностики сказу, таких як вірусовиділення в культурі клітин і полімеразно-ланцюгову реакцію як альтернативу біологічній пробі на мишах.

Список літератури

1. World Health Organization. WHO expert consultation on rabies: Third report. Geneva: WHO, 2018. 195 pp. (WHO Technical Report Series, Vol. 1012). ISBN: 9789241210218. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>.
2. Недосеков В. В., Гришок Л. П., Полупан І. М., Іванов М. Ю. Оздоровлення території України від сказу — невідкладні завдання науки і практики. *Ветеринарна медицина України*. 2009. № 2. С. 12–13.
3. Mazur N., Nedosekov V., Polupan I. The role of the fat in laboratory diagnosis of rabies. *Veterinary Biotechnology*: bulletin. Kyiv, 2015. Iss. 26. С. 232–236. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2015_26_33.
4. Polupan I. M., Nedosekov V. V., Stepanova T. V., Rudoi O. V., Parshikova A. V., Drozdova E. I. Molecular characteristics isolates of rabies virus isolated from humans in Ukraine. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021. Vol. 677. P. 042025. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/4/042025>.
5. World Organisation for Animal Health (OIE). Chapter 3.1.17. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses) [version adopted in May 2018]. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*. 8th ed. Paris: OIE, 2018. P. 578–612. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.
6. Hanlon C. A., Smith J. S., Anderson G. R. (1999). Recommendations of a national working group on prevention and control of rabies in the United States. Article II: Laboratory diagnosis of rabies. The National Working Group on Rabies Prevention and Control. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1999. Vol. 215, iss. 10. P. 1444–1446. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10579039>.
7. Tepsumethanon V., Lumlertdacha B., Mitmoonpitak C., Fagen R., Wilde H. Fluorescent antibody test for rabies: prospective study of 8,987 brains. *Clinical Infectious Diseases*. 1997. Vol. 25, iss. 6. P. 1459–1461. DOI: <https://doi.org/10.1086/516151>.
8. Robardet E., Picard-Meyer E., Andrieu S., Servat A., Cliquet F. International interlaboratory trials on rabies diagnosis: An overview of results and variation in reference diagnosis techniques (fluorescent antibody test, rabies tissue culture infection test, mouse inoculation test) and molecular biology techniques. *Journal of Virological Methods*. 2011. Vol. 177, iss. 1. P. 15–25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.06.004>.
9. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. Звіти про проведені оцінки ризиків. URL: <https://dpss.gov.ua/diyalnist/ocinka-riziku/zviti>.
10. Полупан І. М., ред. Планування, організація та проведення пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу: метод. реком. Київ: ПП «Тім-Сервіс К», 2019. 30 с.
11. Polupan I., Bezymennyi M., Gibaliuk Y., Drozhzhe Z., Rudoi O., Ukhovskiy V., Nedosekov V., De Nardi M. An analysis of rabies incidence and its geographic spread in the buffer area among orally vaccinated wildlife in Ukraine from 2012 to 2016. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019. Vol. 6. P. 290. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00290>.
12. Полупан І. М., Дрожде Ж. М., Гібалюк Ю. О., Шарай Я. М. Удосконалення системи антирабічних заходів в Україні. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2018. № 1–2. С. 149–152. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vddau_2018_1-2_28.

DIRECT FLUORESCENT ANTIBODY TEST IN LABORATORY
DIAGNOSIS OF ANIMAL RABIES IN UKRAINE

Polupan I. M.

State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

The aim of the study was to analyze the role of the direct fluorescent antibody (DFA) test in the system of laboratory diagnosis of animal rabies in Ukraine. For the analysis, materials of official veterinary reporting were used according to Form No. 2-VET "Report on the work of the state laboratories of veterinary medicine" regarding the results of laboratory studies of pathological material suspicious of rabies, the State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise (SRILDVSE) and virology departments of the State Regional Laboratories of the State Food and Consumer Service of Ukraine, and analytical materials: Report "On the assessment of the risk of spread of rabies among domestic and farm animals under the current animal rabies control system in Ukraine" and the Report "On the assessment of the risk of spread of rabies among wild animals in Ukraine". It has been determined that, over the past 15 years (2006–2020), 194,079 tests of the pathological material were carried out in state laboratories. The direct fluorescent antibody test is the main technique for the diagnosis of animal rabies in Ukraine, when used in 94.5% of cases, the final diagnosis of rabies is made. We have used standardization of approaches, including the use of the reference rabies virus CVS-11 (ATCC VR 959), to the organization and conducting of interlaboratory rounds of professional testing VET-TEST to identify of rabies virus antigen within the requirements ISO 17043:2017 "Conformity assessment. General requirements for testing professional level". DFA test is the main reaction for the diagnosis of rabies in animals in Ukraine. Standardized approaches were introduced and interlaboratory rounds of professional testing BET-TEST have been organized in 2020 for the detection of rabies virus antigen in accordance with the quality standard ISO 17043:2017. The necessity of introducing new methods of laboratory diagnostics of rabies, such as viral isolations in tissue culture and polymerase chain reaction, has been established

Keywords: monitoring, express test, ATCC VR 959

УДК 619:616.98-036.22:578.824.11(477)

DOI [10.36016/VM-2021-107-3](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-3)

АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАХОДІВ БОРОТЬБИ ЗІ СКАЗОМ ТВАРИН В УКРАЇНІ

Гібалюк Ю. О.

*Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів
та захисту споживачів, Київ, Україна, e-mail: yurgib@ukr.net*

Недоссков В. В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

Метою роботи було оцінити ефективність протиєпізоотичних заходів щодо боротьби зі сказом тварин, які були проведені в Україні у 2018–2020 рр. Для проведення аналізу було використано матеріали офіційної ветеринарної звітності, звіт Рахункової палати України, звіти про проведену оцінку ризику поширення сказу серед домашніх, сільськогосподарських та диких тварин, інформацію референс-лабораторії ЄС зі сказу та дикої природи, інформацію інтернет-ресурсу *Rabies-Bulletin-Europe*, звіти Європейської Комісії з реалізації національних програм ерадикації сказу в ЄС. Установлено, що відсутність ідентифікації домашніх м'ясоїдних тварин є ймовірним фактором неповного охоплення антирабічною парентеральною вакцинацією собак і котів, незважаючи на 100 %-ве виконання протиєпізоотичних планів. Установлено, що кампанії з пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу проводилися раз на рік (восени), а не двічі на рік (навесні та восени), що значним чином мало негативний вплив на показники ефективності цього протиєпізоотичного заходу. Незважаючи на виявлені недоліки, результатом проведених кампаній з пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу є зменшення кількості випадків сказу серед цільових груп тварин у період 2018–2020 рр. у два рази. Протиєпізоотичні заходи щодо боротьби зі сказом тварин у 2018–2020 рр. проводилися відповідно до вітчизняних нормативно-правових стандартів і з використанням організаційно-технічних засобів Держпродспожислужби. За результатами оцінки проведених у 2018–2020 рр. антирабічних заходів запропоновано низку нормативних, технічних та організаційних рекомендацій, реалізація яких дасть змогу підвищити ефективність усіх антирабічних заходів в Україні.

Ключові слова: епізоотична ситуація, м'ясоїдні тварини, вакцинація, біомаркер тетрациклін

Сказ — особливо небезпечний зооноз, який має велике соціальне значення у зв'язку з відсутністю засобів лікування, а також значне економічне значення, що формується через суттєві витрати на заходи з профілактики та ліквідації спалахів хвороби серед тварин і витрати на постекспозиційне лікування постраждалих осіб [1]. Ученими встановлено, що основним джерелом сказу на території Європи, у тому числі і в Україні, є руда лисиця (*Vulpes vulpes*) [2–4], а профілактика сказу серед цього виду тварин здійснюється шляхом проведення оральної імунізації диких м'ясоїдних (ORV) з використанням живих атенувованих або рекомбінантних антирабічних вакцин. Проведення ORV стало ефективним заходом, який кардинально змінив і продовжує впливати на епізоотію сказу в Європі [5–8].

В Україні також активно реалізуються кампанії з пероральної вакцинації. У 2018–2020 рр. проводився цей протиєпізоотичний захід раз на рік (восени — вересень–грудень) [9–12], хоча класична модель кампаній з пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу є дворазовий захід, який проводять навесні та восени [13, 14]. Дворазова система дистрибуції вакцини була використана в усіх європейських програмах з пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу, продемонструвала свою ефективність незалежно від щільності популяції лисиць і призвела до ліквідації сказу в багатьох країнах Європи [5–8].

Звичайно, наявність резервуару інфекції, особливості екології лисиць, їхня синантропізація, нерегульоване розмноження, постійні контакти з безпритульними собаками і котами та недостатній рівень імунопрофілактики серед домашніх тварин в Україні через безвідповідальність власників домашніх тварин (особливо в сільській місцевості) є передумовами виникнення сказу серед різних видів тварин [4, 15].

В Україні, не дивлячись на значні зусилля Держпродспоживслужби, на розроблені нормативні та методичні документи досягти значних результатів у боротьбі зі сказом тварин не вдається. Нажаль, в останні роки склалася надзвичайно негативна тенденція до збільшення у структурі захворюваності на сказ частки домашніх тварин. Наразі, Україна — єдина країна Європи, в якій більшість випадків захворювання на сказ приходить на домашніх тварин — собак і котів [4, 10, 16].

Ураховуючи вищезгадане, **метою** роботи була оцінка ефективності протиєпізоотичних заходів боротьби зі сказом тварин, що були проведені в Україні у 2018–2020 рр.

Матеріали та методи. Для здійснення аналізу були використані дані, які представлені офіційною формою звітності з питань ветеринарної медицини, зокрема:

1. Форма № 1-BET «Звіт про заразні хвороби тварин».
2. Форма № 1A-BET «Звіт про ветеринарні протиєпізоотичні заходи».
3. Форма № 2-BET «Звіт про роботу державних лабораторій ветеринарної медицини».

Крім того використані аналітичні матеріали:

4. Звіт Рахункової палати «Про результати аудиту ефективності використання коштів державного бюджету, спрямованих на проведення протиєпізоотичних заходів», затверджений рішенням Рахункової палати від 23.03.2021 № 5-2 [17].

5. Звіти за результатами проведеної якісної оцінки ризику поширення сказу за технічної підтримки експертів Проекту ЄС «Вдосконалення законодавства, контролю та поінформованості у сфері безпечності харчових продуктів, здоров'я та благополуччя тварин в Україні», що підготовлені робочою групою експертів з оцінки ризику [18]:

5.1. Про проведену оцінку ризику поширення сказу серед домашніх і сільськогосподарських тварин за діючої системи контролю сказу тварин в Україні.

5.2. Про проведену оцінку ризику поширення сказу серед диких тварин в Україні.

Для порівняння та проведення аналізу враховувалися результати міжнародного досвіду, які розміщені на офіційних сайтах:

6. Французького агентства з безпеки харчових продуктів, навколишнього середовища та гігієни праці — Референс-лабораторії ЄС зі сказу та дикої природи [19].

7. Інтернет-ресурсу «Rabies-Bulletin-Europe» — WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance and Research Greifswald [20].

8. Звіти Європейської Комісії щодо реалізації національних програм ерадикації сказу в ЄС [21].

Результати й обговорення. Заходи з боротьби зі сказом тварин в Україні регламентовані Законом України «Про ветеринарну медицину», Інструкцією про заходи щодо боротьби зі сказом тварин, а також Планами протиєпізоотичних заходів з профілактики основних заразних хвороб тварин в Україні на 2018–2020 роки. Стратегія боротьби зі сказом в Україні базується на виконанні комплексу антирабічних ветеринарно-санітарних заходів, спрямованих на профілактику та ліквідацію сказу серед основних резервуарів даного захворювання, і включає парентеральну та пероральну імунізацію й епізоотологічний моніторинг. У 2018–2020 рр. проводилися заходи з парентеральної вакцинації домашніх тварин і пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу. Базовим ветеринарно-санітарним заходом, спрямованим на профілактику та ліквідацію сказу є парентеральна імунізація (вакцинація) домашніх тварин.

В Україні для парентеральної вакцинації домашніх і сільськогосподарських тварин застосовується вакцина антирабічна рідка інактивована для імунізації тварин «RabiStar» і «RabiStar red», закупівля яких здійснювалась за кошти державного бюджету через офіційний майданчик електронної системи публічних закупівель ProZorro. Головною перевагою цих вакцин є здатність формувати захисний рівень антитіл до вірусу сказу після одноразового введення.

За результатами проведених планових профілактичних заходів проти сказу у 2018–2020 роках щеплено 17,1 млн домашніх і сільськогосподарських тварин, у тому числі: у 2018 році — 5,6 млн (92,8 % плану), у 2019 році — 5,8 млн (100 % плану) та у 2020 році — 5,7 млн (100 % плану).

Ураховуючи те, що планові показники формуються відповідно до статистичних даних, а також беручи до уваги відсутність ідентифікації домашніх тварин, зокрема собак і котів, існує вірогідність неохоплення вакцинацією усього поголів'я, у першу чергу це стосується безпритульних собак і котів.

У звіті про результати проведеної якісної оцінки ризику поширення сказу серед домашніх і сільськогосподарських тварин в Україні, що підготовлений робочою групою експертів з оцінки ризику щодо поширення сказу тварин в Україні під координацією Держпродспоживслужби за технічної підтримки експертів Проекту ЄС «Вдосконалення законодавства, контролю та поінформованості у сфері безпечності харчових продуктів, здоров'я та благополуччя тварин в Україні», указано, що основна частина собак, що мешкають у містах є вакцинованими, але в сільській місцевості рівень імунізованих тварин є недостатнім. Так, у м. Києві встановлено захисний антирабічний імунітет у 35,9 % собак, однак у сільській місцевості тільки у 10,6 % собак [18].

Слід зазначити, що за даними інформаційної системи Всесвітньої організації охорони здоров'я щодо сказу «Rabies-Bulletin-Europe», кількість випадків зараження сказом домашніх тварин в Україні у 2020 році зменшилася більше ніж у півтора рази порівняно з 2018 роком — з 1 081 до 683. Зокрема, кількість випадків зараження сказом собак і котів зменшилася більше ніж на 100 випадків, ВРХ — більше, ніж у 4 рази, овець та кіз — у 3 рази [20].

Особливе місце в системі заходів боротьби зі сказом природного типу займає пероральна імунізація диких м'ясоїдних тварин. В Україні масштабні (в усіх областях крім тимчасово окупованих територій) кампанії з пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин розпочалися у 2018 році (табл. 1).

Таблиця 1 — Показники проведення кампанії з пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин в Україні у 2018–2020 рр.

Показники	Роки		
	2018	2019	2020
Кількість кампаній	1	1/(2 у західних областях)	1
Оброблено площу, км ²	372 403,87	485 630,47	406 298,74
Розповсюджено доз вакцин у т. ч. мануально (зона NOTAM)	7 448 078 992 360	12 140 764 1 279 216	10 157 470 1 246 362
Кількість принад на км ²	20	25	25

Пероральна імунізація диких м'ясоїдних тварин (лисиць) проти сказу в Україні у 2018–2020 роках проводилася антирабічною вакциною «Орісвак», що була закуплена за кошти державного бюджету через офіційний майданчик електронної системи публічних закупівель ProZorro.

Для аналізу об'ємів і стану здійснення пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу представлено порівняльну інформацію зі звіту Румунії про здійснення кампаній пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу за підтримки ЄС (табл. 2).

Аналіз даних табл. 1 і 2 виявив суттєві відмінності в організації та проведенні пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу:

1. В Україні щороку різна площа, на якій проводять дистрибуцію принад з вакциною, у той час як в Румунії протягом усіх кампаній площа стабільна;

2. Кількість принад з вакциною в Україні становила 20 доз/км² у 2018 році та 25 доз/км² у 2019–2020 рр., у той час як у Румунії в усіх кампаніях використовувалося 25 доз/км²;

2. У 2014 році в Румунії було проведено одну кампанію пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу, так як тільки у 2014 році ЄС надав фінансову підтримку цього заходу [21]. У подальшому щорічно проводилося по дві кампанії на рік — навесні та восени. В Україні щороку проводилася лише осіння кампанія, крім трьох західних областей (буферна зона на кордоні з ЄС), де у 2019 році була проведена весняна кампанія. Варто зазначити, що кампанії з пероральної імунізації диких м'ясоїдних проти сказу проводились раз на рік (восени), а не двічі на рік (навесні та восени), як це передбачено Методичними рекомендаціями «Планування, організація та проведення пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу» та європейським керівництвом [14].

Таблиця 2 — Показники проведення кампаній пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин у Румунії у 2014–2016 рр.

Data on implementation of ORV programme 2014 - 2016

	2014	2015	2016
No. of ORV campaigns	1	2	2
Vaccination area	213.375	213.375	213.375
No. of baits distributed (aerial)	5.334.375	Spring 5.333.275 Autumn 5.333.937	Spring 5.323.182 Autumn 5.326.607
Density	25	25	25
Total length of flying tracks (km)	475.322,6	950.000	950.000
Total no. of flying hours (h)	3.120	6.200	6.200
No. of aircrafts used	25	30	30
No. of baits distributed (manual)	75.400	150.800	150.800

Контроль споживання тваринами вакцини здійснюється за допомогою виявлення біомаркера тетрацикліну, що входить до складу принади, шляхом дослідження гістологічних зрізів під люмінесцентним мікроскопом, а контроль напруги імунітету — шляхом лабораторного дослідження сироваток крові лисиць методом імуноферментного аналізу (табл. 3).

Таблиця 3 — Результати досліджень щелеп лисиць на наявність тетрацикліну в гістологічних зрізах і сироваток крові на наявність антитіл до вірусу сказу у 2018–2020 рр.

Показник	Роки								
	2018			2019			2020		
	Усього	Позитивні		Усього	Позитивні		Усього	Позитивні	
		Кількість	%		Кількість	%		Кількість	%
Біомаркер тетрациклін (ТС)	7 675	3 582	46,7	13 178	6 603	50,1	10 148	4 461	44,0
Сироватки крові	5 527	2 081	37,7	8 904	2 169	24,3	8 759	1 632	18,6

Для порівняння та співставлення результатів оцінки ефективності кампаній з пероральної вакцинації у табл. 4 представлено результати досліджень тетрациклінового маркеру й антитіл до вірусу сказу в диких м'ясоїдних тварин після кампаній з пероральної вакцинації у 2014–2016 рр. в Румунії [21].

Таблиця 4 — Результати дослідження ефективності пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу в Румунії у 2014–2016 рр.

The number of samples is increasing every year.

Monitoring of ORV

	2014			2015			2016		
	Tested	Positive	%	Tested	Positive	%	Tested	Positive	%
Determination of biomarker (TTC)	5.385	2.978	55,31	7.482	5.558	74,29	7.924	5.211	65,77
Detection of antibodies	5.048	1.574	31,19	6.418	1.816	28,30	7.192	2.106	29,29

На прикладі тієї ж Румунії видно, що рівень наявності антитіл до вірусу сказу за двократною обробки у 2016 році становив 29,2 %, а у 2014 році за однократною обробки — 31,1 % [21].

За даними Французького агентства з харчових продуктів, довкілля та охорони здоров'я та безпеки праці (ANSES) у 2019 році (рис. 1) серологічна оцінка ефективності кампаній з пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу в усіх європейських країнах виявила від 15 до 53 % позитивних тварин (за умови проведення кампаній двічі на рік) [19].

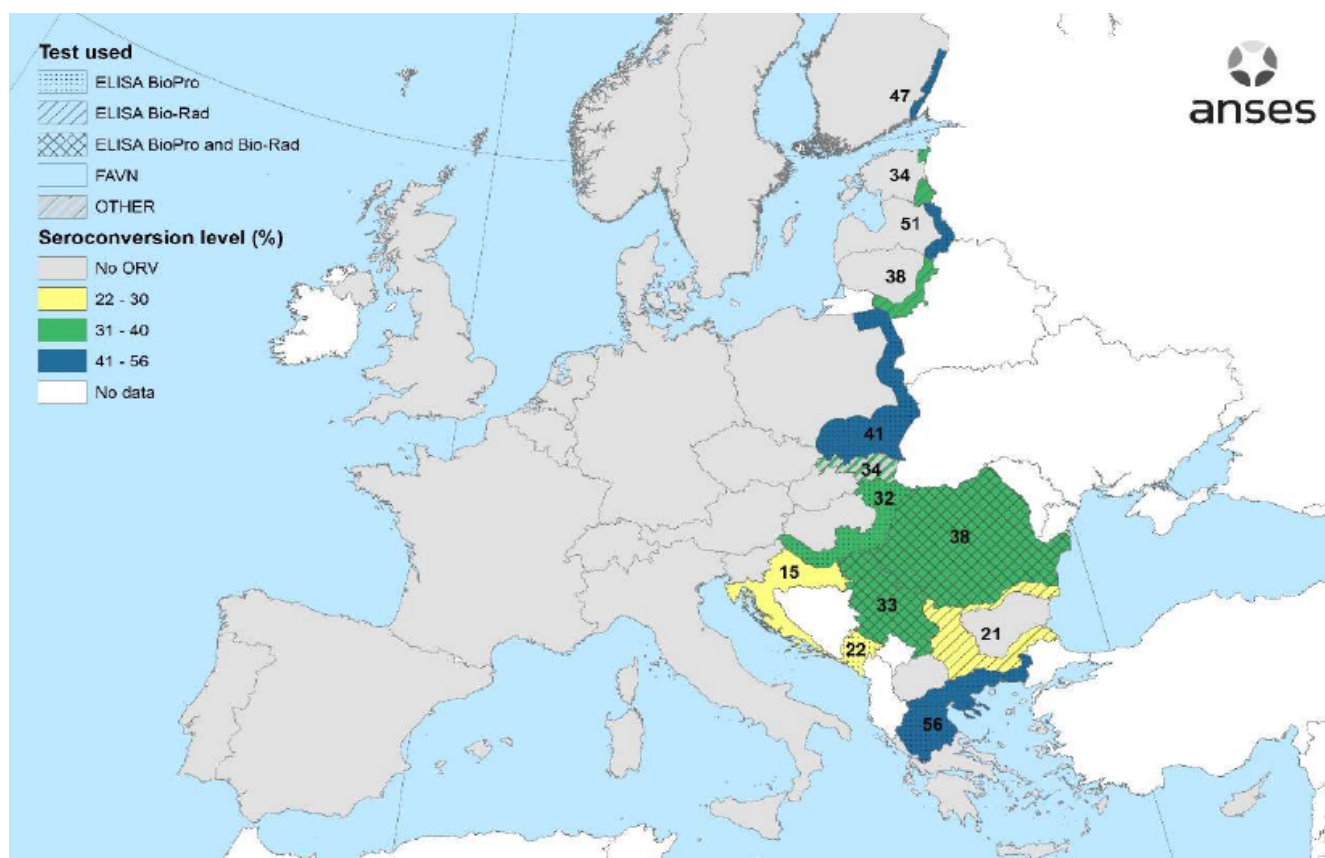


Рис. 1. Зони проведення пероральної вакцинації диких м'ясоїдних проти сказу та результати серологічної оцінки ефективності кампаній з пероральної вакцинації в країнах ЄС у 2019 році.

Ураховуючи вищезазначене, ефективність заходів боротьби зі сказом тварин в Україні не може оцінюватися лише за показником позитивних зразків під час гістологічних або серологічних досліджень. Ефективність кампаній повинна визначатися комплексно, де основним показником є напруженість епізоотичної ситуації (рис. 2).

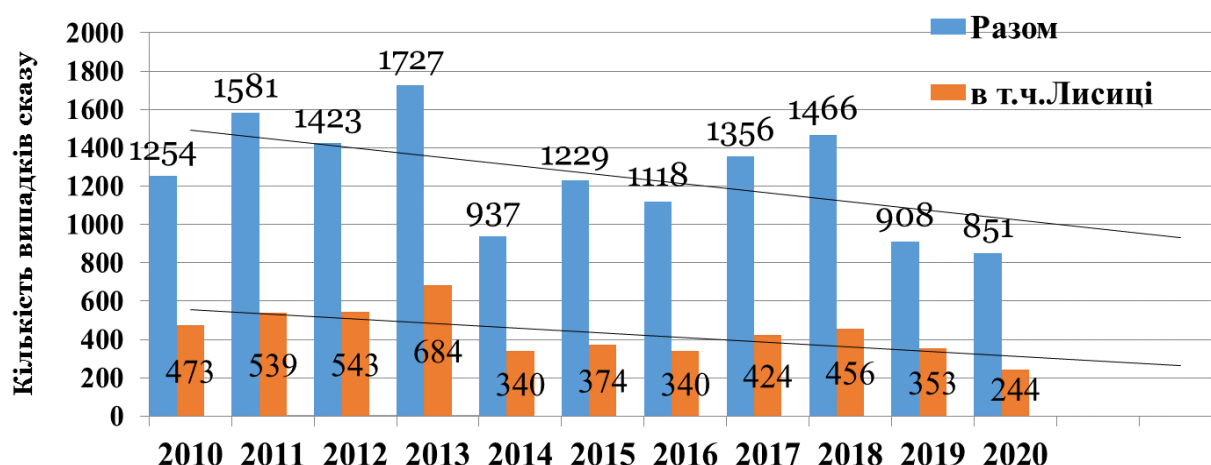


Рис. 2. Кількість неблагополучних щодо сказу тварин пунктів в Україні у 2010–2020 рр.

Результатом проведених кампаній з пероральної вакцинації диких м'ясоїдних тварин проти сказу є зменшення випадків сказу серед цільових груп тварин за період 2018–2020 р. майже удвічі.

Здійснення комплексного аналізу стало умовою формування переліку рекомендацій для підвищення ефективності антирабійних заходів в Україні:

1. Переглянути принцип складання Планів профілактичних щеплень, зокрема проти сказу.

2. Провести аналіз існуючих в Україні систем ідентифікації собак і котів. Запровадити єдину систему ідентифікації собак. Закріпити на законодавчому рівні обов'язковість ідентифікації собак.

3. Підвищити контроль і відповідальність відповідальних осіб за проведення профілактичних щеплень проти сказу домашніх тварин.

4. Ужити заходів для заохочення та залучення приватних лікарів для профілактичних щеплень проти сказу.

5. Розробити та впровадити систему звітування виробників і дистриб'юторів про обсяги реалізації вакцин проти сказу в Україні та приватних ветеринарних лікарів за використання вакцин проти сказу та щеплення домашніх тварин проти сказу.

6. Розробити та затвердити комплексну програму боротьби зі сказом тварин в Україні на наступні 5 років.

7. Переглянути діючу інструкцію про заходи щодо боротьби зі сказом.

8. Переглянути та внести зміни і доповнення до методичних рекомендації з пероральної імунізації диких м'ясоїдних, зокрема щодо планування територій обробки та кількості вакцин.

9. Ужити заходи для проведення пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу відповідно до міжнародних рекомендацій (двічі на рік не менше 5 років поспіль).

10. Розробити стандартну операційну процедуру з відбору, пакування та доставки для досліджень у лабораторії зразків від диких і домашніх тварин;

11. Забезпечити проведення обов'язкової вакцинації проти сказу персоналу, який працює з патологічним матеріалом, підозрілим у зараженні на сказ.

12. Забезпечити проведення спеціалізованих тренінгів серед спеціалістів регіональних і міжрайонних лабораторій Держпродспоживслужби та державних лікарень ветеринарної медицини щодо підвищення рівня кваліфікаційних навичок з імунізації домашніх і сільськогосподарських тварин, відбору, пересилки та дослідження проб сироваток крові, тестування імунітету та контролю відповідних знань (у тому числі зі симуляційними завданнями).

13. Доручити територіальним органам активізувати співпрацю з місцевими органами влади щодо контролю за популяцією безпритульних тварин на відповідних територіях.

Висновки. 1. Протиепізоотичні заходи боротьби зі сказом тварин протягом 2018–2020 років проводилися наявними в підпорядкуванні Держпродспоживслужби організаційно-технічними засобами та з урахуванням існуючих вітчизняних нормативно-правових стандартів.

2. Реалізація сформованих рекомендацій дасть змогу підвищити ефективність усіх антирабійних заходів і створить умови для ерадикації сказу на території України.

Список літератури

1. World Health Organization. WHO expert consultation on rabies: Third report. Geneva: WHO, 2018. 195 pp. (WHO Technical Report Series, Vol. 1012). ISBN: 9789241210218. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>.
2. Hanlon C. A., Niezgoda M., Rupprecht C. E. Rabies in terrestrial animals. In: Jackson A. C., Wunner W. H., eds. *Rabies*. 2nd ed. London: Academic Press. 2007. P. 201–246. URL: <https://www.elsevier.com/books/rabies/jackson/978-0-12-369366-2>.
3. Недосєков В. В., Гришок Л. П., Полупан І. М., Іванов М. Ю. Оздоровлення території України від сказу — невідкладні завдання науки і практики. *Ветеринарна медицина України*. 2009. № 2. С. 12–13.
4. Голік М. О., Недосєков В. В., Карловська К. П., Полупан І. М. Характеристика епізоотичної ситуації зі сказу в Україні. *Тваринництво України*. 2015. № 9. С. 26–31. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/TvUkr_2015_9_10.
5. Steck F., Wandeler A., Bichsel P., Capt S., Schneider L. Oral immunisation of foxes against rabies. A field study. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B*. 1982. Bd. 29, Hf. 5. S. 372–396. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1982.tb01237.x>.
6. Baer G. M. Oral rabies vaccination: an overview. *Reviews of Infectious Diseases*. 1988. Vol. 10, suppl 4. P. S644–S648. DOI: https://doi.org/10.1093/clinids/10.supplement_4.s644.
7. Müller T. F., Schröder R., Wysocki P., Mettenleiter T. C., Freuling C. M. Spatio-temporal use of oral rabies vaccines in fox rabies elimination programmes in Europe. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2015. Vol. 9, iss. 8. P. e0003953. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003953>.
8. Maki J., Guiot A. L., Aubert M., Brochier B., Cliquet F., Hanlon C. A., King R., Oertli E. H., Rupprecht C. E., Schumacher C., Slate D., Yakobson B., Wohlers A., Lankau E. W. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia-rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG): a global review. *Veterinary Research*. 2017. Vol. 48, iss. 1. P. 57. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0459-9>.
9. Гришок Л. П., Падалка О. В., Троценко З. Р. Вивчення ефективності пероральної імунізації лисиць проти сказу в областях України. *Ветеринарна медицина: міжвідом. темат. наук. зб.* Харків, 2005. Вип. 85, т. 1. С. 352–357.

10. Polupan I., Bezymennyi M., Gibaliuk Y., Drozhzhe Z., Rudoi O., Ukhovskiy V., Nedosekov V., De Nardi M. An analysis of rabies incidence and its geographic spread in the buffer area among orally vaccinated wildlife in Ukraine from 2012 to 2016. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019. Vol. 6. P. 290. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00290>.
11. Полупан І. М., Дрожде Ж. М., Гібалюк Ю. О., Шарай Я. М. Удосконалення системи антирабічних заходів в Україні. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2018. № 1–2. С. 149–152. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vddau_2018_1-2_28.
12. Полупан І. М., Рудой О. В., Ложкіна О. В., Павлушко В. Г., Купневська М. В., Теплих Н. І., Кравченко А. Л., Гібалюк Ю. О. Оцінка ефективності пероральної імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу (2018–2020 рр.). *Ветеринарна біотехнологія*: бюл. Київ, 2021. Вип. 39. С. 96–107. DOI: https://doi.org/10.31073/vet_biotech39-09.
13. European Commission. Guidelines to design an EU co-financed programme on eradication and control of rabies in wildlife : working discussion document. SANTE/10201/2015rev1. 2015. URL: https://ec.europa.eu/food/system/files/2016-12/cff_animal_vet-progs_guidance_rabies.pdf.
14. Полупан І. М., ред. Планування, організація та проведення пероральної імунізації м'ясоїдних тварин проти сказу : метод. реком. Київ : ПП «Тім-Сервіс К», 2019. 30 с.
15. Голік М. О., Недосєков В. В., Полупан І. М. Значення різних видів тварин у підтриманні стаціонарно-неблагополучних осередків сказу на території Чернігівської області. *Біологія тварин*. Львів, 2016. Т. 18, № 4. С. 129. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2016_18_4_29.
16. Корнієнко Л. Є., Мороз О. А., Меженський А. О., Скороход С. В., Даценко Р. А., Карпуленко М. С., Полупан І. М., Дзюба Я. М., Недосєков В. В., Маковська І. Ф., Гібалюк Ю. О., Сонько М. П., Царенко Т. М., Піщанський О. В. (2019). Епізоотологічні та епідеміологічні аспекти сказу в Україні за період 1999–2018 рр. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. 2019. № 3. С. 90–109. DOI: <https://doi.org/10.31890/vtp.2019.03.14>.
17. Рахункова палата. Звіт про результати аудиту ефективності використання коштів державного бюджету, спрямованих на проведення протиепізоотичних заходів. Київ, 2021. 176 с. URL: https://rp.gov.ua/upload-files/Activity/Collegium/2021/5-2_2021/Zvit_5-2_2021.pdf.
18. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. Звіти про проведені оцінки ризиків. URL: <https://dpss.gov.ua/diyalnist/ocinka-riziku/zviti>.
19. The French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety (ANSES). European Union Reference Laboratory EURL for rabies. 2021. URL: <https://eurl-rabies.anses.fr/en/minisite/rabies/european-union-reference-laboratory-eurl-rabies>.
20. WHO Collaborating Centre for Rabies Research and Surveillance. Rabies-Bulletin-Europe. Information Surveillance Report. 2021. URL: <https://www.who-rabies-bulletin.org>.
21. European Commission. Final reports — 2019. Geneva : European Commission, 2020. URL: https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/funding-procurement-grants/food-chain-funding/funding-animal-health-measures/national-veterinary-programmes/final-reports-2019_en#rabies.

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF ANIMAL RABIES CONTROL MEASURES IN UKRAINE

Gibaliuk Yu. O.

State Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection, Kyiv, Ukraine

Nedosekov V. V.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of anti-epizootic measures to combat animal rabies, which were carried out in Ukraine in 2018–2020. Materials of official veterinary reporting, report of the Accounts Chamber of Ukraine, reports on the assessment of the risk of rabies spread among domestic, farm and wild animals, information from the EU Reference Laboratories regarding rabies and wildlife, information from the internet resource Rabies-Bulletin-Europe, European Commission reports on the implementation of national rabies eradication programs in the EU were used for the analysis. It has been found that the lack of the identification of domestic carnivores is a probable factor of incomplete coverage of rabies parenteral vaccination of dogs and cats, despite 100% implementation of anti-epizootic plans. It has been found that campaigns of oral immunization of wild carnivores against rabies were carried out once a year (in autumn), not twice a year (in spring and autumn), which had a significant negative impact on the effectiveness of this anti-epizootic measure. Despite the identified shortcomings, the result of the campaigns of oral vaccination of wild carnivores against rabies was a twice decrease of rabies cases among the target groups of animals in the period 2018–2020. Anti-epizootic measures to control rabies of animal in 2018–2020 were carried out using national regulatory standards and the organizational and technical means of the State Food and Consumer Service. Based on the results of the assessment of anti rabies measures carried out in 2018–2020, a number of regulatory, technical and organizational recommendations have been proposed. The implementation of these recommendations will make it possible to increase the effectiveness of rabies control in Ukraine

Keywords: epizootic situation, carnivores, vaccination, tetracycline biomarker

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 619:615.28.076.7:582.28:57.085:636

DOI 10.36016/VM-2021-107-4

ФУНГІЦИДНА ДІЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ПРЕПАРАТУ «БІОЛАЙД»

Коваленко В. Л.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, Київ, Україна, e-mail: kovalengkodoktor@gmail.com

Чечет О. М.

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна

Умовно-патогенна та патогенна мікрофлора негативно впливає на загальний стан і продуктивність тварин навіть за забезпечення належних умов годівлі та утримання. Значної шкоди промисловим фермам завдають такі грибкові інфекції, як *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida albicans*. Метою роботи було визначити ефективні концентрації препарату «Біолайд» для дезінфекції стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. Дослідження проводили в Державному науково-дослідному інституті лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Використовували бактерицидний препарат «Біолайд» на основі перекису водню, надмолочної кислоти та молочної кислоти. Визначали фунгіцидну дію різних концентрацій «Біолайду» та параметри використання відповідно до загальноприйнятих рекомендацій. Визначення ефективних концентрацій препарату «Біолайд» проводили методами: суспензійним та паперових дисків. З цією метою готували водні розчини «Біолайд» у концентраціях 0,5, 1,0, 2,0 і 2,5 % та суспензії спор з еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 ($2,5 \times 10^7/\text{см}^3$) і *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1,8 \times 10^7/\text{см}^3$) з музею ДНКІБШМ. Контроль — культури мікроорганізмів досліджували в робочому розведенні. Установлено, що дезінфікуючий засіб Біолайд у концентрації 2,0 % чинить ефективну фунгіцидну дію стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. Розчин дезінфікуючого препарату «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв виявляє фунгіцидні властивості на тест-об'єктах (дерево, залізо, цегла та штукатурка)

Ключові слова: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, тест-об'єкти

Одна з основних проблем збереження поголів'я птиці на птахофабриках та отримання якісних і кількісних показників продукції — це боротьба із грибовою мікрофлорою. Недотримання ветеринарно-санітарних заходів на підприємствах за умов якісної годівлі й утримання може привести до появи резистентних патогенних мікроорганізмів. Такої великої шкоди у птахогосподарствах завдають мікроміцети родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Saccharomyces cerevisias*, *Candida albicans* та ін. Останнім часом науковці проводять розробки сучасних ефективних препаратів за рахунок синтезу нових хімічних сполук або створення композицій з активних діючих хімічних речовин. Композиційні препарати можуть доповнювати функціональні властивості кожного зі складників і, як результат, відбувається посилення активності компонентів. Створення композиційних дезінфікуючих засобів і проведення ротації дезінфектантів з різними діючими речовинами дозволяє ефективно боротися зі стійкими мікроорганізмами, такими як мікроміцети. Під час вибору для застосування ефективних дезінфікуючих препаратів бажано звертати увагу на препарати, які згідно листівки-вкладки до реєстраційного посвідчення досліджувалися на широкий спектр мікроорганізмів, зокрема мікроміцети [1, 2].

Профілактика від інфекційних хвороб значною мірою залежать від якості дезінфекції та дезінфікуючих препаратів [3–6].

Метою роботи було визначити ефективні концентрації препарату «Біолайд» для дезінфекції стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у лабораторії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Застосовували дезінфікуючий препарат «Біолайд» на основі перекису водню, надмолочної кислоти та молочної кислоти.

Дослідження фунгіцидної дії препарату «Біолайд» за різних концентрацій та експозицій було проведено згідно із загальноприйнятими рекомендаціями «Методи контролю ефективності дії дезінфектантів на мікроміцети», затвердженими науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини (протокол № 1 від 23.12.2009 р.) та вимог ДСТУ EN 1275:2004 «Засоби хімічні дезінфеційні та антисептичні. Основна фунгіцидна активність. Метод випробування та вимоги (стадія 1)» [4, 7–9]. Визначення ефективних концентрацій препарату «Біолайд» проводили методами: суспензійним та паперових дисків. З цією метою готували водні розчини «Біолайд» у концентраціях 0,5, 1,0, 2,0 і 2,5 % та суспензії спор з еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 ($2,5 \times 10^7/\text{см}^3$) і *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1,8 \times 10^7/\text{см}^3$) з музею Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів. Контроль — культури мікроорганізмів досліджували в робочому розведенні. Застосовували *Neutralizing fluid* — середовище для нейтралізації активності антимікробних агентів відповідно до ЄФ (Himedia, Lot 0000342787; придатний до: травень 2022). Нейтралізуючі речовини: твін-80 (30 г/дм^3), лицетин (3 г/дм^3), гістидину гідрохлорид (1 г/дм^3).

Суспензійний метод: розчин дезінфектанту «Біолайд» у кількості $0,1 \text{ см}^3$ змішували мікроорганізмами у робочих розведеннях (експозиція контакту складала 30 та 60 хв і висівали на тверде поживне середовище Чапека та на агар зі солодовим екстрактом. Посіви культивували в термостаті за температури 27°C упродовж 14 діб. Спостереження проводили через 3, 5, 7, 10 і 14 діб. Облік результатів проводили за наявністю чи відсутністю росту гриба [9–11].

Метод паперових дисків: робочі розведення еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404, у кількості $0,2 \text{ см}^3$, висівали на тверде поживне середовище Чапека та на агар зі солодовим екстрактом у чашках Петрі. Для дифузії культур в агар чашки, культури грибів витримували впродовж 15–30 хв за кімнатної температури. Стерильні диски з фільтрувального паперу (діаметром 5 мм) змочували водними розчинами дезінфектанту у відповідних концентраціях у кількості $0,1 \text{ см}^3$ на диск і розкладали стерильним пінцетом на чашки Петрі, притискаючи до агару. У кожену чашку розкладали по 5 дисків, які витримували в термостаті за температури 27°C впродовж 10 діб. Облік результатів проводили через 7 і 10 діб, визначали діаметр зон затримки росту грибів навколо паперових дисків за допомогою лінійки [10].

Для підтвердження остаточної ефективної концентрації дезінфікуючого препарату «Біолайд» проводили дослідження на тест-об'єктах: залізо, штукатурка, дерево та цегла.

Результати досліджень. За результатами досліджень визначення фунгіцидних властивостей дезінфікуючого препарату «Біолайд» на еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404 суспензійним методом були отримані результати, наведені у табл. 1.

Таблиця 1 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» суспензійним методом

Дослідні мікроорганізми	Контроль	Концентрація препарату, %							
		0,5		1,0		2,0		2,5	
		Експозиція, хв							
		30	60	30	60	30	60	30	60
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	–	+	–	–	–

Примітки: «+» — наявність росту гриба; «–» — відсутність росту гриба.

Установлено, що препарат «Біолайд» починаючи із 2,5 %-ї концентрації за експозиції 30 та 60 хв проявляє фунгіцидну активність, про що свідчить відсутність росту мікроорганізмів. А з 2,0 % концентрації встановлено активний вплив розчину препарату на мікроорганізми за експозиції 60 хв.

Ураховуючи, що за суспензійного методу експозиція 60 хв виявилася більш оптимальною для дослідження, тому її застосовували під час досліджень методом з паперовими дисками. Результати дослідів з використанням паперових дисків наведено у табл. 2 і 3.

Таблиця 2 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» з використанням паперових дисків за експозиції 60 хв (7 діб) ($M \pm m$, $n = 5$)

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %			
	0,5	1,0	2,0	2,5
	Діаметр зон затримки росту, мм			
<i>Aspergillus niger</i>	4,0 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1	10,0 \pm 0,2	13,0 \pm 1,3
<i>Candida albicans</i>	11,0 \pm 1,1	12,0 \pm 0,8	14,0 \pm 1,2	17,0 \pm 1,5

Аналізуючи дані табл. 2 встановлено, що на сьому добу починаючи з концентрацій 1,0 і 2,0 % препарат «Біолайд» активно затримував ріст вегетативних клітин *Candida albicans* (зона затримки росту > 5 мм). Затримка росту суспензії спор плісняви *Aspergillus niger* була 10 мм вже за 2,0 %-ї концентрації досліджуваного препарату.

Установлено, що «Біолайд» на десяту добу (табл. 3) фунгіцидну активність виявляв у 1,0 %-ї концентрації, де зона затримки росту *Aspergillus niger* дорівнювала 9 мм. Під час дослідження візуально спостерігалася зона затримки росту до 20 мм за концентрації препарату 2,0 %. Збільшення концентрації дезінфікуючого засобу спричиняло відповідне збільшення зон затримки росту мікроорганізмів *Aspergillus niger* і *Candida albicans*.

Таблиця 3 — Дослідження фунгіцидної активності препарату «Біолайд» з використанням паперових дисків за експозиції 60 хв (10 діб), ($M \pm m$, $n = 5$)

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %			
	0,5	1,0	2,0	2,5
	Діаметр зон затримки росту, мм			
<i>Aspergillus niger</i>	4,0 \pm 0,1	9,0 \pm 0,3	13,0 \pm 1,3	17,0 \pm 1,5
<i>Candida albicans</i>	12,0 \pm 0,6	18,0 \pm 0,5	20,0 \pm 1,2	22,0 \pm 1,2

Згідно ДСТУ EN 1275:2004 передбачено (табл. 4), що продукт задовольняє вимогам, якщо показник зниження рівня життєздатності бактерій дорівнює не менше 10^4 протягом часу випробування не більше 60 хв, за температури 20 °C, в умовах, визначених для аналізування з використанням випробних мікроорганізмів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404. За цим показником 2 %-й розчин препарату «Біолайд» забезпечує основну фунгіцидну активність стосовно еталонних *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Таблиця 4 — Результати випробування фунгіцидної активності препарату «Біолайд»

Дослідні мікроорганізми	Діюча концентрація, %					
	1,0			2,0		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2,5×10 ⁷			2,5×10 ⁷		
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	1,8×10 ⁷			1,8×10 ⁷		
Показник зниження рівня життєздатності вегетативних клітин <i>Candida albicans</i> та суспензії спор плісняви <i>Aspergillus niger</i> за зазначених випробних концентрацій продукту						
	15 хв	30 хв	60 хв	15 хв	30 хв	60 хв
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2,0×10 ⁷	7,9×10 ⁶	3,2×10 ³	2,4×10 ⁷	2,3×10 ⁵	4,8×10 ²
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	1,7×10 ⁷	8,4×10 ⁶	1,5×10 ⁴	1,7×10 ⁷	1,5×10 ⁵	7,6×10 ³

Дезінфікуючий препарат «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв повністю знезаражував тест-об'єкти дерева, заліза, цегли та штукатурки (табл. 5). Це підтвердило ефективність даної концентрації для застосування на виробництві.

Таблиця 5 — Фунгіцидна активність препарату Біолайд у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв

Культури мікроорганізмів	Тест-об'єкти			
	дерево	залізо	цегла	штукатурка
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	100	100	100	100
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	100	100	100	100

Висновки. 1. Проведеними дослідженнями встановлено, що дезінфікуючий засіб Біолайд у концентрації 2,0 % чинить ефективну фунгіцидну дію стосовно еталонних штамів *Candida albicans* ATCC 10231 і *Aspergillus niger* ATCC 16404.

2. Розчин дезінфікуючого препарату «Біолайд» у 2,0 %-й концентрації за експозиції 60 хв виявляє фунгіцидні властивості на тест-об'єктах.

Перспективи подальших досліджень. Наступний етап дослідження дезінфікуючого препарату «Біолайд» передбачає визначення його віруліцидної активності.

Список літератури

- Канищев В. В., Еремеева Н. И. Выбор и применение современных дезинфицирующих средств. Желанное и реальность. *Дезинфекционное дело*. 2016. № 1. С. 28–36. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25650563>.
- Апатенко В. М. Инфекционная патология и преволуция микробов. *Ветеринарна медицина* : міжвід. темат. наук. зб. 2009. Вип. 92. С. 36–38. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2009_92_10.
- Палий А. П., Палий А. П., Родионова Е. А. Дезинфицирующие средства в системе противозпизоотических мероприятий. *Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017. № 2. С. 24–33. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29385396>.
- Коваленко В. Л., Лясота В. П., Синицин В. А., Головкин А. М., Кухтин М. Д. Загальні методи профілактики шляхом застосування комплексних дезінфікуючих засобів : наук. посіб. Київ ; Ніжин : ПП Лисенко М. М., 2017. 407 с. ISBN: 9786176403326.
- Rodionova K. O., Paliy A. P. Analysis of quality and safety indicators of poultry meat during primary processing. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2017. Vol. 3, iss. 2. P. 5–9. URL: http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2017/volume3/issue2/oJVMBBS_2017032_005-009.pdf.
- Gilbert P., Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*. 2005. Vol. 99, iss. 4. P. 703–715. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>.
- Єфімова О. М., Касянчук В. В. Аналіз мікробіологічної безпечності національної продукції тваринного походження, призначеної для експорту. *Ветеринарна медицина України*. 2014. № 1. С. 30–34. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2014_1_11.
- ДСТУ EN 1275:2004. Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна фунгіцидна активність. Метод випробування та вимоги (стадія 1) (EN 1275:1997, IDT). Київ : Держспоживстандарт України, 2005. 20 с.
- Коваленко В. Л., Васянович О. М., Загребельний О. В. Дослідження впливу дезінфектанту «Оргасепт» на гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* та *Candida*. *Ветеринарна біотехнологія* : бюл. 2016. Вип. 29. С. 132–137. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2016_29_16.
- Коваленко В. Л., Гаркавенко В. М. Дослідження ефективності бактерицидного засобу Барез за визначенням фунгіцидної дії. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 2. С. 55–58. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvwm_2017_2_11.
- Давлеев А. Д., Сорокин П. П. Производственные стандарты микробиологической безопасности при переработке птицы в США. *Птица и птицепродукты*. 2014. № 1. С. 56–58. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21400324>.

FUNGICIDAL EFFECT OF “BIOLIDE” DISINFECTANT

Kovalenko V. L.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

Chechet O. M.

*State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics
and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine*

Conditionally pathogenic and pathogenic microflora negatively affects the general condition and productivity of animals, even with the provision of proper feeding and maintenance conditions. Significant damage to industrial farms is caused by fungal infections such as Aspergillus, Penicillium, Fusarium, and Candida albicans which associate with using of different disinfectants. The work aimed to determine the

effective concentration of "Biolide" for disinfection concerning reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. The tests were conducted in the State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise. We used bactericidal drug "Biolide" based on hydrogen peroxide, perlactic acid and lactic acid. We determined the fungicidal action of different concentrations of "Biolide" and parameters of use following generally accepted recommendations. The study and determination of fungicidal concentrations of "Biolide" were carried out by the following methods: suspension, paper disks. For this purpose, we prepared the following aqueous solutions of "Biolide" — 0.5, 1.0, 2.0, 2.5% and prepared spore suspensions of reference strains of *Candida albicans* ATCC 10231 ($2.5 \times 10^7/\text{cm}^3$) and *Aspergillus niger* ATCC 16404 ($1.8 \times 10^7/\text{cm}^3$). Control: the culture of fungi with working dilutions was the control. The tests revealed that a 2%-concentrated "Biolide" disinfectant has fungicidal effect concerning the reference strains *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus niger* ATCC 16404. "Biolide" disinfectant solution at 2.0% concentration and an exposure time of 60 minutes exhibits fungicidal properties on the test objects (wood, iron, brick, plaster)

Keywords: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, test objects

УДК 619:616.98-078:579.873.21:57.083.32:636.22/.28

DOI 10.36016/VM-2021-107-5

ВИЗНАЧЕННЯ ПРИЧИН АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ НА ТУБЕРКУЛІН У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Завгородній А. І., Білушко В. В., Позмогова С. А.,

Калашник М. В., Калашник Н. В., 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 наведено результати обстеження великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу тваринницьких господарствах протягом 2020–2021 рр. Зразки біологічного матеріалу відбирали та досліджували в лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІНЦВМ». Комплексним методом встановлено причини алергічних реакцій на мікобактеріальні алергени. Метою досліджень було проведення епізоотологічного моніторингу та визначення причин позитивних шкірних туберкулінових проб великої рогатої худоби в чотирьох вільних від туберкульозу господарствах. Ці господарства знаходилися в різних регіонах України. Використовували епізоотологічний, клінічний, алергічний, патологоанатомічний, бактеріологічний та біологічний методи, у тому числі патологоанатомічне дослідження зразків біологічного матеріалу (лімфатичних вузлів та внутрішніх органів), фарбування за методом Ціля–Нільсена під час бактеріоскопії. Зразки біологічного матеріалу попередньо обробляли за методом А. П. Алікаєвої та 0,9 %-м розчином цетилпіридинію хлориду та висівали на селективні поживні середовища для культивування мікобактерій. У результаті проведеного дослідження із зразків біологічного матеріалу трьох гуртів великої рогатої худоби виділено сім культур нетуберкульозних мікобактерій. Установлено, що ці ізоляти представлені чотирма видами мікобактерій — *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*. Крім того, дві культури *M. avium* subsp. *paratuberculosis* було ізольовано в одному гурті великої рогатої худоби. Короткострокова сенсibilізація до туберкуліну для ссавців у великої рогатої худоби в трьох господарствах була обумовлена атипovими мікобактеріями чотирьох видів: *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* і *M. scrofulaceum*, що персистують в організмі тварин і не спричиняють розвитку інфекційного туберкульозного процесу. Мікобактерії підвиду *M. avium* subsp. *paratuberculosis* обумовлюють латентну форму перебігу інфекційного процесу в організмі великої рогатої худоби та сенсibilізацію до туберкуліну, а також патологоанатомічні ураження у тонкому відділі кишечника. Кролі місячного віку, сприйнятливі до збудника паратуберкульозу, можуть бути використані як експериментальна модель для визначення біологічних властивостей епізоотичних культур *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і встановлення діагнозу на паратуберкульозний ентерит. Гурти великої рогатої худоби, в яких сенсibilізація обумовлена атипovими мікобактеріями, слід вважати благополучними щодо туберкульозу, а контроль благополуччя та диференціацію

неспецифічних реакцій на туберкулін необхідно проводити із застосуванням симультанної проби з туберкуліном ППД для ссавців і алергеном з атипових мікобактерій. Дослідження великої рогатої худоби у разі підозри захворювання на паратуберкульозний ентерит необхідно проводити комплексним методом із застосуванням алергічного, серологічного (РЗК, ІФА), патологоанатомічного, бактеріологічного та молекулярно-генетичних методів досліджень з використанням біологічної проби на кролях місячного віку

Ключові слова: паратуберкульозний ентерит, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, атипові мікобактерії

Скотарські господарства можуть бути прибутковими лише за умови благополуччя поголів'я стосовно інфекційних захворювань, відсутності порушень технологічного процесу, що призводить до зниження кількості та якості продукції. Особливе місце серед хронічних інфекційних захворювань великої рогатої худоби займають туберкульоз і лейкоз, що також становлять загрозу здоров'ю людей.

Незважаючи на впровадження системи профілактики та оздоровлення поголів'я великої рогатої худоби від цих захворювань і на сьогодні виявляють спорадичні випадки інфікування тварин збудниками туберкульозу та лейкозу у благополучних і рецидиви цієї інфекції в оздоровлених господарствах у багатьох країнах світу [1, 2].

Разом з цим деякі автори встановили, що вірус лейкозу в організмі інфікованих тварин обумовлює імуносупресивний стан і, тим самим, зумовлює підвищену сприйнятливість у таких тварин до збудників інших вірусних і бактеріальних захворювань [3, 4].

Крім того, є окремі повідомлення, що у серопозитивних на лейкоз тварин під час проведення алергічних досліджень на туберкульоз відмічають гіперчутливість сповільненого типу на туберкулін (ППД) для ссавців [1–3]. Алергічні реакції на мікобактеріальний алерген у тварин можуть бути обумовлені як збудниками туберкульозу (*M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. avium* subsp. *avium*), паратуберкульозу (*M. avium* subsp. *paratuberculosis*), так і окремими видами атипових мікобактерій. Псевдоалергічні внутрішньошкірні реакції на туберкулін для ссавців в окремих тварин виявляли за згодовування грубих кормів, уражених мікроміцетами, гельмінтозних захворювань, вузликового дерматиту, а також запальних процесів у легенях [12].

Проблема неспецифічних алергічних реакцій на туберкулін для ссавців у благополучних гуртах великої рогатої худоби виникла ще у 1950-х роках минулого століття. У подальшому цей феномен спостерігався у багатьох країнах світу. Проведеними дослідженнями з вивчення таксономії мікобактерій, ізольованих у різних країнах світу та на різних континентах, міжнародною робочою групою було встановлено, що збудники туберкульозу відрізняються від інших видів мікобактерій за вірулентністю, а деякі з них мають загальні антигени з атиповими мікобактеріями, незалежно на якому континенті їх було виділено [5–8].

Ефективність профілактичних та оздоровчих протитуберкульозних заходів залежить, перш за все, від якості та специфічності діагностичних тестів, які використовуються в системі диспансеризації тварин і своєчасного виявлення джерела збудника.

На сьогодні у загальносвітовій практиці для контролю благополуччя й оздоровлення стад від туберкульозу великої рогатої худоби застосовують внутрішньошкірну туберкулінову пробу, за результатами якої визначають епізоотичний статус гуртів щодо цього захворювання. Основним недоліком алергічного методу є те, що в гуртах виявляють тварин як зі специфічними, так і з параалергічними та псевдоалергічними реакціями на внутрішньошкірне введення туберкуліну. Під час діагностичного забою реагуючих на туберкулін тварин у них не виявляють в органах і тканинах характерних для туберкульозу уражень, а з відібраного від цих тварин біоматеріалу збудника туберкульозу бактеріологічним методом не виділяють. При цьому господарства втрачають кошти із-за необґрунтованого забою продуктивних тварин і проведення додаткових ветеринарно-санітарних заходів.

Для диференціації специфічних від неспецифічних реакцій в різних країнах застосовували очну, внутрішньовенну, пальпебральну пробу з різними дозами алергенів, надплевральну новокаїнову блокаду, симультанну пробу з різними моноалергенами, РА, РГ, РНГА, РЗК, РТЗК, ІФА, ПЛР, γ-інтерфероновий тест. Перелічені серологічні, молекулярно-генетичні методи не знайшли широкого застосування у ветеринарній практиці для діагностики туберкульозу. Тому зажиттєва діагностика туберкульозу великої рогатої худоби не може бути здійснена одним

універсальним тестом. Для визначення природи неспецифічних реакцій на туберкулін у благополучних щодо туберкульозу скотарських господарствах найбільшого визнання та застосування у країнах Європи отримала симультанна проба з туберкуліном (ППД) для ссавців і птиці, яку і на сьогодні застосовують для диференціації специфічних від параалергічних реакцій [11, 12].

При цьому слід зазначити, що у благополучних щодо туберкульозу впродовж понад п'ять років країнах (Швеції, Данії, Канаді, Німеччині, Фінляндії, Сполучених Штатах Америки) дослідження великої рогатої худоби алергічним методом не проводять, а контроль епізоотичної ситуації в стадах здійснюють за результатами ветеринарно-санітарної експертизи туш забитих тварин на м'ясопереробних підприємствах. У разі підозри захворювання на туберкульоз все поголів'я гурту досліджують симультанною пробю з туберкуліном для ссавців та птиці. Якщо у реагуючих тварин інтенсивність внутрішньошкірної реакції більше виражена на туберкулін для птиці в порівнянні з реакцією на туберкулін для ссавців, то такі стада вважають благополучними, а реакції — як неспецифічні. Якщо під час експертизи туш у забитих тварин виявляють патологоанатомічні ураження, то все поголів'я гурту оздоровлюють, а в окремих випадках — шляхом повної заміни стада. В Україні з цією метою застосовують симультанну пробу з туберкуліном для ссавців та алергеном з атипівих мікобактерій [9, 10, 13].

Не дивлячись на те, що поголів'я великої рогатої худоби в Україні оздоровлено від туберкульозу, однак, під час планових моніторингових досліджень щорічно у 120–150 господарствах виявляють реагуючих тварин, у тому числі і неблагополучних щодо лейкозу. Проте, необхідно зазначити, що в організмі тварин можуть одночасно циркулювати як *M. bovis*, так і персистувати атипіві мікобактерії. Відомо також, що інфекційний туберкульозний процес може мати латентну форму перебігу, особливо у тварин заражених *M. tuberculosis*. Тому недооцінка неспецифічних реакцій може призвести до невиправданого забою здорових тварин, а недооцінка цього явища — до поширення туберкульозної інфекції у стаді.

Матеріали та методи. Для з'ясування епізоотичної ситуації щодо туберкульозу та визначення природи реакцій на туберкулін, нами було відібрано чотири благополучні господарства, в яких впродовж двох років виявляли реагуючих на туберкулін та в двох із них утримувались серопозитивні у реакції імунодифузії (РІД) на лейкоз, а також хворі на мастит та ендометрит тварини.

Дослідження поголів'я великої рогатої худоби у кількості 3 838 гол. у чотирьох господарствах проводили клінічним і алергічним методами на туберкульоз.

Алергічні дослідження проводили симультанною пробю з застосуванням туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині та алергену сухого очищеного із атипівих мікобактерій (ААМ), виготовлених ДП «Сумська біофабрика». Мікобактеріальні алергени вводили внутрішньошкірно безголковими ін'єкторами за наступною схемою: туберкулін з лівої сторони, а ААМ — з правої сторони у середню третину шиї на попередньо вистрижене й оброблене спиртом ректифікатом місце у дозі 0,1 см³.

Під час патологоанатомічного дослідження забитих з діагностичною метою тварин оглядали та відбирали для культурального дослідження підщелепні, заглоткові, бронхіальні, середостінні, портальні, мезентеріальні, передлопаткові, надвимв'яні, колінної складки лімфатичні вузли та шматочки печінки, селезінки, потовщені ділянки тонкого та товстого відділів кишечника.

Проби відібраного біологічного матеріалу від 23 реагуючих на мікобактеріальні алергени корів досліджували культуральним методом в умовах стерильного боксу у лабораторії вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ».

Деконтамінацію проб лімфатичних вузлів і шматочків внутрішніх органів від сторонньої мікрофлори проводили за методом А. П. Алікаєвої. Відібрані проби кишечника подрібнювали на шматочки розміром 0,5–1,0 см² та обробляли 0,9 %-м розчином цетилпіридинію хлориду за експозиції 20 год. Після цього розчин зі ступок видаляли, а шматочки розтирали товчачиком зі стерильним піском до отримання гомогенної однорідної маси. У ступки додавали 0,85 %-й стерильний фізіологічний розчин у співвідношенні 1:5, ретельно перемішували та після осідання піску стерильною піпеткою з середнього шару рідини відбирали 10,0 см³ проби, переносили у центрифужні пробірки та центрифугували (3 000 об./хв) упродовж 15 хв. Після цього надосадову рідину зливали, а отриманий осад дворазово промивали стерильним ізотонічним розчином.

Отриманий осад ресуспендували у фізіологічному розчині (1:5). Кожну пробу досліджуваного біоматеріалу окремо висівали на яєчне поживне середовище для культивування мікобактерій. Проби кишковика додатково висівали на поживне середовище з фактором росту. Пробірки з висівами культивували в термостаті за температури $37,0 \pm 0,5$ °C впродовж 90 діб.

Облік росту мікобактерій на поживному середовищі проводили щодобово у перші сім діб, а в подальшому — щотижнево впродовж 90 діб. У разі виявлення росту колоній на поверхні поживного середовища, з них виготовляли мазки, які фарбували за методом Ціля–Нільсена та проводили мікроскопію на наявність кислотостійких мікобактерій та їхню чистоту. У разі виявлення в мазках кислотостійких паличок червоного кольору первинні культури висівали на поживне середовище Павловського для накопичення бактеріальної маси. У виділених епізоотичних культур визначали швидкість росту, морфологію колоній, ріст за температур 25, 37 і 45 °C, їхню пігментацію, швидкість росту на середовищі з саліцилатом натрію і 5,0 %-м хлоридом натрію. Крім цього визначали каталазну активність, здатність гідролізувати твін-80, реакцію з телуритом калію, а також реакцію акумуляції заліза.

Після визначення видової належності вивчали біологічні властивості у дослідах на мурчаках, які не реагували на туберкулін та ААМ. Культуру, яку було ідентифіковано як *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) досліджували у дослідах на кролях місячного віку. Для цього з кожної окремо взятої культури готували зависі 1,0 та 2,0 мг/см³ на стерильному фізіологічному розчині. Виготовлені зависі культур вводили мурчакам внутрішньом'язово у внутрішню поверхню стегна (1,0 мг/см³), а кролям — внутрішньовенно у крайову вену лівого вуха в дозі 2,0 мг/см³. За тваринами вели спостереження впродовж 90 діб та досліджували симультанною проборою триразово з інтервалом 30 діб.

Результати досліджень. Дослідження поголів'я в господарствах проводили комплексним методом із застосуванням епізоотологічного, клінічного, алергічного, патологоанатомічного та бактеріологічного методів дослідження на туберкульоз. За результатами аналізу епізоотичної ситуації було встановлено наявність реагуючих на туберкулін тварин під час проведення планових алергічних досліджень упродовж останніх двох років, а причини цих реакції були нез'ясованими.

У результаті обстеження 3 838 гол. великої рогатої худоби у чотирьох досліджуваних господарствах тварин з клінічними ознаками туберкульозу не було виявлено. Результати проведених алергічних, патологоанатомічних і бактеріологічних досліджень наведено в таблиці.

Таблиця — Результати дослідження великої рогатої худоби на туберкульоз в господарствах

№ господарства	Досліджено, гол.	Кількість досліджень	Методи досліджень								Діагноз на туберкульоз
			Алергічний				Патолого-анатомічний		Бактеріологічний		
			Реагувало з більшою інтенсивністю реакції, гол.				Досліджено, гол.	результат	Досліджено, гол.	результат	
			усього	ППД	ААМ	з однаковою реакцією					
1	1 850	2					3	негат.	3	<i>M. smegmatis</i> <i>M. fortuitum</i> <i>M. phlei</i>	негат.
2	589	2	58	6	45	7	13	негат.	13	<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. fortuitum</i>	негат.
3	859	2	36	2	33	1	3	негат.	3	<i>M. phlei</i> <i>M. fortuitum</i>	негат.
4	540	2	12	1	9	3	4	ураження кишковика	4	<i>M. paratuberculosis</i>	позит.
Усього	3 838	8	136	12	118	11	23	—	23	—	—

Під час обліку реакцій на внутрішньошкірне введення туберкуліну та ААМ з числа досліджених тварин у симультанній пробі було виділено 136, які реагували на обидва алергени. З них у господарстві № 1 реагувало 24 тварини, у господарстві № 2 — 58, № 3 — 36, № 4 — 12. При цьому 12 тварин реагували з більшою інтенсивністю на туберкулін для ссавців з потовщенням складки шкіри на 3–4 мм. У 118 тварин у цих господарствах реакції були більш вираженими на ААМ з потовщенням шкіряної складки від 5 до 10 мм. При цьому 11 корів реагували з однаковою інтенсивністю реакції на обидва алергени з потовщенням шкіри на 3–5 мм. Якщо оцінювати результати симультанної алергічної проби в цілому по стаду у кожному господарстві окремо, то в трьох господарствах (№№ 1–3) реакції у тварин були достовірно вираженими на алерген з атипичних мікобактерій, а в господарстві № 4 отримано невизначений результат. Проте слід зазначити, що реакції на мікобактеріальні алергени відмічали тільки у корів дійного стада, тоді як серед досліджуваних нетелів, телиць парувального віку та молодняку в жодному випадку реагуючих тварин не було виявлено.

Крім цього за дворазового алергічного дослідження реагуючих на мікобактеріальні алергени тварин не виявляли серед серопозитивних у РІД на лейкоз (52 гол.), з різною формою запального процесу на мастит (24 гол.) та післяпологовий ендометрит (12 гол.).

З метою визначення природи реакцій гіперчутливості сповільненого типу у тварин дослідних господарств для діагностичного забою були відібрані тварини, які реагували з більшою інтенсивністю реакцій на туберкулін для ссавців (12 гол.) та з однаковими реакціями на обидва алергени (11 гол.). Під час патологоанатомічного дослідження 19 тварин у трьох господарствах (№№ 1–3) у лімфатичних вузлах і внутрішніх органах характерних для туберкульозу уражень не було встановлено. В однієї тварини з господарства № 4 у заглиблених лімфатичних вузлах відмічали гіперплазію, у другій корови — незначне збільшення окремих мезентеріальних лімфатичних вузлів, потовщення ділянок тонкої та ободової кишок, а на розрізі відмічали гіперемію, набряк і поперечні складки слизової оболонки, які не розгладжувалися.

За культурального дослідження відібраного від забитих тварин біологічного матеріалу з господарств № 1 та № 3 на 7-му добу відмічали ріст світло-сірого та світло-жовтого кольору колоній мікобактерій.

З біологічного матеріалу від тварин господарства № 2 первинний ріст пігментованих колоній було встановлено на 20-ту добу у вигляді маслянистої консистенції колоній з гладенькою матовою поверхнею.

З біоматеріалу від тварин, що належали господарству № 4 первинний ріст колоній мікобактерій на поживному середовищі тільки з фактором росту спостерігали через 65–90 діб у двох випадках.

У подальшому на першому пасажі ізольовані п'ять культур вирости на поживному середовищі на 3–5-ту доби, одна культура — на 12-ту добу, а дві інші — після трьох послідовних пасажів ріст колоній було встановлено на 30–35-ту доби тільки на середовищі з фактором росту.

Під час мікроскопії мазків з виділених культур було встановлено наявність коротких і довгастих із закругленими кінцями, а також дрібних кислотостійких паличок світло-сірого кольору, що розташовувалися поодинокі та скупченнями у полі зору мікроскопа.

Чотири культури росли на поживному середовищі за температур 25, 37 і 45 °С на середовищі з 5,0 %-м NaCl і саліцилатом натрію, мали позитивну реакцію з карбамідом, нікотинамідом, піразинамідом, телуритом калію, гідролізували твін-80, каталазну активність, а один ізолят акумулював залізо. Дві інші швидкозростаючі культури вегетували на середовищі за температур 25 і 37 °С та акумулювали у процесі росту залізо, були толерантними до 5,0 %-го NaCl, у процесі росту гідролізували твін-80, мали позитивну реакцію з карбамідом і телуритом калію та слабковиражену реакцію з нікотинамідом та піразинамідом і не росли за температури 45 °С.

Скотохромогенна субкультура виростала на 12-ту добу за температур 25 і 37 °С, мала помаранчевий колір, не росла на середовищі за температури 45 °С, з 5,0 %-м NaCl, саліцилатом натрію, не акумулювала лимонноаміачне залізо, мала негативну каталазну активність, реакцію з телуритом калію, твін-80 та позитивну амідазну активність.

Дві субкультури виділені від корів з господарства № 4 повільно вирости на середовищі з фактором росту на 30–35-ту доби тільки за температури 37,0 ± 0,5 °С, не росли на середовищі за температур 25 і 45 °С, на середовищі зі вмістом 5,0 %-го NaCl та саліцилатом натрію, не

акумулювали залізо, мали негативну каталазну та нікотинамідазну, а також слабкопозитивну карбамідазну та піразинамідазну реакції, гідролізували твін-80 та відновлювали телурит калію на 21-шу добу.

На підставі вивчення тінкторіальних, культурально-біохімічних властивостей 3 ізольовані культури мікобактерій було віднесено до виду *M. fortuitum*, до *M. phlei* — 2, до *M. smegmatis* — 1, до *M. scrofulaceum* — 1, а також до *M. avium* subsp. *paratuberculosis* — 2 культури.

Під час вивчення біологічних властивостей у дослідах на мурчаках культури *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* обумовлювали сенсibilізацію до туберкуліну для ссавців та ААМ на 30-ту добу, а *M. scrofulaceum* — на 30-ту та 60-ту доби після одноразової інокуляції. При цьому реакції у мурчаків були інтенсивніше виражені на ААМ у порівнянні з реакцією на туберкулін для ссавців. В евтазованих через 90 діб мурчаків в органах і тканинах туберкульозних уражень не було встановлено. У заражених дворазово внутрішньовенно кролів місячного віку культурами MAP реакція на туберкулін для ссавців була відсутньою, тоді як на туберкулін для птиці позитивно реагували всі досліджені тварини. У подальшому під час клінічного огляду на 35–38-му доби у дослідних тварин відмічали незначне пригнічення, кволість, затримку росту, атрофію м'язів задніх кінцівок, на 42–45-му доби — діарею та загибель на 45–50-ту добу. Під час патологоанатомічного дослідження у загиблих тварин у тонкому відділі кишковика (клубова та тонка кишка) та у ділянці ілеоцекального клапана відмічали характерні для паратуберкульозу ураження, а з біоматеріалу були ізольовані вихідні культури MAP.

Висновки. 1. Короткострокова сенсibilізація до туберкуліну для ссавців у великої рогатої худоби в трьох господарствах була обумовлена атиповими мікобактеріями чотирьох видів: *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* і *M. scrofulaceum*, що персистують в організмі тварин і не спричиняють розвитку інфекційного туберкульозного процесу.

2. Мікобактерії підвиду *M. avium* subsp. *paratuberculosis* обумовлюють латентну форму перебігу інфекційного процесу в організмі великої рогатої худоби та сенсibilізацію до туберкуліну, а також патологоанатомічні ураження у тонкому відділі кишковика.

3. Кролі місячного віку, сприйнятливі до збудника паратуберкульозу, можуть бути використані як експериментальна модель для визначення біологічних властивостей епізоотичних культур *M. avium* subsp. *paratuberculosis* і встановлення діагнозу на паратуберкульозний ентерит.

4. Гурти великої рогатої худоби, в яких сенсibilізація обумовлена атиповими мікобактеріями, слід вважати благополучними щодо туберкульозу, а контроль благополуччя та диференціацію неспецифічних реакцій на туберкулін необхідно проводити із застосуванням симультанної проби з туберкуліном ППД для ссавців і алергеном з атипових мікобактерій.

5. Дослідження великої рогатої худоби у разі підозри захворювання на паратуберкульозний ентерит необхідно проводити комплексним методом із застосуванням алергічного, серологічного (РЗК, ІФА), патологоанатомічного, бактеріологічного та молекулярно-генетичних методів досліджень з використанням біологічної проби на кролях місячного віку.

Список літератури

1. Горжеев В. М. Епізоотологічний моніторинг та удосконалення системи боротьби з туберкульозом рогатої худоби у господарствах України: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Харків: ІЕКВМ УААН, 2005. 20 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0405U003269>.
2. Завгородній А. І., Стегній Б. Т., Бісюк І. Ю., Горжеев В. М., Герілович А. П., Палій А. П., Позмогова С. А., Комісаренко С. В. Система епізоотологічного моніторингу, діагностики, профілактики та оздоровлення тваринництва України від туберкульозу. *Ветеринарна медицина України*. 2014. № 1. С. 10–13. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2014_1_6.
3. Завгородній А. Туберкульоз: проблеми щодо боротьби з ним та шляхи їх вирішення. *Ветеринарна медицина України*. 2002. № 9. С. 19–20.
4. Шаров А. Н., Ярошенко Л. А., Суханов І. П. Эффективность методов прижизненной диагностики туберкулеза. *Ветеринария*. 2002. № 2. С. 16–18.
5. Alvarez J., Perez A., Bezos J., Marqués S., Grau A., Saez J. L., Mínguez O., de Juan L., Domínguez L. Evaluation of the sensitivity and specificity of Bovine tuberculosis diagnostic tests in naturally infected cattle herds using a Bayesian approach. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 155, iss. 1. P. 38–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.07.034>.
6. Basybekov S. Z., Bazarbayev M. B., Yespembetov B. A., Mussaeva A., Kanatbayev S. G., Romashev K. M., Dossanova A. K., Yelekeyev T. A., Akmatova E. K., Syrym N. S. Diagnostics of Tuberculosis and differentiation of nonspecific tuberculin reactions in animals. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018. Vol. 49, iss. 2. P. 329–335. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.07.004>.

7. Buddle B. M., de Lisle G. W., Griffin J. F., Hutchings S. A. Epidemiology, diagnostics, and management of Tuberculosis in domestic cattle and deer in New Zealand in the face of a wildlife reservoir. *New Zealand Veterinary Journal*. 2015. Vol. 63, suppl. 1. P. 19–27. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2014.929518>.
8. Buddle B. M., McCarthy A. R., Ryan T. J., Pollock J. M., Vordermeier H. M., Hewinson R. G., Andersen P., de Lisle G. W. Use of mycobacterial peptides and recombinant proteins for the diagnosis of Bovine tuberculosis in skin test-positive cattle. *The Veterinary Record*. 2003. Vol. 153, iss. 20. P. 615–620. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.153.20.615>.
9. De Garine-Wichatitsky M., Caron A., Kock R., Tschopp R., Munyeme M., Hofmeyr M., Michel A. A review of Bovine tuberculosis at the wildlife-livestock-human interface in sub-Saharan Africa. *Epidemiology and Infection*. 2013. Vol. 141, iss. 7. P. 1342–1356. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268813000708>.
10. Hartnack S., Torgerson P. The accuracy of the Single Intradermal Comparative Skin Test for the diagnosis of Bovine Tuberculosis estimated from a systematic literature search. *Mycobacterial Diseases*. 2012. Vol. 2. P. 120. URL: <https://doi.org/10.4172/2161-1068.1000120>.
11. Mathews F., Macdonald D. W., Taylor G. M., Gelling M., Norman R. A., Honess P. E., Foster R., Gower C. M., Varley S., Harris A., Palmer S., Hewinson G., Webster J. P. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2006. Vol. 273, iss. 1584. P. 357–365. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3298>.
12. Sgaragli G., Frosini M. Human tuberculosis I. Epidemiology, diagnosis and pathogenetic mechanisms. *Current Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 23, iss. 25. P. 2836–2873. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867323666160607222854>.
13. Schiller I., Oesch B., Vordermeier H. M., Palmer M. V., Harris B. N., Orloski K. A., Buddle B. M., Thacker T. C., Lyashchenko K. P., Waters W. R. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2010. Vol. 57, iss. 4. P. 205–220. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01148.x>.

DETERMINATION OF THE CAUSES OF ALLERGIC REACTIONS TO TUBERCULIN IN CATTLE

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

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

The article presents the results of cattle examining in four free from tuberculosis livestock farms during 2020–2021. Samples of biological material were collected and studied in the Laboratory for tuberculosis study of the NSC “IECVM”. The causes of allergic reactions to mycobacterial allergens were established by a comprehensive method. The study was aimed to conduct epizootological monitoring and to determine the causes of positive tuberculin skin tests in cattle in four free from tuberculosis farms. These farms were located in different regions of Ukraine. Epizootological, clinical, allergical, anatomopathological, bacteriological and biological methods were used including a pathological examination of biological material samples (lymph nodes and internal organs), Ziehl–Nielsen staining while bacterioscopy. Samples of biological material were preliminary treated by A. P. Alikieva’s method and 0.9% solution of cetylpyridinium chloride and inoculated on selective nutrient media for mycobacteria cultivation. As the result of conducted study seven cultures of nontuberculous mycobacteria were isolated from samples of biological material from three cattle herds. It was found that these isolates were represented by four mycobacterial species. There were *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. smegmatis* and *M. scrofulaceum*. In addition, two cultures of *M. avium* subsp. *paratuberculosis* were isolated from one cattle herd. Short-term sensitization to tuberculin for mammals in cattle was caused by atypical mycobacteria in three farms. There were four mycobacteria species; *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum* and *M. scrofulaceum* which persists in the body of animals and does not cause the development of an infectious tuberculosis process. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) causes the latent form of an infectious process in the body of cattle and sensitization to tuberculin, as well as pathological lesions in the small intestine. One-month-old rabbits susceptible to MAP can be used as an experimental model for determination of biological properties of epizootic cultures and diagnosis of paratuberculous enteritis. Herds of cattle in which sensitization is triggering by atypical mycobacteria should be considered as free from tuberculosis. Control of welfare and differentiation of nonspecific reactions to tuberculin should be carried out using a simultaneous test with PPD tuberculin for mammals and the allergen from atypical mycobacteria. The study of cattle with a suspicion of paratuberculous enteritis should be carried out by complex method using allergical, serological (CFT, ELISA), pathological, bacteriological and molecular-genetic research methods, as well as using a biological test on one month old rabbits.

Keywords: paratuberculous enteritis, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, nontuberculous mycobacteria

ЕКСПРЕС-МЕТОДИКА ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЦВС-II У ПОЛЬОВИХ УМОВАХ

**Рудова Н. Г., Ісаков М. М., Лиманська О. Ю.,
Болотін В. І., Солодянкін О. С., Герілович А. П.**

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

Метою даної роботи було провести адаптацію розробленого нами методу детекції генетичного матеріалу ЦВС-II для використання у польових умовах за відсутності лабораторного обладнання та належних умов роботи. Для відпрацювання методики використовували зразок печінки від свині, охарактеризований як позитивний щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-II. Екстракцію нуклеїнової кислоти проводили з використанням експрес-методу власної модифікації. Реакцію ізотермічної ампліфікації проводили за допомогою реагентів виробництва фірми Thermo Fisher Scientific (Німеччина) та BioLabs (Великобританія) у відповідності до рекомендацій виробників з використанням системи праймерів PCV-F3, PCV-B3, PCV-FIP, PCV-BIP. Для проведення ізотермічної ампліфікації використовували водяну баню WB-4MS (Biosan, Латвія) та термоблоку ємністю 380 мл (ZIZ, Україна). Для ліофілізації реакційної суміші використовували ліофілну сушку ALPHA 1-2 LD plus виробництва Christ (Німеччина). Температуру реакції відслідковували за допомогою термометру ТТЖ-М (ПрАТ «Склоприлад», Україна), реєстрацію температури проводили за допомогою логгера SterilDisk (Tecnosoft, Італія). Для візуалізації та контролю результатів ізотермічної ампліфікації використовували транслюмінатор Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США), інтеркалюючий барвник SYBR Green I виробництва Invitrogen (США) та портативне джерело ультрафіолетового світла (YATO, Польща). На прикладі ідентифікації ЦВС-II проведено адаптацію раніше розробленого методу ізотермічної ампліфікації для використання в польових умовах. Розроблена методика ізотермічної ампліфікації є спрощеною технічно та не потребує використання спеціального лабораторного обладнання

Ключові слова: ДНК, ПЛР, термоблок, УФ-ліхтарик

На сьогоднішній день серед зареєстрованих в Україні та світі інфекційних захворювань свиней, що завдають значних збитків промисловому свиноводству, одним з найбільш поширених і збиткових є цирковірусна інфекція свиней (ЦВІС) [1, 2]. Це інфекційна хвороба домашніх і диких свиней різних статевих груп, що спричинюється цирковірусом II типу (ЦВС-II) і характеризується системним ураженням лімфоїдних тканин, супроводжується глибокою імуносупресією та клінічно проявляється морфо-функціональними розладами різних систем та органів [2, 3]. Діагностика ЦВІС ускладнюється відсутністю цитопатогенної дії цирковірусів та серопозитивністю навіть у клінічно здорових тварин [4, 5].

Тому, серед існуючих методів детекції ЦВС-II найбільш придатними для встановлення діагнозу на ЦВІС є молекулярно-генетичні методи, зокрема різні модифікації полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та встановлення нуклеотидної послідовності збудника методом секвенування [6].

В Україні для детекції ЦВС-II також застосовують молекулярно-генетичні методи — класичну ПЛР і ПЛР у реальному часі [7, 8]. Проте, ці методи мають деякі обмеження, такі як використання термічних циклів для ампліфікації (30–40 циклів), використання коштовного обладнання та брак часу в умовах необхідності швидкої постановки діагнозу [9]. Відсутність достатнього фінансування обмежує впровадження сучасних методів аналізу в українських діагностичних лабораторіях, що, у свою чергу, спонукає до пошуку інших альтернативних методів, які характеризуються високою швидкістю та економічністю аналізу. Тому пріоритетним

напрямом у галузі діагностики є розробка експрес-методів, особливо коли перевага в часі є головним вирішальним критерієм під час постановки діагнозу, у тому числі і на ЦВІС.

Попередньо нами було розроблено метод ізотермічної ампліфікації для швидкої детекції генетичного матеріалу ЦВІС-II у клінічних зразках. Цей метод дозволяє швидко генерувати велику кількість копій цільового фрагмента за низької кількості матриці у досліджуваному зразку та відсутності спецустаткування у вигляді термоциклерів. Напрацювання ПЛР-продукту методом LAMP можна було отримати за температур у діапазоні 58–63 °C протягом 45–60 хв, а облік результатів провести шляхом візуалізації рівня флуоресценції зразків після додавання інтеркалюючого барвника до реакційної суміші та опромінення в ультрафіолетовому світлі на трансліюмінаторі [10].

Метою даної роботи було провести адаптацію розробленого нами методу детекції генетичного матеріалу ЦВІС-II для використання у польових умовах за відсутності лабораторного обладнання та належних умов роботи.

Матеріали та методи. Для відпрацювання методики було використано зразок печінки від свині, який раніше був нами охарактеризований як позитивний щодо наявності генетичного матеріалу ЦВІС-II.

Екстракцію нуклеїнової кислоти проводили з використанням експрес-методу власної модифікації [11].

Реакцію ізотермічної ампліфікації проводили за допомогою реагентів виробництва фірми Thermo Fisher Scientific (Німеччина) та BioLabs (Великобританія) у відповідності до рекомендацій виробників цих наборів з використанням системи праймерів PCV-F3, PCV-B3, PCV-FIP, PCV-BIP [10]. Для проведення ізотермічної ампліфікації використовували водяну баню WB-4MS (Biosan, Латвія) та термкружку ємністю 380 мл (ZIZ, Україна).

Для ліофілізації реакційної суміші використовували ліофільну сушку ALPHA 1-2 LD plus виробництва Christ (Німеччина). Режим ліофілізації: температура — мінус 61 °C, тиск — 0,035 атм., час ліофілізації — 2 год.

Температуру реакції відслідковували за допомогою термометру ТТЖ-М (ПрАТ «Склоприлад», Україна), реєстрацію температури проводили за допомогою логгеру SterilDisk (Tecnosoft, Італія).

Для візуалізації та контролю результатів ізотермічної ампліфікації використовували трансліюмінатор Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США), інтеркалюючий барвник SYBR Green I (100X) виробництва Invitrogen (США) та портативне джерело ультрафіолетового світла — ліхтарик (YATO, Польща).

Результати досліджень. Проведення молекулярно-генетичних досліджень складається з декількох етапів: екстракція сумарної нуклеїнової кислоти, приготування реакційної суміші та внесення досліджуваних зразків, ампліфікація, візуалізація та облік результатів ампліфікації.

Ми спростили процедуру отримання результатів під час дослідження біологічних зразків щодо наявності генетичного матеріалу ЦВІС-II на усіх етапах.

Зазвичай, для екстракції сумарної нуклеїнової кислоти використовують сорбентний метод, заснований на адсорбції нуклеїнових кислот на діоксиді кремнію, який осаджують центрифугуванням і відмивають розчинами з високим вмістом іонів, та подальшій елюції нуклеїнових кислот у гіпоізотонічний розчин [12]. Але для відмивки сорбенту потрібне спеціальне обладнання, таке як центрифуги та вакуумні відсмоктувачі рідини, що впливає на швидкість і вартість аналізу. Тому екстракцію матеріалу проводили за допомогою розробленого нами експрес-методу, суть якого полягає в тому, що адсорбент (діоксид кремнію) закріплюють на пластиковому шпателі, яким одночасно проводять відбір зразка та сорбцію молекул ДНК шляхом почергового занурення петлі шпателя у серію розчинів для екстракції ДНК.

Для підготовки пластикового шпателя на малих мікробіологічних петлях за допомогою клею на основі ціаноакрілату закріплювали діоксид кремнію (silica). Через 1 хв петлі промивали у бідистильованій воді двічі з метою звільнення петлі від надлишку діоксиду кремнію.

У пробірки типу «епендорф» окремо вносили по 300 мкл лізуючого розчину, 300 мкл розчину для відмивання (сольовий буфер), 200 мкл води, вільної від нуклеаз.

Мікробіологічну петлю з діоксидом кремнію занурювали у біологічний матеріал (сироватка крові) та вносили у пробірку з лізуючим розчином. Інкубували протягом 5 хв за кімнатної температури, періодично перемішуючи ручкою петлі. Після інкубації мікробіологічну петлю

виймали та занурювали у пробірку з розчином для відмивання (сольовий буфер). Перемішуючи ручкою шпателя, інкубували протягом 5 хв за кімнатної температури. Для елюювання ДНК мікробіологічну петлю занурювали у пробірку з буфером для елюювання, інкубували протягом 10 хв періодично перемішуючи. Після цього петлю виймали з пробірки, а одержаний розчин нуклеїнових кислот використовували для молекулярно-генетичного аналізу.

Реакційна суміш була приготовлена відповідно до розробленого нами протоколу ампліфікації та ліофілізована.

Для проведення ампліфікації у ліофілізовану суміш додавали 24 мкл води, вільної від нуклеаз, та 1 мкл досліджуваного зразка ДНК.

Як альтернативу водяній бані (устаткування, необхідне для проведення ізотермічної ПЛР) використовували термokrужку ємністю 380 мл.

Для проведення реакції воду нагрівали до 100 °C та наливали у термokrужку. Температуру води у термokrужці контролювали за допомогою термометра. Початком експерименту вважали температуру води 65 °C. Пробірку з реакційної сумішшю закріплювали у вертикальному положенні на шматочку пінопласту для того, щоб пробірка знаходилась на поверхні води. Над верхнім шаром води з харчової фольги створювали додаткову термоізоляцію. Після чого щільно закривали термokrужку та залишали для інкубації протягом 1 год.

Зміну температури води у термokrужці відслідковували за допомогою реєстратора температури — температурного логгера.

На початку ампліфікації температура у верхньому шарі води в термokrужці складала 63,51 °C, наприкінці — 50 °C. Зчитування показників температури за допомогою логгера проходило щохвилини протягом 60 хв. За показаннями логгера зниження температури на початку ампліфікації складало 0,3 °C/хв та 0,2 °C/хв наприкінці ампліфікації у діапазоні температури 51–50 °C.

Як видно з графіку (рис. 1), температура води у термokrужці знижувалась поступово та рівномірно протягом 53 хв, що дозволило забезпечити відповідні умови роботи ферменту.

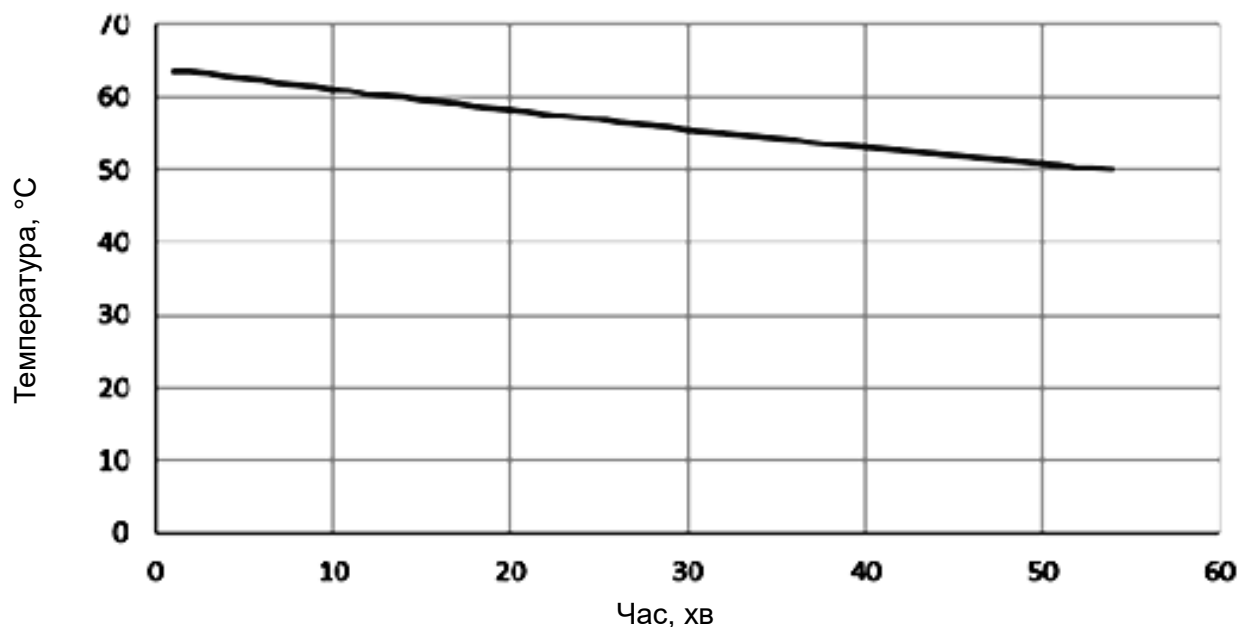


Рис. 1. Температурний графік реакції.

Після ампліфікації проводили візуалізацію результатів дослідження шляхом електрофоретичного аналізу в 1,5 %-му агарозному гелі. За результатами проведених досліджень було встановлено, що ізотермічна реакція відбувалась в обох пробірках — як на водяній бані, так і в термokrужці, про що свідчила поява на електрофореграмі характерних шлейфів, пов'язаних з напрацюванням ампліконів.

Розроблена нами методика була відтворюваною за триразового дослідження.

З метою адаптації розробленого методу для застосування у польових умовах також було спрощено технічно візуалізацію результатів досліджень.

Відсутність випадіння осаду пірофосфату магнію під час проведення ізотермічної ПЛР за стандартним протоколом, що спростило б візуалізацію результатів дослідження без використання транслюмінатора, спонукало нас винайти інший спосіб візуалізації.

У проаналізованих нами літературних джерелах були свідчення щодо застосування бромістого етидію або інтеркалюючого барвника SYBR Green I для візуалізації напрацювання ДНК за використання транслюмінатора. Проте не було даних щодо кількості барвника SYBR Green I або його концентрації. Нами було проведено дослідження з визначення кількості інтеркалюючого барвника та його концентрації, що дало б змогу безперешкодно спостерігати флуоресценцію у досліджуваних зразках за наявності ДНК після проведення ізотермічної ампліфікації. З метою визначення оптимального вмісту барвника SYBR Green I була сформована панель однакових позитивних зразків ДНК та зразків гетерологічних матриць, негативних щодо наявності ЦВС-II. В якості негативного контролю використовували бідистильовану воду. До позитивних зразків додавали 1X, 2X, 5X, 10X, 20X та 40X розчин барвнику SYBR Green I. Для візуалізації ми використовували портативне джерело ультрафіолетового випромінювання (ліхтарик для детекції біологічного матеріалу) на 51 світлодіод з поглинанням за довжини хвилі 395 нм.

Як видно на рис. 2, флуоресценцію можна було спостерігати за додавання до позитивного зразка 5X, 10X, 20X та 40X розчинів барвнику SYBR Green I з подальшим його опромінюванням за використання портативного джерела ультрафіолетового світла. Також було встановлено, що додавання інтеркалюючого барвника у такій кількості забезпечує тимчасову флуоресценцію позитивного зразка після опромінювання, що було видно неозброєним оком за умов денного світла.

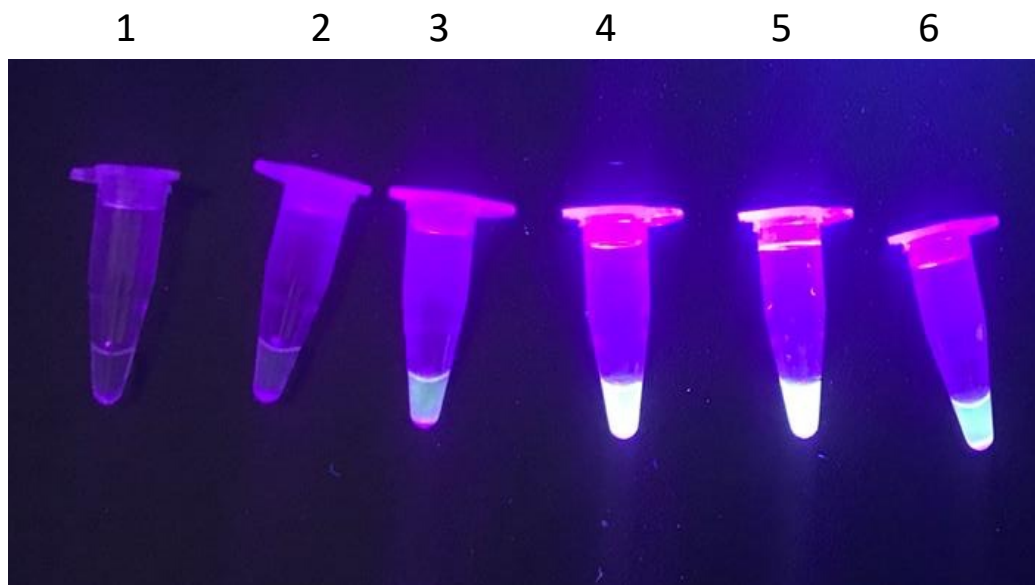


Рис. 2. Результати візуалізації продуктів ампліфікації шляхом детекції флуоресценції у УФ-світлі за допомогою портативного джерела ультрафіолетового випромінювання (довжина хвилі 395 нм). Позитивний щодо ДНК ЦВС-II зразок за додавання розчину барвнику SYBR Green I: 1 — 1X, 2 — 2X, 3 — 5X, 4 — 10X, 5 — 20X, 6 — 40X.

У зразках, що не містили напрацьованого продукту ампліфікації, та у негативному контролі за додавання 20X розчину інтеркалюючого барвника SYBR Green I флуоресценція не спостерігалась.

Висновки. Таким чином, нами було проведено адаптацію розробленого раніше методу ізотермічної ампліфікації для використання в польових умовах, що робить його придатним для застосування за відсутності будь-якого лабораторного спецустаткування. Розроблена на прикладі ідентифікації ЦВС-II методика ізотермічної ампліфікації є спрощеною технічно, не потребує використання спеціального лабораторного обладнання (центрифуги, ампліфікатора або транслюмінатора).

Перспективи використання отриманих результатів. Розроблена експрес-методика детекції генетичного матеріалу ЦВС-II може бути використана як сучасний інструмент молекулярно-генетичної діагностики в польових умовах за відсутності оснащеної лабораторії та належних умов роботи.

Список літератури

1. Opriessnig T., Karuppannan A. K., Castro A. M. M. G., Xiao C. T. Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. *Virus Research*. 2020. Vol. 286. P. 198044. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198044>.
2. VanderWaal K., Deen J. Global trends in infectious diseases of swine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018. Vol. 115, iss. 45. P. 11495–11500. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1806068115>.
3. Герілович А. П. Експериментальне і теоретичне обґрунтування та розробка засобів епізоотологічного моніторингу, діагностики вірусних хвороб тварин та молекулярно-генетичного типування їх збудників (ортоміксо-, параміксо-, герпес-, цирко- та пестівірусна інфекції): дис. ... д-ра вет. наук. Харків: ННЦ «ІЕКВМ», 2011. 440 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0511U000408>.
4. Chae C. Postweaning multisystemic wasting syndrome: A review of aetiology, diagnosis and pathology. *Veterinary Journal*. 2004. Vol. 168, iss. 1. P. 41–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.09.018>.
5. Harding J. The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Veterinary Microbiology*. 2004. Vol. 98, iss. 2. P. 131–135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.10.013>.
6. Segalés J., Allan G. M., Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews*. 2005. Vol. 6, iss. 2. P. 119–142. DOI: <https://doi.org/10.1079/AHR2005106>.
7. Герілович А. П., Стегний Б. Т. Разработка системы индикации и дифференциации цирковирусов свиней методом полимеразной цепной реакции. *Молекулярная диагностика — 2007*: сб. тр. 6-й Всерос. науч.-практ. конф. (Москва, 28–30 ноября 2007 г.). Москва, 2007. Т. 2. С. 14–15.
8. Ситюк М. П., Музикіна Л. М., Галка І. В., Нічик С. А., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Розробка та валідація методики полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу для детекції ДНК цирковірусу свиней другого типу. *Ветеринарна біотехнологія*: бюл. 2014. Вип. 25. С. 101–107. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2014_25_31.
9. Allan G. M., Ellis J. A. Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2000. Vol. 12, iss. 1. P. 3–14. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870001200102>.
10. Рудова Н. Г., Солодянкин О. С., Герілович А. П. Детекція генетичного матеріалу цирковірусу свиней II типу методом петлевої ізотермальної ампліфікації (LAMP). *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2019. Вип. 105. С. 20–25. DOI: <https://doi.org/10.36016/VM-2019-105-4>.
11. Gerilovych A., Rekotchuk M., Konstantynovska O., Rudova N., Hrek I., Poteiko P., Solodianskin O. Development of the improved express method of DNA extraction. *Fourth Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium (Kyiv, Ukraine, 20–24 May 2019)*: abstr. Kyiv, 2019. P. 414.
12. Boom R., Sol C. J., Salimans M. M., Jansen C. L., Wertheim-van Dillen P. M., van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990. Vol. 28, iss. 3. P. 495–503. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.28.3.495-503.1990>.

EXPRESS METHOD FOR DETECTION OF GENETIC MATERIAL OF PCV-II IN FIELD CONDITIONS

**Rudova N. G., Isakov M. M., Lymanska O. Yu.,
Bolotin V. I., Solodianskin O. S., Gerilovych A. P.**

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

The purpose of this work was to adapt the method for detection of genetic material of PCV-II developed by us for use in the field conditions in the absence of laboratory equipment and proper working conditions. To develop the technique, a liver sample from a pig was used, which was characterized as positive for the presence of PCV-II genetic material. Nucleic acid extraction was performed using an express method of our own modification. The isothermal amplification reaction was carried out using reagents manufactured by Thermo Fisher Scientific (Germany) and BioLabs (Great Britain) following the manufacturers' recommendations when using the PCV-F3, PCV-B3, PCV-FIP, PCV-BIP primer systems. A WB-4MS water bath (Biosan, Latvia) and a 380 ml thermal mug (ZIZ, Ukraine) were used for isothermal amplification. Freeze dryer ALPHA 1-2 LD plus manufactured by Christ (Germany) was used for lyophilization of the reaction mixture. The reaction temperature was monitored using a TTK-M thermometer (PJSC "Sklopyrad", Ukraine), the temperature was recorded using a SterilDisk logger (Tecnosoft, Italy). Gel Doc XR+ transilluminator (Bio-Rad, USA), SYBR Green I intercalating dye produced by Invitrogen (USA) and portable ultraviolet light source (YATO, Poland) were used to visualize and control the results of isothermal amplification. The previously developed isothermal amplification method was adapted for use in field conditions on the example of the identification of PCV-II. The developed method of isothermal amplification is technically simplified and does not require the use of special laboratory equipment

Key words: DNA, PCR, thermal mug, UV flashlight

3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98:578.825.15:636.22/.28(4)

DOI [10.36016/VM-2021-107-7](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-7)

ДЕЯКІ АСПЕКТИ ЕФЕКТИВНОГО КОНТРОЛЮ ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В КРАЇНАХ ЄВРОПИ

Корнейков О. М., Стегній Б. Т., Олешко А. Ю., Бородай Н. І., Коровін І. В.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: korneykov@ukr.net***Головко В. О., Северин Р. В., Аль Джабарі Мунір***Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна*

Наведено дані щодо епізоотичної ситуації з інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби в країнах Європейського континенту. Більшість країн, які є членами Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин, запровадили на своїй території протиепізоотичні заходи, які передбачають спостереження, звітування, моніторинг або скринінг, а також контроль переміщення тварин усередині країни та запобіжні заходи на кордоні. Відзначено, що стале благополуччя щодо захворювання можливе лише за умов впровадження обов'язкових заходів контролю на державному рівні, які базуються на видаленні інфікованих епізоотичним штамом вірусу серопозитивних тварин зі стад одночасно з або без використання вакцин. У більшості країн Європейського Союзу запроваджені програми ерадикації вірусу ІРТ, які базуються на стратегіях дослідження та видалення, а також диференціації вакцинованих від інфікованих тварин. Як показав досвід скандинавських країн найбільш ефективною є схема ерадикації збудника ІРТ шляхом забою інфікованих тварин, але це є можливим лише за умов невисокого рівня інфікованості поголів'я. Найбільш економічно доцільною стратегією контролю ІРТ у стадах з високою інфікованістю тварин є використання маркерних вакцин, з подальшою диференціацією вакцинованих від інфікованих тварин і вилученням зі стада останніх. При досягненні низького рівня серопозитивності стада доцільним є впровадження стратегії виявлення та забою

Ключові слова: епізоотична ситуація, ерадикація, маркерні вакцини

Процеси реформування тваринництва, які найбільш інтенсивно почалися в останні 15 років і тривають по сьогоднішній день, супроводжуються як позитивними, так і низкою негативних змін. По перше, недосконалість законодавчої бази та механізмів ринкових відносин у сільському господарстві України призвела до значного руйнування вітчизняної селекційної бази у скотарстві. Це, у свою чергу, призвело до втрати племінного високопродуктивного поголів'я великої рогатої худоби (ВРХ) і завою племінних тварин, а також генетичного матеріалу (сперма) із закордонних країн. Зважаючи на те, що імпортовані тварини відрізняються від місцевих епізоотичним статусом і ветеринарним супроводом, що характеризується значним переліком засобів специфічної профілактики, більшість з яких вміщувало живі атенуовані штами збудників, а також більш високим технологічним навантаженням, усе це стало однією з причин зміни вірус-бактеріального фону в скотарських господарствах України та збільшенню кількості інфекційних хвороб, які спричиняють як гострі, так і хронічні форми респіраторних інфекцій у ВРХ. Як наслідок — збільшення економічних втрат за рахунок зниження продуктивності корів і недоотримання молодняка.

Наслідком усіх цих процесів стало неконтрольоване використання засобів специфічної профілактики захворювань, які ще більше ускладнили контролювання тих чи інших вірусних інфекцій. Одним з найбільш поширених захворювань ВРХ в Україні, спроби контролю якого безуспішно проводяться в останні роки, є інфекційний ринотрахеїт (ІРТ) великої рогатої худоби (ВРХ) — актуальна проблема в світі, яка обмежує торгівлю тваринами та їхніми генетичними ресурсами.

Уперше вірус інфекційного ринотрахеїту (Bovine herpesvirus type 1, BHV-1) великої рогатої худоби був описаний в 1950-х роках, і з того часу займає провідне місце серед етіологічних чинників вірусних пневмоентеритів домашніх і диких жуйних [1–3]. Збудник ринотрахеїту — ДНК-вірус родини *Herpesviridae* підродини *Alphaherpesvirinae* [4, 5]. На основі геномного аналізу та вірусних пептидних моделей вірусу було встановлено наявність у вірусу кількох підтипів, таких як BHV-1.1, BHV-1.2 та BHV-1.3, однак усі підтипи збудника мають антигенну однорідність [6]. Значна частка економічних втрат з причини циркуляції вірусу в стаді ВРХ відбувається за рахунок зниження продуктивності тварин, розвитку респіраторних і гінекологічних захворювань, витрат на лікування, профілактики, а також недоотриманні молодняку за рахунок абортів, мертвонародженості, вибраковки та загибелі телят [1, 7]. Герпесвірус першого типу найчастіше проявляється в генітальній та респіраторній формах. Так, BHV-1 першого підтипу спричиняє респіраторну форму, збудник другого підтипу виявляється за генітальної форми, а вірус третього підтипу ізолювали від мертвих телят з ознаками енцефаліту [8]. Слід диференціювати клінічні ознаки інфекційного ринотрахеїту ВРХ від захворювання тварин, етіологічним агентом якого є BHV-4, який було виявлено в 1970-х роках та який, крім іншого, спричиняв дерматити, лихоманки та геморагічний синдром [9], що пізніше в своїх дослідженнях підтвердили Bellino et al. [10].

Зважаючи на те, що всі засоби контролю інфекційного ринотрахеїту ґрунтуються на своєчасній діагностиці, розробка специфічних, швидких і чутливих методів індикації та ідентифікації збудників мають першочергове значення. Зазвичай, для ретроспективної діагностики інфекційного ринотрахеїту використовують серологічні тести, спрямовані на виявлення специфічних антитіл до вірусу, як то реакція нейтралізації (РН), реакція непрямой гемаглютинації (РНГА) та метод імуноферментного аналізу (ІФА). Визначення рівня специфічних антитіл, окрім встановлення епізоотичного статусу тварин щодо герпесвірусної інфекції ВРХ, дозволяє визначити рівень напруженості специфічної імунної відповіді у тварин та ефективність проведеного щеплення [11]. З метою безпосередньої індикації та ідентифікації збудника ІРТ у біологічному матеріалі від ВРХ найбільшого поширення в лабораторній практиці набули реакція імунофлуоресценції (РІФ) та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) [12].

Проте, незважаючи на всі засоби своєчасної діагностики та протидії виникнення осередків інфекційного ринотрахеїту в країнах з розвинутою галуззю скотарства, нові випадки виявлення серопозитивних тварин постійно реєструвались, а погіршення епізоотичної ситуації не припинялось [13]. Спроби контролю інфекційного ринотрахеїту за допомогою використання засобів специфічної профілактики дозволили дещо стабілізувати епізоотичну ситуацію та зменшити негативний економічний вплив від циркуляції збудника ІРТ у стадах. Однак безконтрольне використання вакцин в господарствах ще більше ускладнило ідентифікацію BHV-1 у тварин за допомогою серологічних тестів та унеможливило ерадикацію збудника серед сприятливого поголів'я. Усе це потребувало втручання державних інституцій у вирішення проблеми ІРТ та розробки чітких програм по забезпеченню сталого благополуччя щодо захворювання у скотарстві.

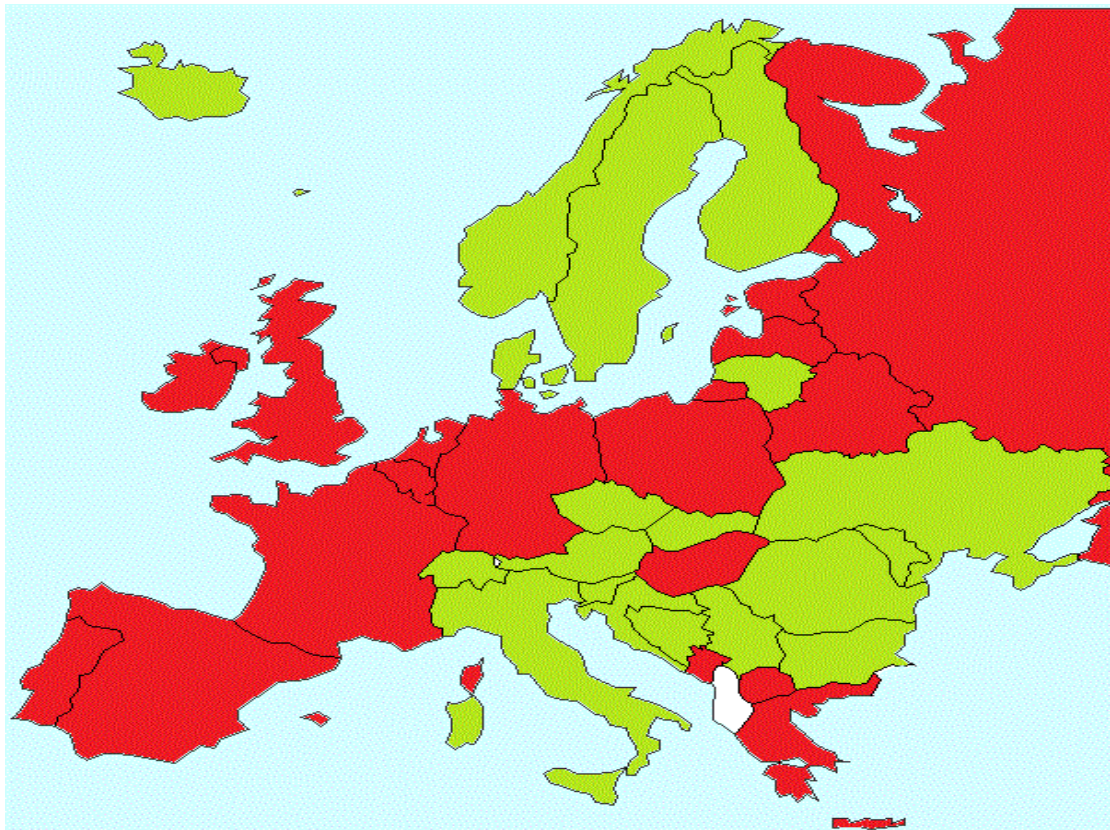
Перші спроби створення програм контролю та викорінення герпесвірусу 1 типу були проведені в 80-х роках ХХ століття на території Європейського Союзу, завдяки чому шість країн отримали статус вільних від інфекційного ринотрахеїту. Однак не всі держави впровадили на своїй території обов'язкові програми з викорінення герпесвірусної інфекції ВРХ, деякі лише ініціювали схеми добровільного викорінення, які є недостатньо ефективними, деякі використовують схеми, що базуються на діагностиці та видаленні інфікованих тварин, а деякі додатково використовують для контролю захворювання маркерні вакцини [14]. Наявність значної кількості методологічних підходів щодо недопущення поширення та контролювання ІРТ в різних країнах потребують їх узагальнення та визначення ефективності, з метою використання здобутків благополучних із захворювання країн та гармонізації розроблених систем контролю з нормативно-правовою базою України.

Метою роботи було вивчення поширення інфекційного ринотрахеїту ВРХ та особливостей заходів щодо його контролю, затверджених в державних програмах країн Європейського Союзу.

Матеріали та методи. З метою визначення поширення BHV-1 та ефективності впроваджених заходів контролю було проаналізовано данні Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин (МЕБ) [2], продовольчої і сільськогосподарської організації ООН (ФАО) та

національних баз даних з безпеки та якості тваринницької продукції неблагополучних щодо інфекційного ринотрахеїту країн. За допомогою наукометричних баз даних (PubMed, Google Scholar, Scopus та ін.) піддано аналізу матеріали та публікації, що пов'язані з проблемою герпесвірусу 1 типу великої рогатої худоби, а саме з його розповсюдженням та заходами боротьби, що впроваджені в неблагополучних щодо захворювання країнах.

Результати досліджень. За даними Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин станом на початок 2020 року на території Європейського континенту захворювання тварин на інфекційний ринотрахеїт зареєстровано у 20 країнах [15], а саме в Андоррі, Білорусі, Бельгії, Естонії, Франції, Німеччині, Греції, Угорщині, Ірландії, Латвії, Мальті, Чорногорії, Нідерландах, Північній Македонії, Польщі, Португалії, Російській Федерації, Іспанії та Великобританії (рис.).



- неблагополучні щодо інфекційного ринотрахеїту ВРХ країни
- вільні від інфекційного ринотрахеїту ВРХ країни
- інформація відсутня

Рис. Епізоотична ситуація щодо інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби в Європі станом на 2020 рік (за даними МЕБ).

Слід зазначити, що певний перелік країн Європейського континенту є офіційно благополучними щодо інфекційного ринотрахеїту за даними Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин, однак за інформацією літературних джерел захворювання серед тварин реєструється серед тварин. Так, за даними Invasive Species Compendium (CABI) [16] неблагополучними щодо ІРТ за цей період, окрім перелічених країн, є Болгарія, Литва, Сербія, Словаччина. Щодо України, яка офіційно є благополучною щодо інфекційного ринотрахеїту, випадки захворювання серед великої рогатої худоби зустрічаються в усіх регіонах країни [17, 18].

Зважаючи на неоднозначну епізоотичну ситуацію щодо інфекційного ринотрахеїту в Європі нами було проведено аналіз заходів, які використовуються у тваринництві для контролю захворювання. Було визначено, що в країнах Європейського Союзу контроль вірусних пневмоентеритів здійснюється здебільше на законодавчому рівні (державні програми контролю).

Слід зазначити, що країни Європи здебільшого звітуються до Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин щодо впроваджених протиепізоотичних заходів, які передбачають спостереження, звітування, моніторинг або скринінг, а також контроль переміщення тварин всередині країни та запобіжні заходи на кордоні (табл.).

Таблиця — Заходи щодо боротьби з інфекційним ринотрахеїтом ВРХ, запроваджені в країнах Європи (данні МЕБ, 2020 р.)

Країна	Протиєпізоотичні заходи												
	Повідомлення про хворобу	Загальне спостереження	Моніторинг	Контроль пересування всередині країни	Офіційна вакцинація	Запобіжні заходи на кордонах	Скринінг	Вибірковий забій та утилізація	Забій	Стемпінг-аут	Цілеспрямоване спостереження	Заборона вакцинації	Зонування
Україна	✓	✓		✓		✓					✓		
Франція	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				✓		✓
Іспанія	✓	✓		✓		✓	✓				✓		
Швеція	✓	✓	✓			✓	✓			✓		✓	
Норвегія	✓	✓		✓		✓		✓			✓	✓	
Німеччина	✓	✓				✓		✓	✓		✓		
Фінляндія	✓	✓				✓	✓	✓			✓	✓	
Польща	✓		✓								✓		
Італія	✓	✓		✓			✓						
Велика Британія		✓				✓	✓						
Румунія	✓	✓	✓	✓		✓							✓
Білорусь	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
Болгарія	✓												
Угорщина				✓			✓					✓	
Португалія			✓										
Австрія	✓	✓		✓		✓		✓				✓	
Чехія	✓			✓	✓	✓		✓			✓		
Сербія	✓					✓					✓		
Ірландія		✓											
Литва	✓	✓			✓								
Латвія	✓					✓					✓		
Хорватія	✓	✓											
Боснія і Герцеговина	✓					✓							
Словаччина	✓			✓	✓		✓						
Естонія			✓	✓	✓	✓							
Данія	✓	✓				✓					✓	✓	
Нідерланди			✓	✓	✓		✓						
Швейцарія	✓	✓		✓				✓		✓	✓	✓	
Молдова			✓				✓						
Росія	✓	✓			✓	✓			✓		✓		✓
Бельгія	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				✓		
П. Македонія	✓	✓		✓		✓							
Словенія	✓			✓									
Чорногорія	✓												

Щодо більш радикальних заходів, які передбачають проведення політики «стемпінг-аут» у неблагополучних стадах, то офіційно в МЄБ з цього приводу надходить інформація лише зі Швеції та Швейцарії. Стосовно заходів, які передбачають вибіркового забій та утилізацію інфікованих тварин, то вони проводяться у Норвегії, Німеччині, Фінляндії, Австрії, Чехії та Швейцарії. Загалом, більш радикальні заходи боротьби з ІРТ притаманні державам з високорозвиненим скотарством і рівнем економічного росту — країнам ЄС. У питаннях використання вакцин для контролю у стадах захворювання на ІРТ ВРХ у протиепізоотичних заходах країн Європейського континенту не має однаковості. Слід лише зазначити, що деякі країни (Швеція, Норвегія, Фінляндія, Угорщина, Австрія, Данія та Швейцарія) на офіційному рівні заборонили використання на своїй території засобів специфічної профілактики для контролю захворювання у стадах ВРХ. Тоді як деякі країни (Франція, Білорусь, Чехія, Литва, Словаччина, Естонія, Нідерланди, Росія та Бельгія), навпаки, використовують вакцинацію як ключовий елемент контролю захворювання на своїй території. Загалом, стандартні вакцини на основі живих атенуованих чи інактивованих штамів вірусу ще використовуються під час реалізації означених програм в країнах Європи, однак їхня частка кожного року знижується. На теперішній час у затверджених програмах контролю ІРТ зростає актуальність маркерних вакцин, які дозволяють розрізнити заражених від вакцинованих тварин в межах стад [16, 19, 20].

Як видно з представлених вище даних в країнах Європейського континенту немає однаковості щодо шляхів ерадикації збудника ІРТ в стадах ВРХ на своїх територіях, що пов'язано з відмінністю епізоотичної ситуації та рівню економічного розвитку в кожній з них. Однак, найбільш ефективними з існуючих програм контролю ІРТ, які впроваджені або на добровільній або на обов'язковій основі, є ті, які базуються на видаленні інфікованих епізоотичними штамами вірусу серопозитивних тварин зі стад одночасно з/без використання вакцин.

За даними Raaperi et al. [14] усі основні підходи до контролю ІРТ ВРХ можна згрупувати за стратегіями, що становлять основу тієї чи іншої схеми боротьби із захворюванням в країнах Європи:

- стратегія тестування та забою;
- стратегія диференціації вакцинованих від інфікованих тварин.

Стратегія тестування та забою серопозитивних тварин без використання вакцинації є найуспішнішим методом знищення BHV-1. Однак її можна застосовувати лише у тому випадку, якщо рівень серопозитивності стада відносно низький. Для ліквідації BHV-1 рекомендується створення племінного поголів'я, вільного від інфекційного ринотрахеїту та проводити роботу шляхом поступового видалення серопозитивних носіїв ІРТ та заміни їх серонегативним потомством. Стратегію «тестування та забою» успішно реалізували у Фінляндії, Швеції, Норвегії, Данії, Австрії та Швейцарії [2, 14].

Стратегія диференціації вакцинованих від інфікованих тварин передбачає використання маркерних вакцин, найбільш популярними серед яких є ті, в яких відсутній глікопротеїн gE, разом з подальшим видаленням gE-серопозитивних тварин. Означений методичний підхід є найбільш доцільним та є альтернативною стратегією в країнах з високою серопозитивністю ВРХ до BHV-1 [12–14, 21, 22]. Коли чисельність gE-позитивного стада у промисловому скотарстві зменшується до 5 %, решту позитивних тварин можна вибраковувати шляхом «тестування та забою» [23]. Загалом, маркерні вакцини дозволяють за допомогою серологічного методу (ELISA) диференціювати інфікованих від вакцинованих тварин на основі відсутності одного або кількох глікопротеїнів у препараті, які присутні у епізоотичних штаммах BHV-1 [24]. Слід зазначити, що після інфікування природним шляхом імунна відповідь у тварин характеризується утворенням антитіл проти специфічного білка (gE) та може бути виявлена за допомогою призначеного для цього специфічного діагностичного тесту (gE ELISA). З метою профілактики інфекційного ринотрахеїту за допомогою маркерних вакцин використовують препарати як на основі живого, так і інактивованого вірусу у своєму складі [25]. Однак використання у стадах ВРХ вакцин, до складу яких входять живі штами вірусу ІРТ, навіть і позбавлені специфічного білка, може призвести до виникнення рекомбінації з епізоотичним збудником та, як наслідок, призвести до поширення вірусу в стаді та ускладнення заходів контролю. Саме з метою уникнення хибнонегативного результату у щеплених маркерними вакцинами тварин у відповідності з Директивою ЄС (2004/558/ЄС, додаток III) передбачено

повторне серологічне дослідження сироватки крові від телиць і корів старше 9-місячного віку з інтервалом 5–7 місяців. Загалом, в країнах Європейського Союзу немає уніфікованої програми контролю IPT, у кожній державі використовується адаптовані заходи з ерадикації збудника у стадах ВРХ на своїй території.

Приклади ефективних схем боротьби з інфекційним ринотрахеїтом ВРХ. З 1997 року у Німеччині діє схема примусового викорінення IPT [26], схвалена Європейською комісією (EU Directive 64/432/EEC, Article 9), яка дозволяє державам встановлювати обмеження на ввезення худоби з країн або регіонів, неблагополучних щодо BHV-1, стадо походження тварини повинно бути «вільна від IPT», у країні походження повинен бути обов'язковий карантин, а тварини повинні бути перевірені перед вильотом. Загалом, у залежності від серопозитивності стад, у Німеччині діють дві стратегії боротьби з IPT. Перша, яка передбачає забій всіх інфікованих тварин та заборону вакцинації, впроваджується у стадах, на територіях і федеральних землях з невисоким рівнем інфікованості тварин. Друга, яка впроваджена в регіонах з високої серопозитивністю стад, передбачає використання маркерних вакцин (з відсутнім геном глікопротеїну (gE) та відбором gE-негативних тварин для подальшого комплектування стада [27].

Провінція Больцано в Італії, де діяли додаткові гарантії для виробників скотарської продукції вільна від інфекційного ринотрахеїту з 2000 року. Заходи, що були впроваджені, відрізнялися від тих, що застосовуються в Німеччині, заборонаю введення до стада вакцинованих тварин. Італійська провінція Тренто також застосувала програму ліквідації, затверджену Європейською комісією, у той час як інші регіони Італії використовували добровільні схеми ерадикації [28].

Програма обов'язкового викорінення IPT була розпочата в Нідерландах у 1998 році, проте початок її активного впровадження було відкладено до 1999 року. Зрештою, ця схема була ініційована на добровільній основі [22, 29]. У Бельгії після 5 років виконання добровільної програми з січня 2012 року програма викорінення IPT стала обов'язковою. В Іспанії тривають добровільні регіональні програми контролю BHV-1 у певних стадах. З 2001 року у Франції діє національна система нагляду та контролю за BHV-1, заснована на профілактиці та системі добровільної кваліфікації фермерів. Подібні програми діють в Угорщині [13] та Словаччині [30]. Крім того, згідно директиви Європейського союзу 92/65/EEC у цілях ерадикації збудника хвороби всі центри штучного запліднення мають бути вільними від BHV-1 з 1 січня 1999 року.

З 2005 року в Чеській Республіці діє програма знищення IPT з гарантіями, передбаченими статтею 9 директиви 64/432/EEC [14]. Означена програма оздоровлення стад ВРХ була обов'язковою для виконання та передбачала участь держави в матеріальних затратах фермерів на рівні 50 %. Основним шляхом подолання проблеми інфекційного ринотрахеїту ВРХ в Чеській Республіці було застосування підходу, який передбачав ліквідацію інфікованих епізоотичним штамом вірусу тварин з одночасною вакцинацією всіх тварин маркерними вакцинами (містять вірус IPT з відсутнім геном глікопротеїну (gE)). У стадах ВРХ використовували виключно моновалентні маркерні вакцини. Щодо комбінованих препаратів, які вміщували в своєму складі вірус IPT, то вони із самого початку впровадження програми ліквідації захворювання були забороненими. На початку впровадження оздоровчих заходів допускалося використання як інактивованих, так і живих маркерних вакцин (у залежності від особливостей епізоотичного процесу у стадах ВРХ). Натомість, починаючи з 2010 року, з метою недопущення реверсії вакцинного атенуйованого вірусу IPT та можливої його рекомбінації з епізоотичним штамом збудника, використання живих маркерних вакцин в Чеській Республіці було заборонено. Наслідком впровадженої роботи було те, що к початку 2020 року на території держави не було жодної голови ВРХ, інфікованою вірусом IPT [31].

На прикладі Швейцарії було продемонстровано можливість викорінення IPT серед поголів'я ВРХ, що складається приблизно з 2 млн тварин протягом 5 років. Загальні витрати склали приблизно 110 мільйонів франків. Програма викорінення базувалася на: 1) щорічному серологічному обстеженні поголів'я ВРХ; 2) обмеженні торгівлі серопозитивними тваринами; 3) першим пріоритетом викорінення були ферми з племінними тваринами. Стада відгодівлі розглядалися як другий пріоритет; 4) поетапній елімінації 50 000 серопозитивних тварин. З огляду на єдиний європейський ринок з 1992 року, це стало перевагою для визначення європейської стратегії контролю IPT [2].

Робота з ерадикації збудника ІРТ серед поголів'я ВРХ у Фінляндії розпочата у 1978 р. та передбачала систематичне тестування тварин на наявність антитіл проти вірусу. Стадо, де реєстрували персистенцію вірусу ринотрахеїту, підпадало під обмежувальні заходи з боку офіційного муніципального ветлікаря. Рішення про впровадження обмежувальних заходів у стаді також могло базуватися на результатах щорічного нагляду. У всіх тварин у підозрілому стаді проводилися серологічні обстеження на наявність антитіл проти BHV-1. За умов отримання негативного результату обмеження знімали. У разі виявлення позитивних тварин, власник стада письмово повідомлявся про рішення вжити обмежувальні заходи, які передбачали:

- усі серопозитивні та клінічно хворі тварини повинні бути максимально ізольованими та утримуватися в окремому приміщенні;
- тварин можна перевозити з ферми лише на забій;
- використання сперми великої рогатої худоби зі стада та тварин для природного спаровування заборонялося;
- жодних обмежень щодо використання молока та його доставки до молочної ферми не встановлювали.

Обмежувальні заходи відмінялися лише після того, як серопозитивні тварини були вибракувані, а інші тварини двічі досліджені серологічно та мали негативний результат (через один місяць після вивозу серопозитивних тварин з господарства та через чотири та більше місяців після першого тесту). Втрати фермерів через забій тварин передбачалося частково покривати за державні кошти (75 % вартості тварини з вирахуванням забою) за умов рекомендації муніципальних і районних ветеринарів.

З 2015 року у Словенії впроваджено на добровільній основі програму щодо надання стадам ВРХ статусу «вільних від ІРТ». Цьому передувало широкомасштабні серологічні дослідження всього поголів'я на наявність антитіл до збудника у тварин. Зважаючи на те, що програма передбачає всі фінансові затрати по отриманню та підтримки означеного статусу покласти на власників тварин, її ефективність була на дуже низькому рівні — станом на 2020 рік на території Словенії є лише одне офіційно благополучне щодо ІРТ господарство [32].

Починаючи з 1996 року у Словаччині діяла добровільна програма з контролю ІРТ у стадах ВРХ. З кінця 2006 року виконання програми контролю захворювання стало законодавчо обов'язковим для всіх власників великої рогатої худоби. Серологічна ідентифікація інфікованих тварин проводиться за допомогою методу ІФА (звичайне) серед невакцинованих тварин та за допомогою gE тест-систем ІФА у вакцинованої маркерними вакцинами великої рогатої худоби. Ерадикація збудника заснована на вибракуванні інфікованих тварин за серопозитивності у стаді нижче 15 %. За умов серопозитивності вище 15 %, вибракування тварин проводиться на фоні застосування маркерної вакцини. Слід зазначити, що радикальний метод, який передбачає забій усіх тварин, застосовується за згодою власника, коли це доцільно, та використовується для дуже малих стад. Переміщення великої рогатої худоби знаходиться під суворим контролем з боку держави [33].

Висновки. 1. За офіційними даними Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин станом на 2020 рік на території Європейського континенту захворювання тварин на інфекційний ринотрахеїт зареєстровано у 20 країнах, хоча реальна епізоотична ситуація є дещо напруженішою.

2. Найбільш ефективною стратегією боротьби з інфекційним ринотрахеїтом ВРХ, яка дозволила забезпечити благополуччя стад ВРХ в скандинавських країнах, є забій та утилізація інфікованих тварин за результатами систематичних серологічних досліджень.

3. Найбільш економічно доцільною стратегією контролю ІРТ у стадах з високою інфікованістю тварин є використання маркерних вакцин з подальшою диференціацією вакцинованих від інфікованих тварин та вилученням зі стада останніх. У разі досягнення низького рівня серопозитивності стада доцільним є впровадження стратегії виявлення та забою.

4. Вибір конкретних методів ерадикації вірусу ІРТ у стадах ВРХ повинен спиратися на реальну епізоотичну ситуацію в них і потребує обов'язкової участі держави в їх реалізації.

5. Спалахи захворювання тварин на ІРТ, що виникають у країнах Європи, де впроваджено державні програми контролю, здебільшого виявляються на ранніх стадіях, що свідчить про ефективність впроваджених стратегій контролю.

Список літератури

1. Straub O. C. Infectious bovine rhinotracheitis virus. History and recent developments. *Developments in Biological Standardization*. 1975. Vol. 28. P. 530–533. PMID: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/165129>.
2. Ackermann M., Müller H. K., Bruckner L., Kihm U. Eradication of Infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. *Veterinary Microbiology*. 1990. Vol. 23, iss. 1–4. P. 365–370. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(90\)90168-u](https://doi.org/10.1016/0378-1135(90)90168-u).
3. Nuotio L., Neuvonen E., Hyytiäinen M. Epidemiology and eradication of Infectious bovine rhinotracheitis/Infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2007. Vol. 49, iss. 1. P. 3. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-3>.
4. Wyler R., Engels M., Schwyzer M. Infectious bovine rhinotracheitis / Vulvovaginitis (BHV1). In: Wittmann G., eds. *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses, and Pigs*. Developments in Veterinary Virology, Vol. 9. Boston, MA : Springer, 1989. P. 1–72. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1587-2_1.
5. Keuser V., Schynts F., Detry B., Collard A., Robert B., Vanderplasschen A., Pastoret P. P., Thiry E. Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004. Vol. 42, iss. 3. P. 1228–1235. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1228-1235.2004>.
6. Biswas S., Bandyopadhyay S., Dimri U., Patra P. H. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) — a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *The Veterinary Quarterly*. 2013. Vol. 33, iss. 2. P. 68–81. DOI: <https://doi.org/10.1080/01652176.2013.799301>.
7. Straub O. C. Advances in BHV1 (IBR) research. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 2001. Vol. 108, iss. 10. P. 419–422. PMID: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11721589>.
8. 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>.
9. Arede D., Chigerwe M., Crossley B. Bovine herpes virus type-4 infection among postpartum dairy cows in California: risk factors and phylogenetic analysis. *Epidemiology and Infection*. 2018. Vol. 146, iss. 7. P. 904–912. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268818000791>.
10. Bellino C., Iussich S., Biasato I., Peletto S., Caruso C., Gianella P., Cagnasso A., D'Angelo A. Potential pathogenetic role of bovine herpesvirus 4 in two dairy cows with dermatitis-pyrexia-hemorrhagic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015. Vol. 53, iss. 8. P. 2763–2767. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00717-15>.
11. Kramps J. A., Quak S., Weerdmeester K., van Oirschot J. T. Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. *Veterinary Microbiology*. 1993. Vol. 35, iss. 1–2. P. 11–21. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(93\)90112-k](https://doi.org/10.1016/0378-1135(93)90112-k).
12. Jacevičius E., Šalomska A., Milius J., Petkevičius S., Mockeliūnas R., Jacevičienė I., Lelešius R., Pridotkas G. (2008). Prevalence and control measures of Infectious bovine rhinotracheitis in Lithuania. *Veterinārmedicīnas Raksti 2008: Animals. Health. Food Hygiene: proceedings of international scientific conference, Jelgava, Latvia, 14th November 2008. Jelgava, 2008. P. 49–53. URL: <https://lufb.ltu.lv/conference/animal-health-food/2008/Animal-health-foodhygiene-proceedings-2008-49-53.pdf>.*
13. Ackermann M., Engels M. Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*. 2006. Vol. 113, iss. 3–4. P. 293–302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.043>.
14. 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>.
15. The World Organization for Animal Health (OIE). Infectious bovine rhinotracheitis/Infectious pustular vulvovaginitis. *OIE World Animal Health Information System (OIE-WAHIS)*. URL: <https://wahis.oie.int/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>. (Accessed: 19.11.2020).
16. Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Report on Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) marker vaccines and the accompanying tests. Adopted 25 October 2000. European Commission, Sanco/C3/AH/R20/2000. Brussels, Belgium : European Commission, 2000. 36 pp. URL: https://food.ec.europa.eu/system/files/2020-12/sci-com_scah_out49_en.pdf.
17. Прохорятова О. В., Корнейков О. М., Кольчик О. В., Ісаков М. М. 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.
18. Корнейков О. М., Прохорятова О. В., Кольчик О. В., Олешко А. Ю., Бородай Н. І., Аль Джабарі М. Ефективність різних підходів профілактики та боротьби з інфекційними пневмоентеритами ВРХ. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2019. Вип. 105. С. 46–53. DOI: <https://doi.org/10.36016/VM-2019-105-9>.
19. Weiss M., Anzillero D., Martins M., Weiblen R., Flores E. F. Safety and immunogenicity of a glycoprotein E gene-deleted bovine herpesvirus 1 strain as a candidate vaccine strain. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Vol. 36, iss. 11. P. 1067–1074. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2016001100002>.
20. Romera S. A., Puntel M., Quattrocchi V., Del Médico Zajac P., Zamorano P., Blanco Viera J., Carrillo C., Chowdhury S., Borca M. V., Sadir A. M. (2014). Protection induced by a glycoprotein E-deleted bovine herpesvirus type 1 marker strain used either as an inactivated or live attenuated vaccine in cattle. *BMC Veterinary Research*. 2014. Vol. 10. P. 8. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-8>.
21. Strube W., Auer S., Block W., Heinen E., Kretzdorn D., Rodenbach C., Schmeer N. A gE deleted infectious bovine rhinotracheitis marker vaccine for use in improved bovine herpesvirus 1 control programs. *Veterinary Microbiology*. 1996. Vol. 53, iss. 1–2. P. 181–189. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(96\)01246-1](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(96)01246-1).

22. Vonk Noordegraaf A., Labrovic A., Frankena K., Pfeiffer D. U., Nielen M. Simulated hazards of losing infection-free status in a Dutch BHV1 model. *Preventive Veterinary Medicine*. 2004. Vol. 62, iss. 1. P. 51–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.09.001>.
23. Vonk Noordegraaf A., Buijtsels J. A., Dijkhuizen A. A., Franken P., Stegeman J. A., Verhoeff J. An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of Infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*. 1998. Vol. 36, iss. 3. P. 219–238. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(98\)00081-6](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(98)00081-6).
24. Van Oirschot J. T., Kaashoek M. J., Maris-Veldhuis M. A., Weerdmeester K., Rijsewijk F. A. An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. *Journal of Virological Methods*. 1997. Vol. 67, iss. 1. P. 23–34. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(97\)00073-6](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(97)00073-6).
25. Van Drunen Littel-van den Hurk S. Rationale and perspectives on the success of vaccination against bovine herpesvirus-1. *Veterinary Microbiology*. 2006. Vol. 113, iss. 3–4. P. 275–282. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.002>.
26. Trapp S., König P., Beer M. (2003). Konventionelle und markierte BHV-1-Impfstoffe in Deutschland: Eine kurze Übersicht. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2003. Bd. 116, Hf. 5–6. S. 208–215. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12784554>.
27. Böttcher J., Boje J., Janowetz B., Alex M., König P., Hagg M., Götz F., Renner K., Otterbein C., Mages J., Meier N., Wittkowski G. Epidemiologically non-feasible singleton reactors at the final stage of BoHV1 eradication: serological evidence of BoHV2 cross-reactivity. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 159, iss. 3–4. P. 282–290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.017>.
28. Nardelli S., Farina G., Lucchini R., Valorz C., Moresco A., Dal Zotto R., Costanzi C. Dynamics of infection and immunity in a dairy cattle population undergoing an eradication programme for Infectious bovine rhinotracheitis (IBR). *Preventive Veterinary Medicine*. 2008. Vol. 85, iss. 1–2. P. 68–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.01.001>.
29. Graat E. A., de Jong M. C., Frankena K., Franken P. Modelling the effect of surveillance programmes on spread of bovine herpesvirus 1 between certified cattle herds. *Veterinary Microbiology*. 2001. Vol. 79, iss. 3. P. 193–208. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00356-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00356-4).
30. Makoschey B., Bielsa J. M. Europe's progress in IBR virus eradication. *International Dairy Topics*. 2007. Vol. 6, iss. 2. P. 13–14. URL: <http://www.positiveaction.info/pdfs/articles/dt6.2p13.pdf>.
31. Pospisil R., Krocil O., Kunz P. (2019). The analysis of damping of the Bovine Rhinotracheitis National Recovery Program in the Czech Republic between 2006–2016. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2019. Vol. 25, iss. 2. P. 396–402. URL: <https://www.agrojournal.org/25/02-25.pdf>.
32. Hostnik P., Černe D., Mrkun J., Starič J., Toplak I. Review of infections with bovine herpesvirus 1 in Slovenia. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8. P. 676549. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.676549>.
33. Mandelik R., Bires J., Ozsvári L., Hodnik J. J., Vilcek S. Infectious Bovine Rhinotracheitis Control Program in Slovakia. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8. P. 675521. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.675521>.

SOME ASPECTS OF EFFECTIVE CONTROL OF BOVINE INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS IN EUROPEAN COUNTRIES

Kornieikov O. M., Stegnyy B. T., Oleshko A. Yu., Borodai N. I., Korovin I. V.

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

Golovko V. O., Severyn R. V., Al Jabari Munir

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

Data on the epizootic situation concerning bovine infectious rhinotracheitis in the countries of the European continent are presented. Most of the countries that are members of the World Organization for Animal Health have implemented anti-epidemic measures on their territory, which include observation, reporting, monitoring or screening, as well as control of the movement of animals within the country and precautionary measures at the border. It has been noted that permanent safety in relation to the disease is possible only under the conditions of implementation of mandatory control measures at the state level, which are based on the removal of seropositive animals infected with an epizootic strain of the virus from herds simultaneously with or without the use of vaccines. In most countries of the European Union, IRT virus eradication programs have been implemented, which are based on research and removal strategies, as well as differentiation of vaccinated from infected animals. As the experience of the Scandinavian countries has shown, the most effective scheme is the eradication of the IRT pathogen by slaughtering infected animals, but this is only possible under conditions of a low level of livestock infection. The most economically feasible strategy for controlling IRT in herds with high levels of infection is the use of marker vaccines, followed by differentiation of vaccinated animals from infected ones and removal of the latter from the herd. When a low level of herd seropositivity is reached, it is advisable to implement a detection and slaughter strategy

Keywords: epizootic situation, eradication, marker vaccines

МАЛОВИВЧЕНІ ВІРУСНІ МІНОРНІ ІНФЕКЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ. 1. БИЧАЧИЙ ІМУНОДЕФІЦИТ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Горбатенко С. К., Кузнецова О. В., Мягких Н. В., Корнєйкова О. Б.

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

У статті наведено матеріали літературних повідомлень стосовно впливу мінорних інфекцій, а саме лейкозу, бичачого імунодефіциту та спумавірусної інфекції великої рогатої худоби на імунний статус тварин, антигенну спорідненість збудників захворювань. Акцент зроблено на біологічних властивостях збудника бичачого імунодефіциту, розповсюдженні та патогенезі, діагностиці захворювання

Ключові слова: *Lentivirus, розповсюдження, патогенез, діагностика*

Серед вірусних захворювань великої рогатої худоби особливе місце займають так звані мінорні, або повільні інфекції — лейкоз (bovine leukemia), спумавірусна інфекція (bovine foamy virus) та бичачий імунодефіцит (bovine immunodeficiency). Ці захворювання характеризуються тривалим інкубаційним періодом і латентним перебігом. Обумовлюючи імуносупресивний вплив на організм інфікованих тварин і зниження резистентності поголів'я, наявність цих захворювань у стаді знижує ефективність засобів специфічної профілактики, рівень продуктивності та якості тваринницької продукції. Збудниками цих захворювань є BLV — bovine leukemia virus (лейкоз), BIV — bovine immunodeficiency virus (бичачий імунодефіцит) і BFV — bovine foamy virus (спумавірусна інфекція). Усі вони є антигенно спорідненими ретровірусами [1–4]. Матеріали світової наукової літератури свідчать про значне поширення мінорних інфекцій серед тварин у розвинених країнах світу.

В умовах України детально вивчено епізоотичні особливості лейкозу великої рогатої худоби — на цій підставі розроблено вітчизняні засоби ретроспективної діагностики, упроваджено заходи з ерадикації захворювання, завдяки цьому чисельність неблагополучних пунктів у останні роки зведена до мінімуму. А ось стосовно інших мінорних захворювань, а саме спумавірусної інфекції та імунодефіциту великої рогатої худоби, варто зауважити на цілковиту необізнаність у питаннях наявності та розповсюдження збудників цих захворювань у вітчизняних тваринницьких господарствах, навіть серед імпортованого поголів'я, тому авторами повідомлення ставиться **завдання** зробити аналіз стану вивчення поширення вищезначених захворювань у тваринницьких господарствах країн світу і на цій підставі загострити увагу на необхідності впровадження діагностичних і профілактичних заходів у вітчизняному тваринництві. Перше повідомлення стосується імунодефіциту великої рогатої худоби.

Вірус імунодефіциту великої рогатої худоби є лентивірусом, його персистенція в організмі інфікованих тварин спричинює збільшення лімфатичних вузлів, лімфоцитоз, ураження центральної нервової системи, прогресуючу слабкість і виснаження тварин [5–7]. Крім того, є свідчення, що BIV може призвести до імуносупресії, що спонукає прояв вторинних бактеріальних інфекцій і розвиток енцефаліту [8–11]. Відомо, що BIV-інфекція може обумовлювати екзальтацію інфекційного процесу, спричиненого вірусом лейкозу великої рогатої худоби [12–14].

Вірус бичачого імунодефіциту вперше виділено з крові корови, де мав місце підвищений лімфоцитоз, прогресуюча слабкість і виснаження, М. Ван дер Маатен зі співавт. у 1972 р. [15]. Важливо відзначити, що родина Retroviridae, до якої віднесено BIV, включає збудників імунодефіциту людини, кішок, мавп, вірус інфекційної анемії коней, віруси артриту-енцефаліту кіз, вісна-меді овець. Особливу увагу до вірусу бичачого імунодефіциту викликає філогенетична спорідненість з вірусом імунодефіциту людини-1 (ВІЛ-1), що дає можливість використовувати BIV як модель, придатну для вивчення імунодефіцитних станів як тварин, так і людей [7, 11, 16, 17].

Інфікованих вірусом бичачого імунодефіциту тварин реєструють у багатьох країнах світу, причому, нерідко виявляють асоційовану інфікованість за участю як збудника інфекційного імунодефіциту, так і лейкозу великої рогатої худоби [10, 14, 16, 18]. У результаті серологічних досліджень великої рогатої худоби в різних країнах світу на імунодефіцит, за матеріалами окремих наукових публікацій, виявлено значну поширеність захворювання. Так, у США серопозитивність спостерігали на рівні 4 %, у Нідерландах — 1,4 %, у Канаді — 5,5 %, у Німеччині — 6,6 %, у Франції — 4 % [11, 14, 18, 19]. Імунодефіцит великої рогатої худоби встановлено у Великобританії, Швеції, Коста-Ріці, Венесуелі, Новій Зеландії та Австралії [20–23]. Частка серопозитивної худоби у більшості випадків становила 1–7 %. Однак, в окремих стадах із хронічним перебігом захворювання (стаціонарність епізоотії) рівень інфікованості сягав до 50 %. Зі 64 % серопозитивних до BIV-збудника тварин у 74 % особин виявлено прояв лімфосаркоми, лімфаденопатії та інші порушення органів ретикулоендотеліальної системи [24–26].

За матеріалами окремих авторів, інфекційний імунодефіцит ВРХ реєструють в Японії, Франції, Канаді, Ірані, Аргентині, Німеччині, Нідерландах, Італії, Бразилії, Туреччині, Камбоджі, Пакистані, Австралії, причому, рівень інфікованості від 1 до 50 % і більше [3, 23, 27].

Захворювання реєструють також у тваринницьких господарствах Росії. К. С. Краснікова й О. С. Ларіонова [28] наголошують, що найбільшим рівнем інфікованості характеризується Краснодарський край, Тюменська, Самарська, Псковська, Новгородська, Володимирська та Ростовська області, Республіка Марій-Ел. Установлено, що стадний приріст рівня інфікованості складає у середньому 2,5 % на рік.

Вірус імунодефіциту, як і вірус лейкозу великої рогатої худоби, може тривалий час не проявляти себе в інфікованому організмі, обумовлюючи стримання розвитку інфекційного процесу [6, 10, 21]. При цьому інфікована BIV тварина є активним джерелом інфекції, збудник передається від інфікованого до інтактного організму перинатально — від матері до плоду (від 10 до 50 % випадків відповідно) та постнатально — з інфікованими лімфоцитами (аліментарно, контактено, трансмісивно) [6, 10, 14]. Установлено, що для зараження достатньо 0.5 мкл крові. У разі порушення санітарних правил захворювання може поширюватись ятрогенним шляхом [2, 13]. Визначено, що збудник зберігається у спермі за кріоконсервування та існує можливість зараження корів від інфікованих биків під час штучного запліднення. За використання ПЛР установлена наявність збудника в лімфоцитах крові та молока, що доводить можливість інфікування інтактних особин секретами молочної залози. Вірус виділяли з моноклеарних клітин периферичної крові інфікованих тварин через 9 діб після зараження. Методом ПЛР вірус знаходили у биків починаючи з 9-ї і до 98-ї доби після інокуляції генетичного матеріалу [7]. Вивчали можливість вертикального шляху інфікування — трансплацентарну передачу збудника встановлено у 6 телят з 22 (27 %). Вертикальний шлях передачі збудника фіксували у стадах великої рогатої худоби, де серопозитивність була на рівні 17–36 % [7, 11, 26].

BIV має найбільш складну організацію генома серед лентівірусів з декількома генами, що беруть участь у регуляції експресії генів. Молекулярне клонування та секвенування провірусів з вірус-інфікованих клітин було використано для повної генетичної карти збудника [5, 22, 29]. Доведено складну антигенну структуру вірусу — у серії дослідів спостерігається імунна відповідь до окремих фракцій на інокуляцію BIV як у тварин, яким властивий істотний перебіг захворювання, так і у експериментально інфікованих лабораторних тварин [7, 13, 22]. В одному з таких досліджень вірусспецифічні антитіла проти білка р26 було виявлено в організмі телят уже через 2 тижні після інокуляції генетичного матеріалу — останні зберігалися в організмі інфікованих тварин упродовж 2–2,5 років [4, 9, 25]. За допомогою вестерн-блотингу встановлено, що першою відповіддю на інокуляцію генетичного матеріалу були сироваткові антитіла проти білка р26, за якими чергувалися gr110 (поверхнева частина оболонки збудника), р55 (поліпротеїн попередника gag-pol), gr42 (TM, або трансмембранна частина глікопротеїдної оболонки), р18 (MA, або матрична частина gag) та р13 (NC, або нуклеокапсидна частина gag) [10, 19, 22]. Зроблено висновок, що р26 є найбільш імунодомінантним білком збудника бичачого імунодефіциту і в експериментально інфікованих телят, як уже зазначалось, антитіла виявляються вже через 2 тижні після інокуляції генетичного матеріалу, зберігаючись упродовж 2–2,5 років [14, 18, 21]. В інших випадках спостерігалось зниження титру антитіл уже через 1,5 роки після експериментального зараження. Усупереч цьому антитіла до білка TM, що

кодують env, виявляються пізніше, ніж до білка p26 і зберігаються протягом 3,5–4 років в організмі інфікованих тварин [4, 11, 18].

Відзначається, що ізоляція вірусу від істотно інфікованих тварин є досить складною задачею — з літературних джерел відомо лише про 4 успішних виділення. Усі чотири ізоляти репродукували на культурі клітин бичачої селезінки плода, клітинах легень плода BPH та ембріональних клітинах ембріона кроля [3, 7, 20].

Стосовно патогенезу захворювання акцентується на властивості лентивірусу інфікувати клітини імунної системи, у першу чергу моноцити, макрофаги та лімфоцити *in vivo*. Тропізм збудника *in vitro* достатньо широкий: BIV реплікується у фібробластоподібних клітинах і, у більшості випадків, є цитопатичним, спричинюючи синцитію та загибель клітин [12, 20, 24]. Дослідження свідчать про розвиток імунodefіцитного стану і, на цьому фоні, високий рівень захворюваності поголів'я вторинними бактеріальними інфекціями, хронічним ураженням суглобів, менінгоенцефалітами [13, 18, 26]. Установлено взаємозв'язок з рівнем серопозитивності серед молочних корів. Визначено, що 29 % корів 3–4-річного віку стада, що обстежувалось, були BIV-позитивними. Причому, кількість таких тварин збільшувалася з віком і сягала 50 % у групах корів 5-річного віку, 60 % — 6-річного, 70 % і більше — у тварин віком 7–10 років. При цьому у серопозитивних тварин 3–4-річного віку загальна чисельність лімфоцитів була у нормі та з віком знижувалася. Відмічали підвищення чисельності лімфоцитів і зниження частки моноцитів. Звертала увагу незначна зміна чисельності моноцитів і зниження їхніх функціональних властивостей у перші 2 роки після експериментального зараження. Результати цих досліджень підтверджують гіпотезу про те, що BIV здатний змінювати функцію моноцитів *in vitro* за умов його достатньої концентрації, що підтверджує здатність BIV та інших лентивірусів інфікувати макрофаги. Установлено тенденцію до пригнічення їхньої фагоцитарної активності через 4–8 місяців після введення антигену [2, 8, 11, 21].

Діагностика BIV-інфекції базується на використанні молекулярно-генетичних (ПЛР) і серологічних (непрямий ІФА) методів на підставі рекомбінантного антигену капсидного білка [1, 7, 24, 25]. Використовується імуноблотінг, реакція імуофлуоресценції. Варто зауважити, що на відміну від інших представників лентивірусів, BIV-антиген не взаємодіє зі специфічними антитілами в реакції преципітації [19, 23].

Таким чином, у сучасних дослідженнях щодо бичачого імунodefіциту слід виділяти два напрями. Намірами за першим напрямом є вивчення молекулярної біології вірусу з метою встановлення впливу окремих вірусних генів у механізмі його реплікації. Окремим питанням другого напрямку є намір вивчення BIV-інфекції стосовно її можливої ролі у прояві імунної дисфункції в організмі інфікованих тварин. Адже вплив інфекції, що вивчається, на імунну систему визначений на обмеженому рівні через недостатню чисельність ізолятів вірусу, що можна використовувати (вище наводились лише чотири вдалі спроби отримати ізольований вірус) [20, 25]. Головні дослідження BIV спрямовано на виявлення частин геному збудника, які відрізняються від його більш патогенних, проте тісно пов'язаних лентивірусів. Установлено, що BIV трансдукує значну чисельність клітин різних організмів, що, таким чином, може використовуватись як модель для вивчення властивостей лентивірусів взагалі [11, 13, 30, 31]. Негативний вплив збудника на стан імунної системи інфікованих тварин спонукає науковців до вивчення патогенетичних властивостей та механізмів інфекційного процесу з наміром зменшення ризиків рівня інфікованості поголів'я та економічних збитків унаслідок неблагополуччя стада.

Висновком наведеної у повідомленні інформації є необхідність вивчення наявності та поширеності імунодефіциту великої рогатої худоби серед вітчизняного поголів'я, проведення відповідних наукових досліджень у напрямку розробки та впровадження засобів молекулярно-генетичної та ретроспективної діагностики і, як наслідок, законодавчих положень у питанні профілактично-оздоровчих заходів з метою підвищення резистентності поголів'я, продуктивності стада та якості тваринницької продукції.

Список літератури

1. Abed Y., Archambault D. A viral transmembrane recombinant protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine immunodeficiency virus infection. *Journal of Virological Methods*. 2000. Vol. 85, iss. 1–2. P. 109–116. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(99\)00161-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(99)00161-5).

2. McNab W. B., Jacobs R. M., Smith H. E. A serological survey for bovine immunodeficiency-like virus in Ontario dairy cattle and associations between test results, production records and management practices. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1994. Vol. 58, iss. 1. P. 36–41. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1263657>.
3. Murphy F. A., Gibbs E. P. J., Horzinek M. C., Studdert M. J. Bovine leukemia. *Veterinary Virology*. 3rd ed. San Diego, USA : Academic Press, 1999. P. 382–383. ISBN: 9780125113403.
4. Polack B., Schwartz I., Berthelemy M., Belloc C., Manet G., Vuillaume A., Baron T., Gonda M. A., Lévy D. Serologic evidence for bovine immunodeficiency virus infection in France. *Veterinary Microbiology*. 1996. Vol. 48, iss. 1–2. P. 165–173. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(95\)00138-7](https://doi.org/10.1016/0378-1135(95)00138-7).
5. Albernaz T. T., Leite R. C., Reis J. K., de Sousa Rodrigues A. P., da Cunha Kassar T., Resende C. F., de Oliveira C. H., Silva R. D., Salvarani F. M., Barbosa J. D. Molecular detection of bovine immunodeficiency virus in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Amazon region, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*. 2015. Vol. 47, iss. 8. P. 1625–1628. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0884-6>.
6. Acaite J., Tamosiunas V., Lukauskas K., Milius J., Pieskus J. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. *Preventive Veterinary Medicine*. 2007. Vol. 82, iss. 1–2. P. 83–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.05.010>.
7. Orr K. A., O'Reilly K. L., Scholl D. T. Estimation of sensitivity and specificity of two diagnostics tests for bovine immunodeficiency virus using Bayesian techniques. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003. Vol. 61, iss. 2. P. 79–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.08.001>.
8. Agnarsdóttir G., Thorsteinsdóttir H., Óskarsson T., Matthíasdóttir S., St Haflidadóttir B., Andrússon Ó. S., Andrúsdóttir V. The long terminal repeat is a determinant of cell tropism of maedi-visna virus. *The Journal of General Virology*. 2000. Vol. 81, iss. 8. P. 1901–1905. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-8-1901>.
9. Radostits O. M., Gay C. C., Hinchcliff K. W., Constable P. D. Enzootic bovine leukosis (Bovine lymphosarcoma). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. 10th ed. Philadelphia, USA : WB Saunders Co, 2007. P. 1209–1221.
10. Moriuchi H., Moriuchi M., Fauci A. S. Factors secreted by human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-infected cells can enhance or inhibit replication of HIV-1 in HTLV-I-uninfected cells: implications for *in vivo* coinfection with HTLV-I and HIV-1. *The Journal of Experimental Medicine*. 1998. Vol. 187, iss. 10. P. 1689–1697. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.187.10.1689>.
11. St.Cyr Coats K., Pruett S. B., Nash J. W., Cooper C. R. Bovine immunodeficiency virus: incidence of infection in Mississippi dairy cattle. *Veterinary Microbiology*. 1994. Vol. 42, iss. 2–3. P. 181–189. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90017-5).
12. Abed Y., St-Laurent G., Zhang H., Jacobs R. M., Archambault D. Development of a Western blot assay for detection of bovine immunodeficiency-like virus using capsid and transmembrane envelope proteins expressed from recombinant baculovirus. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1999. Vol. 6, iss. 2. P. 168–172. DOI: <https://doi.org/10.1128/CDLI.6.2.168-172.1999>.
13. Meas S., Usui T., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Veterinary Microbiology*. 2002. Vol. 84, iss. 3. P. 275–282. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00458-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00458-8).
14. Snider T. G., Hoyt P. G., Jenny B. F., Coats K. S., Luther D. G., Storts R. W., Battles J. K., Gonda M. A. Natural and experimental bovine immunodeficiency virus infection in cattle. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1997. Vol. 13, iss. 1. P. 151–176. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30370-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30370-4).
15. Van der Maaten M. J., Boothe A. D., Seger C. L. Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. *Journal of the National Cancer Institute*. 1972. Vol. 49, iss. 6. P. 1649–1657. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/49.6.1649>.
16. Amborski G. F., Lo J. L., Seger C. L. Serological detection of multiple retroviral infections in cattle: bovine leukemia virus, bovine syncytial virus and bovine visna virus. *Veterinary Microbiology*. 1989. Vol. 20, iss. 3. P. 247–253. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(89\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(89)90048-5).
17. Meas S., Ruas J., Farias N. A., Usui T., Teraoka Y., Mulenga A., Chang K. S., Masuda A., Madruga C. R., Ohashi K., Onuma M. Seroprevalence and molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in Brazilian cattle. *The Japanese Journal of Veterinary Research*. 2002. Vol. 50, iss. 1. P. 9–16. DOI: <https://doi.org/10.14943/jjvr.50.1.9>.
18. Jacobs R. M., Jefferson B. J., Suarez D. L. Prevalence of bovine immunodeficiency-like virus in bulls as determined by serology and proviral detection. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1998. Vol. 62, iss. 3. P. 231–233. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189481>.
19. Straub O. C., Lévy D. Bovine immunodeficiency virus and analogies with human immunodeficiency virus. *Leukemia*. 1999. Vol. 13, suppl. 1. P. S106–S109. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401324>.
20. Athanassiou Z., Patora K., Dias R. L., Moehle K., Robinson J. A., Varani G. Structure-guided peptidomimetic design leads to nanomolar beta-hairpin inhibitors of the Tat-TAR interaction of bovine immunodeficiency virus. *Biochemistry*. 2007. Vol. 46, iss. 3. P. 741–751. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi0619371>.
21. Pinheiro de Oliveira T. F., Fonseca A. A. Jr, Camargos M. F., de Oliveira A. M., Pinto Cottorello A. C., Souza A. dos R., de Almeida I. G., Heinemann M. B. Detection of contaminants in cell cultures, sera and trypsin. *Biologicals*. 2013. Vol. 41, iss. 6. P. 407–414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2013.08.005>.
22. Nuotio L., Rusanen H., Sihvonen L., Neuvonen E. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003. Vol. 59, iss. 1–2. P. 43–49. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00057-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00057-6).
23. Meas S., Kabeya H., Yoshihara S., Ohashi K., Matsuki S., Mikami Y., Sugimoto C., Onuma M. Seroprevalence and field isolation of bovine immunodeficiency virus. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 1998. Vol. 60, iss. 11. P. 1195–1202. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.60.1195>.

24. Trono K. G., Pérez-Filgueira D. M., Duffy S., Borca M. V., Carrillo C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Veterinary Microbiology*. 2001. Vol. 83, iss. 3. P. 235–248. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(01\)00420-5](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00420-5).
25. Brujeni G. N., Poorbazargani T. T., Nadin-Davis S., Toloie M., Barjesteh N. Bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus and their mixed infection in Iranian Holstein cattle. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2010. Vol. 4, iss. 9. P. 576–579. DOI: <https://doi.org/10.3855/jidc.711>.
26. Schwartz I., Lévy D. Pathobiology of bovine leukemia virus. *Veterinary Research*. 1994. Vol. 25, iss. 6. P. 521–536.
27. Cavarani S., Donofrio G., Chiocco D., Foni E., Martelli P., Allegri G., Cabassi C. S., De Iaco B., Flammini C. F. Seroprevalence to bovine immunodeficiency virus and lack of association with leukocyte counts in Italian dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. 1998. Vol. 37, iss. 1–4. P. 147–157. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(98\)00099-3](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(98)00099-3).
28. Красникова Е. С., Ларионова О. С. К вопросу о биологической безопасности продукции, полученной от животных, инфицированных вирусами энзоотического лейкоза и иммунодефицита КРС. *Вестник ветеринарии*. 2014. № 2(69). С. 85–87. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21604694>.
29. Patil S. S., Pattnaik B., Mishra N., Banumathi N., Dubey R., Pradhan H. H. Detection of proviral genomic sequence of bovine immunodeficiency virus in Indian cattle. *Current Science*. 2003. Vol. 84, iss. 4. P. 563–566. URL: <https://www.currentscience.ac.in/Volumes/84/04/0563.pdf>.
30. Scobie L., Venables C., Sayers A. R., Weightman S., Jarrett O. Prevalence of bovine immunodeficiency virus infection in cattle in Great Britain. *The Veterinary Record*. 2001. Vol. 149, iss. 15. P. 459–460. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.149.15.459>.
31. Scobie L., Venables C., Hughes K., Dawson M., Jarrett O. The antibody response of cattle infected with bovine immunodeficiency virus to peptides of the viral transmembrane protein. *The Journal of General Virology*. 1999. Vol. 80, iss. 1. P. 237–243. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-1-237>.

INSUFFICIENTLY EXPLORED MINOR VIRAL INFECTIONS OF CATTLE.

1. BOVINE IMMUNODEFICIENCY (LITERATURE REVIEW)

Gorbatenko S. K., Kuznetsova O. V., Miahkykh N. V., Kornieikova O. B.

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

The article contains materials from literary reports on the influence of minor infections, namely bovine leukemia, bovine immunodeficiency and bovine spumavirus infection on the immune status of animals, antigenic affinity of pathogens. Emphasis is placed on the biological properties of the causative agent of bovine immunodeficiency, its spread and pathogenesis, and disease diagnosis

Keywords: *Lentivirus, spread, pathogenesis, diagnostics*

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

УДК 619:615.9:636.085.34:579.843.4.083.13

DOI [10.36016/VM-2021-107-9](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-9)

ВАЛІДАЦІЯ ЕКСПРЕС-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОРМІВ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM*

Курбацька О. В., Оробченко О. Л.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: olimp988429@ukr.net

У статті наведені результати вивчення валідаційних характеристик експрес-методики визначення загальної токсичності кормів з використанням біолоюмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*. У роботі використовували ліофілізовану культуру *Ph. phosphoreum* (штам IMB B-7071; Sq3) та культуру *Colpoda steinii* суху для еколого-токсикологічних досліджень об'єктів зовнішнього середовища, продуктів тваринництва та птахівництва (РП № АВ-02438-01-11, виробництва ТОВ «Відродження», м. Одеса). Вимірювання інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій проводили на люмінометрі EMILITE-1003A. Для кількісної оцінки впливу на люмінесценцію бактерій використовували індекс токсичності, щоб зробити висновок про ступінь токсичності зразка. Критерієм оцінки токсичності досліджуваних зразків кормів під час тестування *Colpoda steinii* була рухливість інфузорій. Валідаційні параметри експрес-методики визначення загальної токсичності з використанням фотолюмінесцентних мікроорганізмів *Ph. phosphoreum* встановлювали згідно з ISO 16140:2003 «Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods (IDT)». При цьому проводили порівняльне дослідження альтернативного (визначення загальної токсичності кормів з використанням *Ph. phosphoreum*) і стандартного методу (визначення токсичності з використанням інфузорій *Colpoda steinii* згідно з ДСТУ 3570-97 «Зерно фуражне, продукти його переробки, комбікорми. Методи визначення токсичності»). Тест-об'єктом була зерносуміш (ячмінь–пшениця 50:50), токсикантом — мікотоксин зеараленон. Під час проведення валідації методики встановлювали наступні параметри: відносна специфічність, відносна точність, контроль внутрішньолaborаторної відтворюваності, стабільність люмінесценції, лінійність, збіжність, межа детектування та межа визначення методу. Установлено, що методика є специфічною, точною, лінійною, відтворюваною. Оптимальні умови та термін зберігання для *Ph. phosphoreum*: у пробірках на щільному поживному середовищі за температури 4 °С зі щомісячним пересівом протягом 7 місяців; а оптимальні умови та термін культивування перед дослідженням: у пробірках на рідкому поживному середовищі за температури 26 °С через 24 год після висіву. Межа детектування методики (за зеараленоном) становить 0,125 мкг/см³, а межа визначення — 0,25 мг/кг корму

Ключові слова: експрес-метод, зеараленон, *Colpoda steinii*

Оцінка токсичності забруднюючих речовин є невід'ємною частиною контролю якості та безпечності кормів для тварин. На сьогодні під час визначення токсичності тієї чи іншої речовини все частіше звертаються до альтернативних методів, що передбачає використання в токсикологічному експерименті культур клітин, найпростіших і фотобактерій. Ефект біолоюмінесценції бактерій дозволяє використовувати їх як заміну лабораторним тваринам або як додатковий тест для визначення впливу токсикантів [1–3].

Використання фотобактерій у токсикологічному експерименті значно знижує вартість виконання робіт; дозволяє скоротити використання тварин в експерименті та має ряд переваг

перед іншими альтернативними методами: простота та швидкість постановки, висока чутливість та відтворюваність [4–6].

Висока чутливість бактерій, що світяться, та швидкість їхньої реакції на дію різноманітних за своєю природою токсикантів або сукупності токсикантів дозволяють використовувати фотобактерії як тест-об'єкти для дослідження кормів для тварин на токсичність.

Метою наших досліджень було встановити валідаційні параметри розробленої експрес-методики визначення загальної токсичності кормів з використанням біolumінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Матеріали та методи. У роботі використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам IMB B-7071; Sq3) та культуру *Colpoda steinii* суху для еколого-токсикологічних досліджень об'єктів зовнішнього середовища, продуктів тваринництва та птахівництва (РП № АВ-02438-01-11, виробництва ТОВ «Відродження», м. Одеса).

Під час розробки методики використовували стандартні мікробіологічні методи (висів культур фотобактерій на поживні середовища, підрахунок кількості мікробних клітин тощо), фізико-хімічні, статистичні. Культуру *Colpoda steinii* використовували згідно листівки-вкладки.

Культивування фотобактерій під час дослідів здійснювали у термостаті за температури 26–28 °С у пробірках на рідкому та щільному поживному середовищах, розроблених у лабораторії токсикологічного моніторингу ННЦ «ІЕКВМ»; *Colpoda steinii* — за температури 28 °С.

Вимірювання інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій проводили на люмінометрі EMILITE-1003A. Для кількісної оцінки впливу на люмінесценцію бактерій використовували індекс токсичності (Т), щоб зробити висновок про ступінь токсичності зразка. Критерієм оцінки токсичності досліджуваних зразків кормів за тестування *Colpoda steinii* була рухливість інфузорій.

Валідаційні параметри експрес-методики визначення загальної токсичності з використанням фотолюмінесцентних мікроорганізмів *Ph. phosphoreum* встановлювали згідно з ISO 16140:2003 «Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods (IDT)». При цьому проводили порівняльне дослідження альтернативного (визначення загальної токсичності кормів з використанням *Ph. phosphoreum*) та стандартного методу (визначення токсичності з використанням інфузорії *Colpoda Steinii* згідно з ДСТУ 3570-97 «Зерно фуражне, продукти його переробки, комбікорми. Методи визначення токсичності»). Тест-об'єктом була зерносуміш (ячмінь–пшениця 50:50), токсикантом — мікотоксин зеараленон.

Під час проведення валідації методики встановлювали наступні параметри: відносна специфічність, відносна точність, контроль внутрішньолабораторної відтворюваності, стабільність люмінесценції, лінійність, збіжність, межа детектування та межа визначення методу.

Кількісна оцінка показників тест-реакції передається у вигляді безрозмірної величини — індексу токсичності (Т), що дорівнює співвідношенню за формулою:

$$T = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100$$

де: I_0 та I відповідно інтенсивність світіння контролю й дослідів за фіксованого часу експозиції зразка, що досліджується, з тест-об'єктом.

Методика допускає три граничних рівня індексу токсичності (табл. 1).

Таблиця 1 — Класифікація токсичності речовини за величиною Т

Групи	Значення Т	Висновок про ступінь токсичності
1	< 20	граничний ступінь токсичності
2	20–50	зразок токсичний
3	≥ 50	зразок сильно токсичний

Результати досліджень. З метою вирішення поставленої задачі вивчено валідаційний параметр **відносна специфічність**, який характеризує відповідну методику за однозначним визначенням токсичності кормів, як альтернативним, так і стандартним методом, шляхом

дослідження у 10 повтореннях зразків токсичного й нетоксичного кормів відповідно з використанням фотобактерій та інфузорій. Установлено, що тестування нетоксичних і токсичних зразків корму в 10 повтореннях як за стандартною, так і розробленою (альтернативною) методиками давали негативний результат під час визначення токсичності корму без внесення токсиканта і позитивний — за тестування токсичного (з внесенням токсиканта) корму, тобто розроблена методика є специфічною.

Проведено визначення параметру **відносна точність**, який характеризує ступінь відповідності між результатом, отриманим стандартним методом, та результатом, отриманим альтернативним методом, який встановили шляхом дослідження 10 ідентичних токсичних і нетоксичних зразків корму. Установлено, що при порівнянні нового методу з розробленим довірчий інтервал містив 0: для нетоксичного зразку від 1,6704 до – 0,5904; для токсичного — від – 1,7067 до – 10,4933, що свідчить про точність розробленої методики.

Визначення **стабільності люмінесценції** під час зберігання/культивування визначали шляхом вимірювання інтенсивності світіння в залежності від умов і термінів зберігання, часу початку культивування 12–48 год та температури 18–30 °С. Установлено, що під час зберігання *Ph. phosphoreum* за температури 4 °С зі щомісячним пересівом інтенсивність світіння була стабільною протягом 7 місяців (про що свідчить вірогідне зниження інтенсивності люмінесценції на 8-й місяць досліджень у 1,3 раза відносно початку експерименту). Тоді як за температури зберігання 26 °С зі щотижневим пересівом інтенсивність світіння була стабільною лише 3 місяці, про що свідчило вірогідне зниження інтенсивності люмінесценції, починаючи з 4-го місяця досліджень на 2,1, 2,1, 2,5, 5,9 і 38,7 % на 4-й, 5-й, 6-й, 7-й і 8-й місяці досліджень відповідно (рис. 1).

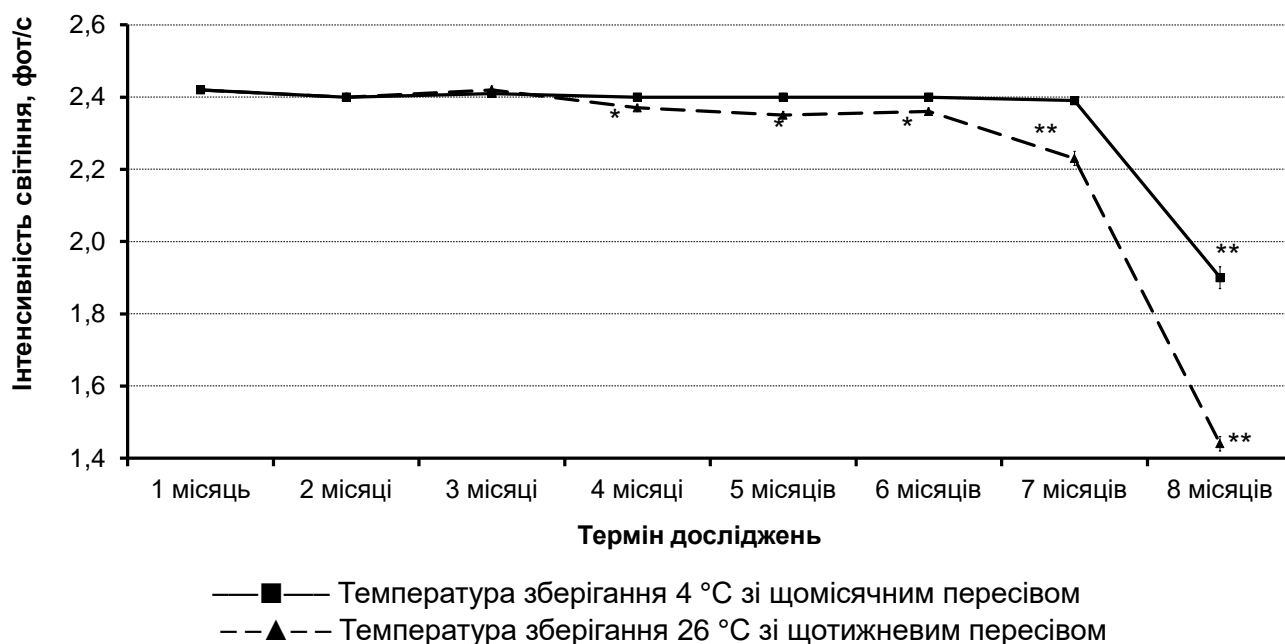


Рис. 1. Залежність інтенсивності світіння *Photobacterium phosphoreum* від умов зберігання ($M \pm m$, $n = 10$): * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ відносно початку експерименту.

Під час культивування *Ph. phosphoreum* за температури 18 °С максимальну інтенсивність світіння встановлено на 24-ту годину, що у 1,3 раза вірогідно перевищувало показник 12-годинного культивування, на 36-ту та 48-му годину культивування інтенсивність світіння знижувалася в 1,2 і 5,7 раза відповідно ($p < 0,001$) (рис. 2).

За температури культивування 26 °С спостерігали аналогічну динаміку інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum*: вірогідне перевищення показника 12-годинного культивування становило 1,2 раза через 24 год культивування, а потім знижувалося в 1,2 і 6,3 раза відповідно на 36-ту і 48-му години. Проте інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* у цій серії була вищою ($p < 0,001$) відносно серії культивування за температури 18 °С, про що свідчить підвищення показника в 1,3, 1,2 і 1,3 раза відповідно на 12-ту, 24-ту і 36-ту години культивування, а на 48-му годину перевищення було невірогідним (рис. 2).

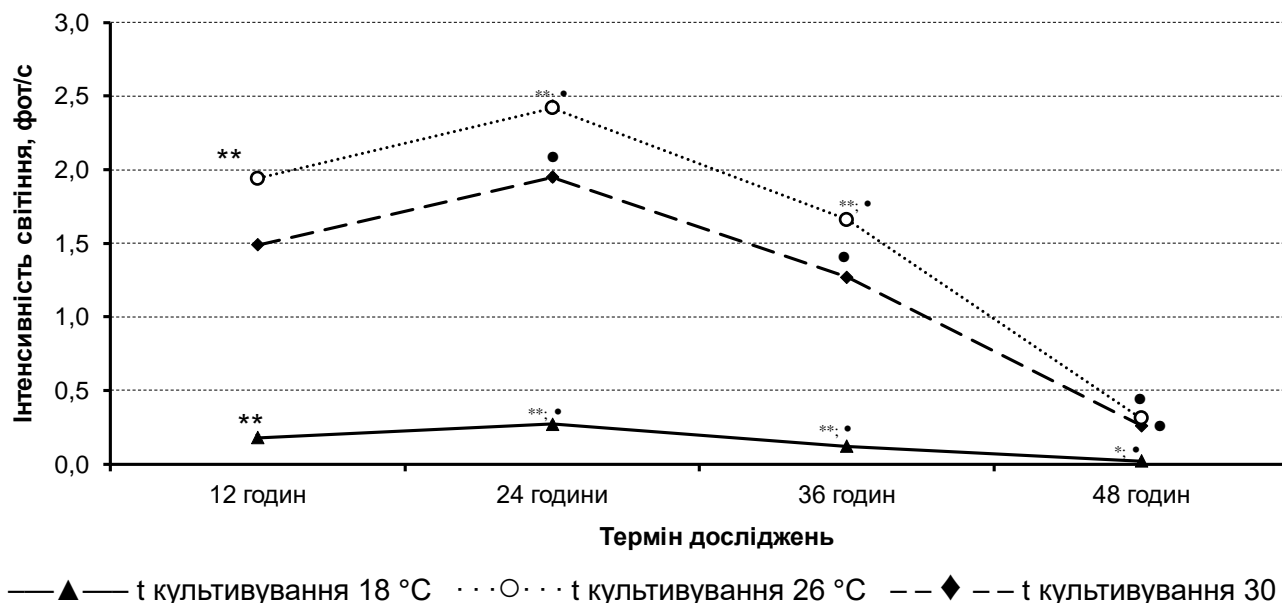


Рис. 2. Залежність інтенсивності світіння *Photobacterium phosphoreum* від умов культивування ($M \pm m$, $n = 10$): * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$ відносно температури культивування 18 °C; • — $p < 0,001$ відносно 12 год.

За температури культивування 30 °C інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* була дуже низькою, про що свідчило вірогідне зниження показників відносно серії культивування за температури 18 °C відносно початку дослідження на всіх термінах досліджень у 8,3, 7,2, 10,6 і 13,0 раза. Хоча динаміка світіння не відрізнялася від досліджуваних серій за 18 і 26 °C: вірогідне перевищення на 24-ту годину (1,5 раза), а потім зниження в 1,5 раза на 36-ту і в 9 разів на 48-му години (рис. 2).

Отже, оптимальні умови та термін зберігання для *Ph. phosphoreum*: у пробірках на щільному поживному середовищі за температури 4 °C зі щомісячним пересівом протягом 7 місяців, а оптимальні умови та термін культивування перед дослідженням: у пробірках на рідкому поживному середовищі за температури 26 °C через 24 год після висіву.

Контроль внутрішньолабораторної відтворюваності здійснювали шляхом повторних досліджень впливу слаботоксичних кормів на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* за різних умов: різні оператори, режими екстракції проб і температура культивування. Під час досліджень не встановлено вірогідних відхилень між показниками світіння усіх трьох серій досліджень, а стандартне відхилення різниць між серіями становить 0,035.

Для вивчення параметру **лінійність** досліджували вплив на люмінесценцію проб кормів з різним рівнем токсиканта за однакових умов. Оскільки, під час валідації біологічних методів не завжди можна встановити чіткі показники лінійності через нестандартність фактору відгуку (ISO 16140:2003), то оцінку лінійності проводили за залежністю інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* від концентрації зеараленону в досліджуваній пробі. Установлено, що концентрації мікотоксину 0,05 і 0,075 мкг/см³ не призводили до пригнічення люмінесценції, що свідчить про відсутність токсичної дії, тоді як концентрації зеараленону 0,125, 0,175, 0,25 і 0,5 мкг/см³ спричиняли вірогідне зниження інтенсивності світіння на 10,3, 19,3, 25,9 і 37,4 % відповідно відносно концентрації 0,05 мкг/см³ (рис. 3). Методика є лінійною в діапазоні концентрацій зеараленону 0,075–0,5 мкг/см³, оскільки RSD відгуку приладу становить 17,48 %, що не перевищує норму (20 %).

Параметр **збіжність** з одного боку характеризує точність методики за її виконання в однакових умовах, а з іншого — відображає здатність аналітика в тих самих умовах надавати повторювані результати з незначним статистичним відхиленням. Для її визначення досліджували у 10 повтореннях вплив на люмінесценцію *Ph. phosphoreum* проб кормів з однаковим умістом токсиканта та без нього. У результаті чого встановлено показник RSD: для нетоксичного корму — 2,09 %, а для токсичного — 1,66 %, що входить у межі норми (не більше 5 %).

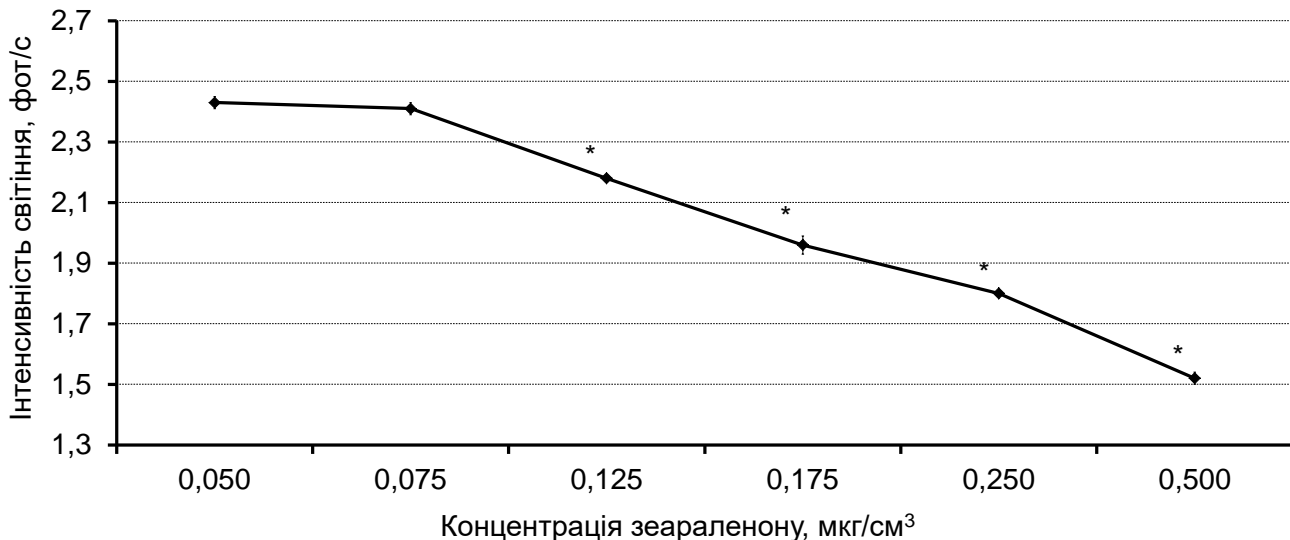


Рис. 3. Залежність інтенсивності світіння *Photobacterium phosphoreum* від концентрації зеараленону в пробі (лінійність методики) ($M \pm m$, $n = 6$): * — $p < 0,001$ відносно концентрації $0,05 \text{ мкг/см}^3$.

З метою встановлення **межі детектування** та **межі визначення** методу визначили найменшу кількість токсиканта у кормі (за умов штучного введення), вплив якого на люмінесценцію фотобактерій можна детектувати на приладі та за допомогою саме цього методу. За результатами досліджень межа детектування склала $0,125 \text{ мкг/см}^3$, а межа визначення — $0,25 \text{ мг/кг}$ корму.

Висновки. 1. Визначено валідаційні характеристики методики: вона є специфічною, точною, лінійною, відтворюваною.

2. Оптимальні умови та термін зберігання для *Ph. phosphoreum*: у пробірках на щільному поживному середовищі за температури 4°C зі щомісячним пересівом протягом 7 місяців, а оптимальні умови та термін культивування перед дослідженням: у пробірках на рідкому поживному середовищі за температури 26°C через 24 год після висіву.

3. Межа детектування методики за зеараленоном становить $0,125 \text{ мкг/см}^3$, а межа визначення — $0,25 \text{ мг/кг}$ корму.

Подяка. Автори виражають щире подяку кандидату біологічних наук, завідувачу Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології НАНУ Тетяні Миколаївні Головач за люб'язно наданий для дослідження штам *Photobacterium phosphoreum* (IMB B-7071; Sq3).

Список літератури

1. Сидашова С. А., Халак В. И. Экспресс-биотестирование — практический инструмент оптимизации кормления свиней. *Перспективы и достижения в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции*: сб. науч. статей по материалам междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию юбилею со дня основания ф-та технологич. менеджмента (зооинженерного) (Ставрополь, 16–17 апр. 2015 г.). Ставрополь : Ставропольский гос. аграр. ун-т, 2015. Т. 2. С. 93–99.
2. Исмаилов А. Д., Алексерова Л. Э. Фотобиосенсоры на основе светящихся бактерий (обзор). *Биохимия*. 2015. Т. 80, № 6. С. 867–881. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23764299>.
3. Кацев А. М., Абдураманова Э. Р., Стародуб Н. Ф. Имобилизация биoluminesцентных бактерий на неорганических носителях и оценка их применимости для биотестирования. *Biotechnology*. 2009. Т. 2, № 3. С. 74–79. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2009_2_3_9.
4. Woutersen M., Belkin S., Brouwer B., van Wezel A. P., Heringa M. B. Are luminescent bacteria suitable for online detection and monitoring of toxic compounds in drinking water and its sources? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 400, iss. 4. P. 915–929. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4372-6>.
5. Xu W., Jiang Z., Zhao Q., Zhang Z., Su H., Gao X., Ye Z. Acute toxicity assessment of explosive-contaminated soil extracting solution by luminescent bacteria assays. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2016. Vol. 23, iss. 22. P. 22803–22809. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7492-5>.
6. Yin J., Li X., Zhou C., Zhang Y. Luminescent bacterial sensors made from immobilized films of *Photobacterium phosphoreum*. *Chemical Research in Chinese Universities*. 2005. Vol. 21, iss. 1. P. 44–47. URL: <https://csrc.jlu.edu.cn/EN/Y2005/V21/I1/44>.

**VALIDATION OF RAPID METHOD FOR DETERMINING THE OVERALL TOXICITY OF FEED
USING BIOLUMINESCENT MICROORGANISMS *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM***

Kurbatska O. V., Orobchenko O. L.

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

The article presents the results of studying the validation characteristics of the express method for determining the general toxicity of feed using bioluminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. The work used lyophilized culture *Ph. phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) and *Colpoda steinii* dry culture for ecological and toxicological studies of environmental objects, livestock and poultry products (RC № AB-02438-01-11, produced by "Vidrodzhennia" LLC, Odesa). Measurement of the luminescence intensity of luminescent bacteria was performed on a luminometer EMILITE-1003A. To quantify the effect on luminescence of bacteria we used toxicity index to conclude on the degree of toxicity of the sample. When testing *Colpoda steinii* the mobility of ciliates was the criterion for assessing the toxicity of the studied feed samples. Validation parameters of the express method for determining the general toxicity using photoluminescent microorganisms *Ph. phosphoreum* were established according to ISO 16140:2003 "Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods (IDT)". There was conducted a comparative study of alternative method (determination of total feed toxicity using *Ph. phosphoreum*) and standard method (determination of toxicity using infusoria *Colpoda steinii* in accordance with DSTU 3570-97 "Feed grain, products of its processing, feed. Determination of toxicity"). The test object was a grain mixture (barley–wheat 50:50), toxicant — mycotoxin zearalenone. During the validation of the method, the following parameters were determined: relative specificity, relative accuracy, control of intralaboratory reproducibility, luminescence stability, linearity, convergence, detection limit and method determination limit. It has been established that the technique is specific, accurate, linear, reproducible. Optimal conditions and shelf life for *Ph. phosphoreum*: in tubes on a dense nutrient medium at a temperature of 4°C with monthly reseeded for 7 months, and optimal conditions and time of cultivation before the study: in tubes on a liquid nutrient medium at a temperature of 26°C 24 h after seeding. The limit of detection of the method (for zearalenone) is 0.125 µg/cm³, and the limit of determination is 0.25 mg/kg of feed

Keywords: express method, zearalenone, *Colpoda steinii*

УДК 619:577.2.08:604.6:633.953.494/.52:636.085.3(477)

DOI [10.36016/VM-2021-107-10](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-10)

**МОНІТОРИНГ ГМО У СОЇ, РІПАКУ ТА КОРМАХ ДЛЯ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ ЗА 2018–2020 РОКИ**

Гайдей О. С., Олексієнко І. С., Шуляк С. В., Меженський А. О., Київська Г. В.

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна, e-mail: olga.gaidei@gmail.com

Крушельницька О. В.

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, Львів, Україна

Метою роботи було провести моніторинг та проаналізувати результати досліджень сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин за період 2018–2020 рр. щодо наявності ГМО. Дослідження проводились протягом 2018–2020 рр. методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу у науково-дослідному відділі біохімічних і молекулярних досліджень харчових продуктів, кормів та води Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та регіональних державних лабораторіях Держпродспоживслужби України. Для проведення досліджень були використані діагностичні набори (R-Biopharm): для скринінгу, ідентифікації, кількісного визначення ГМ-ліній сої та ріпаку. Як позитивний контроль використовували референс матеріал ГМ-сої, ГМ-ріпаку (ERM, Бельгія). За період 2018 р. було досліджено 3 494 зразків рослинної сировини та кормів, з яких у 505 зразках (14,5 %) було виявлено ГМ-лінії сої та ріпаку. У 2019 р. було досліджено 4 235 зразків, з яких 775 (18,2 %) зразків були

позитивними. У 2020 році досліджено 4 389 зразків, з яких у 569 (12,8 %) виявлено ГМ-сою та ГМ-ріпак. За період 2018–2019 рр. у позитивних зразках комбікормів, сої, макухи та шроту соєвого було ідентифіковано ГМ-лінії MON 40-3-2 та MON 89788 у кількості більше 10 %, у зразках ріпаку та макухи ріпакової була виявлена ГМ-лінія GT-73 у кількості більше 10 %. У 2020 р. у зразках сої, крім вищезазначених ГМ-ліній, ідентифіковано ГМ-лінію MON 87708. Не дивлячись на заборону використання ГМ-джерел в Україні, щороку кількість нових ГМ-ліній рослин збільшується, що може бути пов'язано з відсутністю контролю імпортованої сировини та зернових, а також контрабандним ввезенням їх на територію України

Ключові слова: ПЛР, трансгенні рослини, ГМ-лінії

Щороку кількість площ, зайнятих під ГМ-рослинами, збільшується та становить більше 11% від світових посівних площ, які зайняті ГМ-культурами, а це майже 200 млн гектарів. Серед лідерів — США, Бразилія, Канада, Індія, Китай та Аргентина. Ставлення світових учених до питання безпечності ГМО залишилося до цих пір неоднозначним. Так, у Європейського Союзу залишився ризик-орієнтований підхід і застосовується принцип обережності в питанні використання та введення в обіг ГМ-рослин. Мораторій на вирощування ГМО введений у 18 країнах ЄС: Польщі, Швейцарії, Австрії, Німеччині, Франції, Болгарії, Хорватії, Кіпрі, Греції, Угорщині, Італії, Латвії, Литві, Нідерландах, Данії, Люксембургу, Мальті та Словенії. Більшість країн-членів ЄС заборонили вирощування ГМ-культур. Лише декілька країн, наприклад, Іспанія і Португалія, дозволяють вирощування генетично модифікованих культур. Однак ЄС є світовим лідером з імпорту ГМ-культур. Він імпортує щороку більш, ніж 30 млн т генетично модифікованої кукурудзи та сої для годівлі тварини. У більшості країн ЄС заборонено використання ГМО для виробництва дитячого харчування та діє повна чи часткова заборона на окремі види ГМО, які використовуються у харчовій промисловості [1–4].

В ЄС кожна партія ГМ-продуктів або кормів відстежується на кожному ланцюзі поставок. Оператори зобов'язані інформувати споживачів, указуючи інформацію чи продукт генетично модифікований чи містить ГМ-інгредієнти [5, 6]. Поріг випадкового чи технічно неминучого потрапляння ГМО до 0,9 % на інгредієнт. Таким чином, ЄС має чітку позицію та регульоване законодавство щодо використання ГМО.

Американський підхід до генетично модифікованих організмів базується на продукті, а не на процесі виробництва, та розглядає біотехнологію як безпечну за своєю природою, а її продукти як такі, що не відрізняються від немодифікованих аналогів [7]. У США не було загальнонаціонального закону про маркування. У новому законі 2020 р. зазначено, що кожний інгредієнт може містити до 5 % ГМО, якщо це технічно неминуче чи не навмисно [4–7].

В Україні забороняється промислове виробництво та введення в обіг ГМО, а також продукції, виробленої із застосуванням ГМО, до їх державної реєстрації [8]. На сьогодні не зареєстроване жодне ГМ-джерело в нашій державі. Зважаючи на відсутність вхідного контролю імпортованої рослинної сировини, посівного матеріалу та кормів, виникла необхідність провести моніторинг зернових і кормів для сільськогосподарських тварин на наявність ГМО.

Метою роботи було провести моніторинг і проаналізувати результати досліджень сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин за період 2018–2020 рр. щодо наявності ГМО.

Матеріали та методи. Дослідження проводились протягом 2018–2020 рр. методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу у науково-дослідному відділі біохімічних і молекулярних досліджень харчових продуктів, кормів та води Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та регіональних державних лабораторіях Держпродспожислужби України. Для проведення досліджень були використані діагностичні набори (R-Biopharm AG, Німеччина): для скринінгу — SureFood GMO Screen 35S/NOS/FMV+IAC, SureFood GMO Screen 4plex BAR/NPTII/PAT/CTP2:CP4 EPSPS; для ідентифікації ГМ-ліній — SureFood GMO ID Roundup Ready Soya, SureFood GMO ID RR2Y Soya, SureFood GMO ID A2704-12 Soya, SureFood GMO ID Soya I; для кількісного визначення ГМ-ліній — SureFood GMO QUANT Roundup Ready Soya, SureFood GMO QUANT RR2Y Soya, SureFood GMO QUANT GT73 Canola. Як позитивний контроль використовували референс матеріал різної відсоткової концентрації ГМ-сої, ГМ-ріпаку (ERM, Бельгія). Ампліфікатор — Thermo Fisher Scientific QuantStudio 5.

Результати й обговорення. На сьогодні тестування ГМО у структурі Держпродспоживслужби України проводять 11 акредитованих лабораторій: ДНДІЛДВСЕ, Центральна випробувальна державна лабораторія Держпродспоживслужби в Київській області та м. Києві, Харківська, Полтавська, Черкаська, Дніпропетровська, Хмельницька, Львівська, Кіровоградська, Івано-Франківська, Вінницька регіональні державні лабораторії.

За період 2018 р. було досліджено 3 494 зразків сої, ріпаку та кормів для сільськогосподарських тварин, з яких у 505 зразках було виявлено ГМ-лінії сої та ріпаку, що у відсотковому співвідношенні складає 14,5 %. У 2019 р. було досліджено 4 235 зразків, з яких 775 зразків були позитивними та становили 18,2 % від загальної кількості досліджених зразків. У 2020 р. досліджено 4 389 зразків, з яких у 569 виявлено ГМ-сою та ГМ-ріпак, що у відсотковому співвідношенні становило 12,8 %. За період 2018–2019 рр. у позитивних зразках комбікормів, сої, макухи та шроту соєвого було ідентифіковано ГМ-лінії MON 40-3-2 та MON 89788 у кількості більше 10 %, у зразках ріпаку та макухи ріпакової була виявлена ГМ-лінія GT-73 у кількості більше 10 %. У 2020 р. у зразках сої, крім вищезазначених ГМ-ліній, ідентифіковано ГМ-лінію MON 87708 (табл., рис.).

Таблиця — Результати моніторингу ГМО у сої, ріпаку та кормах для сільськогосподарських тварин з різних регіонів України за період 2018–2020 рр.

Рік	Назва зразка, в якому виявлено ГМО	Назва ГМ-лінії рослин	Уміст ГМО, %
2018	соя	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10
2019	соя	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10
2020	соя	MON87708	—
	шрот соєвий	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	макуха соєва	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	комбікорм	MON 40-3-2, MON 89788	> 10
	ріпак	GT-73	> 10
	макуха ріпакова	GT-73	> 10

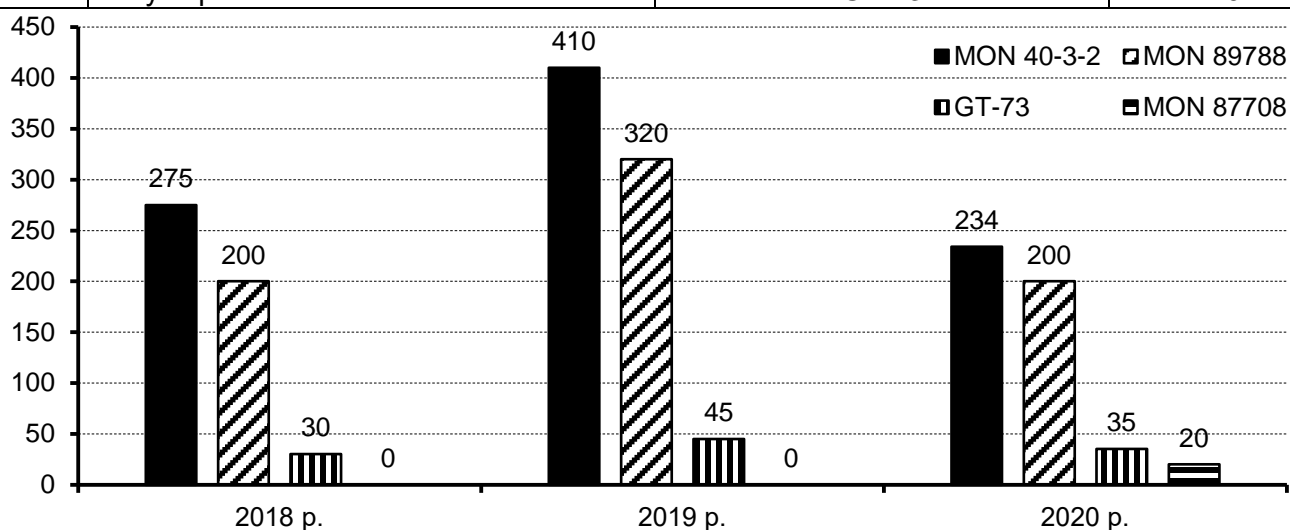


Рис. Кількість зразків з ГМО та перелік виявлених ГМ-ліній рослин за період 2018–2020 рр.

За результатами проведених досліджень встановлено, що в Україні найбільш поширені ГМ-лінії сої MON 40-3-2 і MON 89788 та ріпаку GT-73. У 2020 р., крім зазначених ГМ-ліній рослин, з'явилась нова ГМ-лінія сої — MON 87708.

Висновки. Таким чином, не дивлячись на заборону використання ГМ-джерел в Україні, щороку кількість нових ГМ-ліній рослин збільшується, що може бути пов'язано з відсутністю контролю імпортованої сировини та зернових, а також контрабандним ввезенням їх на територію України.

Перспективи подальших досліджень. Ураховуючи зазначене, виникає необхідність створення комплексної програми контролю ГМО на етапі вхідного контролю, закупівлі посівного матеріалу та етапі збору врожаю, а також реєстрації ГМ-ліній, які циркулюють в Україні.

Список літератури

1. Дятловская Е. Посевы ГМ-агрокультур достигли рекордных 185 млн гектаров. *Агроинвестор*. 7 мая 2017. URL: <https://www.agroinvestor.ru/technologies/news/27335-posevy-gm/>.
2. Смирнов В. М. Особенности экспорта и мировые тенденции потребления соевого шрота. Группа компаний «Содружество», 2019. URL: <https://meatindustry.ru/upload/iblock/fe6/fe6b30d6ad6f64fe9bbf830e194fb8ec.pdf>.
3. Какие страны запретили генетически модифицированные культуры? ГМО обзор: о пользе и вреде продуктов питания. 20 августа 2013 г. URL: <https://gmoobzor.com/stati/kakie-strany-zapretili-geneticheski-modifitsirovannye-kultury.html>.
4. Klümper W., Qaim M. (2014) A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, iss. 11. P. e111629. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111629>.
5. Where are GMO crops and animals approved and banned? *Genetic Literacy Project*. 2020. URL: <https://gmo.geneticliteracyproject.org/FAQ/where-are-gmos-grown-and-banned>.
6. European Commission. EU Register of Authorised GMOs. Version 1.1.1. 2003. URL: <https://webgate.ec.europa.eu/dyna2/gm-register/>.
7. Баласинович Б., Ярошевська Ю. ГМО: виклики сьогодення та досвід правового регулювання. Київ: Інститут економічних досліджень та політичних консультацій, 2010. 255 с. ISBN: 9789661870689. URL: <http://www.ier.com.ua/ua/publications/books/?pid=2394>.
8. Верховна Рада України. Закон України 1103-V «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів». Редакція від 16.10.2020 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16>.

MONITORING OF GMOs IN SOYBEANS, CANOLA AND FODDER FOR FARM ANIMALS IN UKRAINE IN 2018–2020

Haidei O. S., Oleksienko I. S., Shuliak S. V., Mezhenyskyi A. O., Kyivska G. V.

State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

Krushelnyska O. V.

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

The aim of the work was to monitor and analyze the results of research on the presence of GMOs in soybeans, canola and animal feed for the period 2018–2020. The research was conducted during 2018–2020 by the real-time polymerase chain reaction in the Research Department for Biochemical and Molecular Research of Food, Feed and Water of the State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise and in Regional State Laboratories of the State Service of Ukraine on Food Safety and Consumer Protection. Diagnostic kits (R-Biopharm) were used for screening, identification, quantification of soybeans and canola GM-lines. Reference material of GM-soybean, GM-canola (ERM, Belgium) was used as a positive control. In 2018, 3,494 samples of soybeans canola and feeds were studied, of which, in 505 (14.5%) samples GM-lines of soybeans and canola were found. In 2019, 4,235 samples were tested, 775 (18.2%) samples were positive. In 2020, 4,389 samples were studied, of which in 569 (12.8%) samples GM-soya and GM-canola were detected. During the period of 2018–2019 in positive samples of compound feed, soybeans, soya press cake and grist, GM-lines MON 40-3-2 and MON 89788 were identified in the amount of more than 10%, in samples of canola and canola press cake, GM-line GT-73 was found in the amount of more than 10%. In 2020, in soybean samples, in addition to the above-mentioned GM-lines, the GM-line MON 87708 was identified. Despite the ban on the use of GM-sources in Ukraine, the number of new GM-plant lines is increasing every year, which may be due to the lack of control over imported raw materials and grains, as well as their smuggling into Ukraine

Keywords: PCR, transgenic plants, GM-lines

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 619:616.98-078:578.825.1.083.33:636.5:602.3(477)

DOI 10.36016/VM-2021-107-11

ОЧИСТКА ТА КОНЦЕНТРУВАННЯ АНТИГЕНУ ДЛЯ ІФА З ВИКОРИСТАННЯМ ЕПІЗООТИЧНИХ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ, ВИДІЛЕНИХ В УКРАЇНІ

Верецун А. Л., Усова Л. П.*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: veretsun1975@gmail.com*

Інфекційний ларинготрахеїт курей — одна з небезпечних вірусних респіраторних хвороб курей, яка завдає суттєві економічні збитки птахівничим господарствам. Ключовою складовою контролю цього захворювання є своєчасна швидка серологічна діагностика. На сьогоднішній день основним методом серологічної діагностики та моніторингу є імуноферментний аналіз. Основним компонентом ІФА тест-систем є очищений та концентрований антиген вірусу ІЛТ. Метою наших досліджень була розробка технології виготовлення очищених і концентрованих антигенів вірусу інфекційного ларинготрахеїту, а також перевірка придатності епізоотичних ізолятів для виготовлення антигенів для ІФА. За результатами досліджень розроблено вдосконалену схему отримання очищених антигенів вірусу ІЛТ з використанням епізоотичних ізолятів, яка складається з накопичення вірусної сировини, її інактивації, перевірки повноти інактивації, концентрування вірусу ІЛТ за допомогою осадження ПЕГ-6000 з подальшим ультрацентрифугуванням за 14 000 об./хв через 30 %-ву сахарозну подушку. Отримано зразки очищених концентрованих антигенів вірусу ІЛТ з ізолятів «В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12» зі вмістом білка 1520–3720 мкг/см³. Кратність очищення антигенів становила від 4,17 до 7,24. За допомогою ІФА встановлено, що всі ці антигени є придатними до використання як антигени. У результаті перевірки специфічності встановлено, що всі антигени не реагують з гетерологічними сироватками до інших вірусних хвороб птиці, а реагують тільки з гомологічними сироватками позитивними до ІЛТ, що доводить їхню специфічність

Ключові слова: лабораторна діагностика, курячі ембріони

Своєчасна діагностика та профілактика хвороб птиці забезпечує можливість інтенсивного розвитку промислового птахівництва та значно знижує економічні збитки у разі виникнення спалахів захворювань. Найбільшою потенційною загрозою для розвитку птахівництва є вірусні інфекційні хвороби, до яких також належить інфекційний ларинготрахеїт (ІЛТ). ІЛТ — респіраторна інфекція, яка може становити серйозну небезпеку для птахівництва. Захворювання відоме досить давно, розроблена велика кількість вакцин для специфічної профілактики, але, у той же час, випадки захворювання реєструються достатньо часто. Це пов'язано з особливостями збудника та його здатністю до мутацій, у результаті чого виникають нові ізоляти. Ще однією особливістю ІЛТ є латентна інфекція, яка клінічно не проявляється. Не дивлячись на широку програму вакцинації ІЛТ, яка застосовується в комерційних птахівничих господарствах, серед свійської птиці достатньо часто реєструється циркуляція польових ізолятів вірусу.

Одним з інструментів для виявлення циркуляції вірусу, є серологічна діагностика, яка спрямована на виявлення специфічних антитіл у птиці. Незважаючи на те, що традиційні методи серологічної діагностики ІЛТ — реакція нейтралізації та реакція непрямой гемаглютинації — і досі застосовуються під час проведення досліджень, імуноферментний аналіз (ІФА), на сьогоднішній день, відіграє провідну роль у системі діагностики та профілактики захворювання [1–3]. Виявлення специфічних антитіл може бути використано як для оцінки якості проведеної вакцинації, так і для діагностичного виявлення антитіл у птиці, що може свідчити про перенесену латентну інфекцію. Постійний серологічний моніторинг дозволяє

своєчасно виявляти ознаки циркуляції епізоотичних штамів вірусу серед птиці у промислових птахівничих господарствах, організовувати й уживати заходи профілактики та боротьби.

На сьогоднішній день на ринку ветеринарних препаратів України представлено декілька закордонних діагностичних тест-систем для виявлення антитіл до вірусу ІЛТ у сироватці крові птиці, але, у той же час, в Україні відсутні вітчизняні засоби серологічної діагностики. Ключовим моментом у розробці будь-яких тест-систем для серологічної діагностики є отримання якісного, очищеного, концентрованого та високоспецифічного антигену [4]. Одним з варіантів отримання високоспецифічного антигену є використання актуальних циркулюючих ізолятів.

У Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (ННЦ «ІЕКВМ») протягом останнього десятиріччя розроблено декілька вітчизняних діагностичних тест-систем для виявлення антитіл до вірусних захворювань птиці за допомогою ІФА [5–7]. Так, у 2007 р. проведено дослідження щодо отримання очищеного антигену вірусу ІЛТ для ІФА на основі вакцинного штаму вірусу ІЛТ «ВНИИБП-У» [8]. Ураховуючи епізоотичну ситуацію в Україні щодо ІЛТ, циркуляцію епізоотичних вірусів, які спричиняють захворювання у птиці, а також мінливість вірусу ІЛТ виникла необхідність розробити технологію отримання очищеного антигену вірусу ІЛТ на основі епізоотичних штамів.

Метою роботи було вивчення потенційної можливості використання епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ для виготовлення очищених і концентрованих антигенів вірусу ІЛТ, придатних для використання як компонента ІФА тест-систем.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у відділі вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» у 2019–2020 рр.

Віруси. У роботі використані ізоляти вірусу ІЛТ «А 04-12», «ЧП 9-11», «Б 2-10», «В 59-11», які були виділені у 2010–2012 рр. від клінічно хворих курей з промислових і присадибних птахівничих господарств різних регіонів України.

Отримання вірусної сировини. Для накопичення вірусної маси використовували 12-добових ембріонів від курей, що не були вакциновані проти ІЛТ. Зараження ембріонів проводили на хоріон-алантоїсну оболонку (ХАО) через штучну повітряну камеру в дозі 0,2 см³. Інфіковані курячі ембріони (КЕ) інкубували протягом 7 діб. Після закінчення строку інкубації інфіковані КЕ охолоджували за температури 4 °С впродовж 24 год і проводили розтин. Під час розтину відбирали хоріон-алантоїсну оболонку та екстраембріональну рідину.

Інактивація вірусу. Інактивацію вірусної сировини проводили формальдегідом у кінцевій концентрації 0,5 % впродовж 24 год [2]. Перевірку повноти інактивації проводили на КЕ трьома сліпими пасажами. Сировина вважалася повністю інактивованою за відсутності специфічної загибелі КЕ та відсутності патологічних змін КЕ протягом 3 послідовних пасажів.

Очистка та концентрування. Очищення та концентрування інактивованого антигену вірусу ІЛТ проводили за допомогою швидкісного центрифугування за 22 000 g за температури 4 °С у нашій модифікації.

Оцінка специфічності. Специфічність виготовлених нами антигенів на основі різних епізоотичних ізолятів ІЛТ проводили в ІФА з використанням сироваток крові, позитивних до збудників інфекційних хвороб птиці: високопатогенного грипу птиці (ВПГП) та ньюкаслської хвороби (НХ) (виробництва ННЦ «ІЕКВМ»), а також інфекційного ларинготрахеїту курей (ІЛТ), інфекційного бронхіту курей (ІБК), аденовірусної інфекції курей 4-го серотипу (АВГП-4), метапневмовірусної інфекції (МПВ), інфекційного енцефаломієліту (ІЕП), та інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ) (виробництва ФДБУ «ВНДІЗТ», Російська Федерація).

Постановка ІФА, реагенти та облік реакції. Для постановки ІФА використовували наступні реагенти: позитивні та негативні контрольні сироватки (ННЦ «ІЕКВМ»), буфер для розведення дослідних і контрольних зразків та імунопероксидазний кон'югат, імунопероксидазний кон'югат проти Ig G курей («KPL», США), мікропористі полістиролові планшети Nunc MaxiSorb (Данія), субстрат ТМБ і стоп-реагент («KPL», США). Постановку ІФА проводили за наступним регламентом: дослідні та контрольні зразки сироватки використовували у розведенні 1:400 по 0,1 см³ у відповідні лунки планшета; інкубацію проводили протягом 30 хв за температури 37 ± 1 °С; відмивання проводили дистильованою водою в об'ємі 0,350 см³ у кожну лунку тричі; робоче розведення кон'югату вносили по 0,1 см³ у кожну лунку та інкубували 30 хв за температури 37 ± 1 °С; відмивання проводили дистильованою водою в об'ємі 0,350 см³ у кожну лунку тричі; субстрат вносили по 0,1 см³ і

витримували за кімнатної температури 20–24 °С у темряві протягом 15 хв; реакцію зупиняли внесенням стоп-реагенту в лунки по 0,1 см³. Облік результатів реакції проводили на горизонтальному спектрофотометрі «Sunrise» («Тесап», Швейцарія) за довжини хвилі 450 нм.

Результати досліджень. Дослідження з очистки та концентрування антигену вірусу ІЛТ склалися з декількох етапів: накопичення вірусної маси кожного з епізоотичних ізолятів, інактивації вірусної сировини, очищення та концентрування антигенів, перевірки специфічності отриманих антигенів.

Накопичення вірусу. Вірусну масу епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ «В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12» культивували на 11–13-добових КЕ, отриманих з господарств, благополучних щодо інфекційних захворювань курей. Через 7 діб після зараження проводили розтин заражених ембріонів. Відбирали екстраембріональну рідину та хоріон-алантоїсні оболонки КЕ, проводили триразове заморожування-відтаювання вірусної сировини та гомогенізували хоріон-алантоїсні оболонки. Після цього звільняли отриману рідину від великих часток за допомогою низькошвидкісного центрифугування (1 500 об./хв протягом 15 хв, за температури 4 °С). Усього було отримано 70–170 см³ кожного з ізолятів. Отриману вірусміщуючу рідину інактивували 0,5% формальдегідом. Після інактивації встановлено, що протягом 3 послідовних пасажів вірусний антиген не спричинював загибелі та патологоанатомічних змін у КЕ, тобто він був повністю інактивований.

Очищення та концентрування. Інактивовану вірусміщуючу рідину освітлювали центрифугуванням за 3 000 об./хв протягом 20 хв, концентрували шляхом додавання ПЕГ-6000 до кінцевої концентрації 7 % протягом 18 год за температури 4 °С. Осад відокремлювали центрифугуванням за 4 000 об./хв протягом 90 хв за температури 4 °С. Наступним етапом було очищення вірусу крізь 30 %-й розчин сахарози за 14 000 об./хв (22 000 г) упродовж 4,5 год за температури 4 °С. Отриманий осад після ультрацентрифугування ресуспендували у NTE-буфері (рН 7,5) у кількості у 100 разів меншій від початкового об'єму. В отриманих зразках антигенів визначали концентрацію білка за Бредфордом. Антигени розливали по флаконам і зберігали за температури мінус 20°С. Таким чином, нами було виготовлено 4 зразки антигенів вірусу ІЛТ. Основні характеристики отриманих антигенів наведено в табл. 1.

Таблиця 1 — Характеристики очищених і концентрованих антигенів, виготовлених з епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ

Показник	Антиген							
	А 4-12		Б 2-10		ЧП 96-10		В 59-11	
	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення
Об'єм антигену, см ³	120	1,8	80	1,8	170	1,8	70	1,8
Вміст білка, мкг/см ³	11 000	1 520	18 400	3 500	15 500	3 720	14 900	2 200
Кратність очищення	7,24		5,26		4,17		6,77	

За результатами очистки та концентрування було отримано 4 препарати, які відрізнялися за концентрацією білка. Було встановлено, що вірусна суспензія до очищення містила 11 000–18 400 мкг/см³ білка, а після — 1 520–3 720 мкг/см³, що свідчить про звільнення від баластних білків та отримання очищеного антигену. У результаті обрахування за кінцевим об'ємом встановлено, що кратність очищення становила від 4,17 до 7,24.

Сенсибілізація планшетів і визначення придатності антигенів для ІФА. Для визначення придатності отриманих очищених антигенів для ІФА необхідно було провести сенсибілізацію полістиролових планшетів, визначити оптимальну концентрацію антигену для сенсибілізації, оцінити оптичну густину (ОГ) тощо. Результати цих досліджень наведено в табл. 2.

Таким чином нами встановлено, що ОГ позитивних сироваток до вірусу ІЛТ більш ніж у 3 рази вище за ОГ негативних контрольних сироваток. Співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток становило від 2,31 до 3,58. Це свідчить про високу якість отриманих антигенів. Робоче розведення антигену за вмістом білка — 2–20 мкг/см³. Для подальшої роботи було обрано антиген, виготовлений з використанням епізоотичного ізоляту

«В 59-11», що був ефективним у розведенні 1:1 000 (2 мкг/см³ білка) і близький до найвищого показника співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток.

Таблиця 2 — Результати оцінки придатності очищених антигенів для ІФА, виготовлених з використанням епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ

Показники	Антиген			
	А 4-12	Б 2-10	ЧП 96-10	В 59-11
Робоче розведення	1:100	1:350	1:250	1:1000
Концентрація білка в робочому розведенні антигену, мкг/см ³	20	10	15	2
Робоче розведення сироваток	1:400	1:400	1:400	1:400
ОГ позитивних контролів з антитілами до вірусу ІЛТ ($M \pm m$)	0,574 \pm 0,022	0,401 \pm 0,020	0,443 \pm 0,020	0,668 \pm 0,005
ОГ негативних контролів без антитіл до вірусу ІЛТ ($M \pm m$)	0,167 \pm 0,002	0,112 \pm 0,004	0,192 \pm 0,002	0,187 \pm 0,011
Співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток до вірусу ІЛТ	3,44	3,58	2,31	3,57

Перевірка специфічності антигену для ІФА. Ефективність очистки від баластних речовин, а також придатність препаратів для використання як антигену вірусу ІЛТ оцінювали за специфічністю антигену в ІФА з використанням специфічних позитивних сироваток крові, які містять антитіла до інфекційної бурсальної хвороби, високопатогенного грипу птиці, ньюкаслської хвороби, інфекційного ларинготрахеїту курей, аденовірусної інфекції курей 4 серотипу, метапневмовірусної інфекції, інфекційного енцефаломієліту. Результати цих досліджень наведено в табл. 3.

Таблиця 3 — Специфічність очищених антигенів, виготовлених з використанням епізоотичних ізолятів в ІФА

Показник	Антиген			
	А 4-12	Б 2-10	ЧП 96-10	В 59-11
ОГ позитивних контролів з антитілами до вірусу ІЛТ ($M \pm m$)	0,574 \pm 0,022	0,401 \pm 0,020	0,443 \pm 0,020	0,668 \pm 0,005
ОГ негативних контролів без антитіл до вірусу ІЛТ ($M \pm m$)	0,167 \pm 0,002	0,112 \pm 0,004	0,192 \pm 0,002	0,187 \pm 0,011
ОГ сироватки, позитивної до ІБХ	0,074 \pm 0,012	0,112 \pm 0,022	0,134 \pm 0,004	0,165 \pm 0,001
ОГ сироватки, позитивної до НХ	0,132 \pm 0,004	0,144 \pm 0,004	0,104 \pm 0,004	0,119 \pm 0,010
ОГ сироватки, позитивної до ВПГП	—	—	—	0,159 \pm 0,004
ОГ сироватки, позитивної до ІБК	0,152 \pm 0,010	0,099 \pm 0,002	0,112 \pm 0,012	0,182 \pm 0,010
ОГ сироватки, позитивної до АВП-4	—	—	—	0,183 \pm 0,012
ОГ сироватки, позитивної до МПВ	—	—	—	0,253 \pm 0,012
ОГ сироватки, позитивної до ІЕП	—	—	—	0,238 \pm 0,004

Примітка: «—» — не визначали.

Як видно з результатів досліджень, наведених у табл. 3, показники ОГ позитивних сироваток з антитілами до гетерологічних вірусів хвороб птиці були на рівні негативного контролю. У той же час, ОГ позитивної гомологічної сироватки крові до вірусу ІЛТ була вище у 2,3–3,5 разу у порівнянні з негативним контролем. Таким чином отримані нами антигени вірусу ІЛТ для ІФА є специфічними.

Також нами було проаналізовано результати очищення вакцинного штаму вірусу ІЛТ «ВНИИБП-У», яке було проведено у 2007 р. у порівнянні з нашими даними (табл. 4).

Дані табл. 4 свідчать, що нам вдалося значно спростити методику очищення антигену вірусу ІЛТ за рахунок використання для накопичення вірусної маси курячих ембріонів замість культури клітин, змінити режим ультрацентрифугування, що дозволило відмовитись від

використання великої ультрацентрифуги та необхідності накопичення значних об'ємів вірусмішуючої рідини. Новий протокол очищення дозволив скоротити витрати на виготовлення антигенів без зниження їхньої якості.

Таблиця 4 — Порівняльні характеристики різних способів отримання антигенів вірусу ІЛТ

Показники	Спосіб 1 (2007 р.)	Спосіб 2 (сучасний)
Біологічна система для накопичення вірусу	Культура клітин фібробластів ембріонів курей	11–13-добові КЕ
Інактивант	0,1 % аміноетиленімін	0,5 % формальдегід
Етапи очищення:		
Центрифугування (осадження баластних білків)	3 000 об./хв, 15 хв	3 000 об./хв, 20 хв
Осадження ПЕГ-6000	До кінцевої концентрації 8 %, 18 год, за 4 °С	До кінцевої концентрації 7 %, 18 год, за 4 °С
Центрифугування	–	4 000 об./хв, 90 хв, за 4 °С
Ультрацентрифугування через 30 %-ву сахарозу	30 000 об./хв, 3 год, за 9 °С	14 000 об./хв, 4,5 год, за 4 °С
Уміст білка в антигені, мкг/см ³	225	1 520–3 720
Концентрація білка в робочому розведенні антигену, мкг/см ³	2–5	2–20

Висновки: 1. За результатами серії дослідів нами було отримано концентровані та очищені антигени 4 епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ («В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12»), виділених в Україні в різні роки. Концентрація білка в очищених антигенах становить 1 520–3 720 мкг/см³, кратність очищення — від 4,17 до 7,24.

2. Розроблено удосконалену схему очищення антигенів вірусу ІЛТ, яка складається з накопичення та інактивації вірусної сировини, концентрування вірусу ІЛТ з використанням ПЕГ-6000, ультрацентрифугування за 14 000 об./хв через 30 %-ву сахарозу.

3. За результатами постановки ІФА встановлено, що отримані антигени є високоспецифічними та придатними для використання для сенсibiliзації полістиролових планшетів в ІФА. Найбільш придатним виявився антиген вірусу ІЛТ, виготовлений з епізоотичного ізоляту «В 59-11», який було ізолювано від хворих курей у 2011 р.

Список літератури

- Сюрин В. Н., Белоусова Р. В., Фомина Н. В. Диагностика вирусных болезней животных : справочник. Москва : Агропромиздат, 1991. 528 с. ISBN: 5100006633.
- Islam M. S., Khan M. S. R., Islam M. A., Hassan J., Affroze S., Islam M. A. Isolation and characterization of infectious laryngotracheitis virus in layer chickens. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 2012. Vol. 8, iss. 2. P. 123–130. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjvm.v8i2.11194>.
- World Organisation for Animal Health (OIE). Chapter 3.3.3. Avian infectious laryngotracheitis [version adopted in May 2021]. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*. 8th ed. Paris : OIE, 2021. P. 1–11. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.03_AVIAN_INF_LARYNGO.pdf.
- Мейхи Б., ред. Вирусология. Методы. Москва : Мир, 1988. 343 с. ISBN: 5030013717.
- Стегній Б. Т., Коваленко Л. В., Усова Л. П., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Древаль Я. А. Визначення специфічності, чутливості та відтворюваності тест-системи «Набір компонентів для визначення антитіл до вірусу інфекційного бронхіту курей». *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* Харків, 2008. Вип. 89. С. 350–356.
- Стегній Б. Т., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Ткаченко С. В., Усова Л. П. Розробка тест-системи ІФА для визначення антитіл до вірусу синдрому зниження несучості курей. *Вісник аграрної науки*. 2008. Спец. вип. С. 50–54.
- Стегній Б. Т., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Усова Л. П. Визначення антитіл до вірусів-збудників інфекційних хвороб курей (інфекційного бронхіту курей, інфекційної бурсальної хвороби, ньюкаслської хвороби, синдрому зниження несучості) імуноферментним методом : метод. реком. : затв. наук.-метод. радою Держ. ком. вет. медицини України, протокол № 2 від 25.12.2008 р. Харків, 2009. 26 с.
- Стегній Б. Т., Антонов В. С., Руденко О. П., Михайлова С. А., Гадзевич Д. В., Галиш Л. П. Визначення антитіл до вірусу інфекційного ларинготрахеїту курей методом імуноферментного аналізу. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб.* Харків, 2007. Вип. 88. С. 219–222.

PURIFICATION AND CONCENTRATION OF ANTIGEN FOR ELISA USING EPIZOOTIC ISOLATES OF INFECTIOUS LARYNGOTRACHITIS VIRUS ISOLATED IN UKRAINE

Veretsun A. L., Usova L. P.

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

Infectious laryngotracheitis of chickens is one of the most dangerous viral respiratory diseases of chickens, which causes significant economic losses to poultry farms. A key component in this disease control is timely rapid serological diagnosis. To date, the basic method of serological diagnosis and monitoring is enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The main components of ELISA test systems are purified and concentrated infectious laryngotracheitis virus antigens. Our research aimed to develop a technology for the production of purified and concentrated antigens of infectious laryngotracheitis virus, as well as to test the suitability of epizootic isolates for the production of antigens for ELISA. Based on the results of research, an improved scheme for obtaining purified infectious laryngotracheitis virus antigens using epizootic isolates has been developed. The scheme consists of accumulation of virus raw material, its inactivation, verification of inactivation completeness, concentration of infectious laryngotracheitis virus by PEG-6000 precipitation followed by ultracentrifugation at 14,000 rpm through a 30% sucrose pad. Samples of purified concentrated infectious laryngotracheitis virus antigens from isolates "B 59-11", "B 2-10", "ЧП 96-10", and "A 4-12" with protein content 1,520–3,720 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ have been obtained. The ratio of protein concentration before and after purification ranged from 4.17 to 7.24. ELISA found that all these antigens were suitable for use as antigens. When testing for specificity, it was found that all antigens did not react with heterologous sera to other poultry viral diseases, but reacted only with homologous sera positive for infectious laryngotracheitis, which proves their specificity

Keywords: laboratory diagnostics, chicken embryos

УДК 619:602.3:579.864:579.873.13

DOI 10.36016/VM-2021-107-12

ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ
ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР *LACTOBACILLUS PLANTARUM* № 7
І *BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS* № 17 У СКЛАДІ
БАКТЕРІАЛЬНОЇ СУМІШІ ВПРОДОВЖ ЗБЕРІГАННЯ

Гужвинська С. О., Палій А. П., Корнєйков О. М.

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

У статті представлені результати вивчення стабільності основних показників пробіотичних культур *Lactobacillus plantarum* № 7 і *Bifidobacterium adolescentis* № 17 у складі бактеріальної суміші впродовж зберігання. До бактеріальної суміші додано пребіотичний компонент — лактулозу в концентрації 1,5 %. Досліджено стабільність синбіотичної бактеріальної суміші у флаконах і капсулах за збереження у відповідних умовах (захищеному від світла місці, за температури 4–8 °C). Дослідження показали, що збереження рідкої форми бактеріальної суміші з додаванням пребіотичного компонента за температури 4–8 °C можливе протягом 1 місяця без зниження показників активності, ліофільно висушеного препарату — протягом 12 місяців

Ключові слова: пребіотик, лактулоза, ліофілізат

В останні роки в Україні гостро постала проблема захворювань шлунково-кишкового тракту тварин різної етіології. Дисбактеріоз включає зміни видового складу та метаболічної активності кишкової мікрофлори, ускладнює перебіг багатьох захворювань за рахунок порушення функціонування імунної системи організму [1, 2]. Сьогоденне вирішення проблеми дисбіозу здійснюється двома шляхами, які формуються на розумінні ступеня розладу систем організму [3]. Перший передбачає профілактику дисбактеріозу, другий — його лікування. В обох випадках роль компонентів відновлювання мікрофлори відіграють пробіотичні культури з певними властивостями, такі як лакто- та біфідобактерії, кишкові палички, пропіоновокислі бактерії, аерококи та інші [4, 5].

У результаті зниження рівня пробіотичних бактерій, зокрема лактобактерій та біфідобактерій, порушуються процеси травлення, погіршується всмоктування речовин, знижується стійкість кишечника до надлишкового заселення його умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами [6, 7].

Причинами зниження рівня корисної мікрофлори є багато факторів, серед яких головними є неконтрольоване використання антибіотиків [8]. Для покращання загального стану організму, з метою підвищення імунного захисту та запобігання розладів роботи шлунково-кишкового тракту необхідно використовувати комплексний підхід. Лікування повинно бути спрямовано на зниження надлишкової кількості умовно-патогенної мікрофлори, відновлення нормальної мікрофлори [9, 10].

На сьогоднішній день у різних країнах створено велику кількість біологічно активних добавок і лікарських препаратів, основу яких складають засоби, розроблені на основі індигенної мікрофлори макроорганізму [11–13].

З цією метою, як правило, використовуються різні штами біфідо- та лактобактерій, непатогенні штами кишкової палички та ентерококів. Найвідоміші мікроорганізми, що використовуються як основа біопрепаратів — лактобацили. Відомо про використання *Lactobacillus plantarum*, *L. fennentum*, *L. casei*, *L. amylovorus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuleri*, *L. lactis* для виробництва пробіотиків. Поряд з лактобактеріями широкого використання набули біфідобактерії, зокрема *Bifidobacterium animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. thermophilus* [14, 15].

Останнім часом для корекції дисбіотичних розладів доведено перспективність використання пребіотиків — інгредієнтів, які частково або повністю не перетравлюються та вибірково стимулюють розмноження та/або метаболічну активність однієї чи кількох груп бактерій, які є наявними в кишечнику тварин [16–18].

Метою наших досліджень було вивчення стабільності основних показників пробіотичних культур *Lactobacillus plantarum* № 7 і *Bifidobacterium adolescentis* № 17 у складі бактеріальної суміші впродовж зберігання.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були штам біфідобактерій *Bifidobacterium adolescentis* № 17 і штам лактобацил *Lactobacillus plantarum* № 7. Культивування лактобактерій і біфідобактерій проводили на середовищах MRS та Блаурока відповідно впродовж 24–72 год за температури 37 °С. До поживних середовищ додавали лактулозу у концентрації 1,5 %.

Визначення активності кислотоутворення культур проводили титриметричним методом. У кожному експерименті враховували показники від двох вимірювань. Культуру бактерій об'ємом 2,5 см³ переносили в широкі пробірки (діаметром 2 см, висотою 20 см) з 25,0 см³ печінкового середовища Блаурока (із розрахунку 1,0 см³ культури на 10,0 см³ середовища), потім витримували протягом 72 год за температури 38,0 ± 0,5 °С, після чого проводили визначення кислотності в кожній пробірці (у двох паралельних пробах), для чого кожен пробу (10,0 см³ мікробної суспензії) титрували розчином натрію гідроксиду в концентрації 0,1 М до появи стійкого блідо-рожевого забарвлення (індикатор ФФ — 2 краплі). Значення рН контролювали потенціометрією. Титрування вели до рН 8,5. Кислотність виражали в градусах Тернера (°Т) і обчислювали за формулою:

$$T = A \times K \times 10$$

де: А — кількість 0,1 М розчину натрію гідроксиду, яка пішла на титрування, см³;

К — поправка до титру 0,1 М розчину натрію гідроксиду, що використовувався;

10 — ступінь розбавлення мікробної суспензії.

Середню величину кислотоутворення обчислювали за показниками, отриманими для двох вимірювань за умови, що кожен з них не нижче 90 °Т. У випадку отримання в одній із проб показника нижче 90 °Т спробу повторювали.

Кількість живих мікробних клітин лакто- та біфідобактерій визначали методом серійних розведень одержаної суспензії у фізіологічному розчині з наступним висівом культур бактерій по 0,1 см³ із розведень 10⁶ на середовища з подальшим підрахунком кількості колонієутворюючих одиниць (КУО). Усі дослідження проводили у триразовій повторності. Статистичну обробку результатів проводили за традиційними методами варіаційної статистики з використанням програми MS Excel і Statistica 10.

Результати досліджень. Для створення бактеріальної суміші були використані штами біфідобактерій *B. adolescentis* № 17 та штами лактобактерій *L. plantarum* № 7. Для проведення експерименту культивування біфідобактерій та лактобактерій проводили на середовищах з додаванням до них пребіотичного препарату лактулози в концентрації 1,5 %.

Так суміш пробіотичних бактерій з додаванням пребіотичного компонента має бути ліофілізованою з метою використання у сухій лікарській формі, або як основа для інших лікарських форм (капсули). Однак, перед дослідженням технології ліофілізації необхідно провести вивчення стабільності препарату (рідкого концентрату) і визначити термін, протягом якого рідка форма може зберігатися без втрати показників активності.

Для вирішення цього питання, нами проведено ряд досліджень, дані наведено у табл. 1. Бактеріальну суміш з пребіотичним компонентом зберігали у скляних флаконах (по 200 см³ у флаконі). Флакони з бактеріальною сумішшю закривали гумовими пробками та металевими ковпачками. Флакони зберігали у холодильнику за температури 4–8 °С.

Як видно з табл. 1, активність кислотоутворення у культур *B. adolescentis* № 17 у день виготовлення становила 280 ± 9 °Т, через 15 діб — 260 ± 7 °Т, через 30 діб — 210 ± 5 °Т, а через 45 діб — 160 ± 4 °Т. Активність кислотоутворення у культур *L. plantarum* № 7 спостерігалась відповідно 380 ± 13 °Т, 370 ± 14 °Т, 320 ± 10 °Т і 180 ± 7 °Т. Кількість живих мікробних клітин *Lactobacillus plantarum* № 7 у день виготовлення становила $6,5 \pm 0,23 \times 10^9$ КУО/см³, через 15 діб — $4,7 \pm 0,22 \times 10^9$ КУО/см³, через 30 діб — $3,3 \pm 0,14 \times 10^9$ КУО/см³, а через 45 діб — $2,2 \pm 0,06 \times 10^7$ КУО/см³. Кількість живих бактерій *B. adolescentis* № 17 впродовж місяця залишалася майже незмінною, лише на 45-ту добу значно знижувалася та становила 10^6 – 10^7 .

Таблиця 1 — Визначення стабільності основних показників біфідобактерій *B. adolescentis* № 17 та лактобактерій *L. plantarum* № 7 у складі бактеріальної суміші з пребіотичним компонентом у рідкій формі впродовж зберігання

Термін зберігання	Активність кислотоутворення, °Т		Кількість живих бактерій, КУО/см ³		pH
	<i>B. adolescentis</i> № 17	<i>L. plantarum</i> № 7	<i>B. adolescentis</i> № 17	<i>L. plantarum</i> № 7	
У день виготовлення	280 ± 9	380 ± 13	10^{11} – 10^{12}	$6,5 \pm 0,23 \times 10^9$	$4,50 \pm 0,3$
Через 15 діб	$260 \pm 7^*$	370 ± 14	10^{10} – 10^{11}	$4,7 \pm 0,22 \times 10^9$	$4,30 \pm 0,1$
Через 30 діб	210 ± 5	320 ± 10	10^9 – 10^{10}	$3,3 \pm 0,14 \times 10^9$	$4,20 \pm 0,1$
Через 45 діб	160 ± 4	180 ± 7	10^6 – 10^7	$2,2 \pm 0,06 \times 10^7$	$3,80 \pm 0,1$

Примітка. * — різниця вірогідна відносно показників терміну зберігання препарату у день виготовлення ($p \leq 0,05$).

Таким чином збереження рідкої форми бактеріальної суміші з додаванням пребіотичного компонента за температури 4–8 °С можливе протягом 1 місяця без зниження показників активності. Цього терміну достатньо для проведення контролю препарату та ліофільного висушування.

Метою проведення наших досліджень є створення синбіотичної бактеріальної суміші профілактично-лікувальної дії. Розроблену синбіотичну бактеріальну суміш можна використовувати у рідкій формі, але для тривалого зберігання або можливості застосування у складі інших лікарських форм (капсули) необхідна ліофілізація суспензії бактерій. Тому ми провели ліофільне висушування синбіотичної бактеріальної суміші. Суха лікарська форма у флаконах є ліофільно висушеною мікробною масою біфідобактерій *B. adolescentis* № 17 і лактобактерій *L. plantarum* № 7 з додаванням пребіотичного компонента лактулози у концентрації 1,5%. Форма випуску препарату — ліофільно висушений препарат у флаконах (кристалічна або пориста маса біло-кремовею кольору).

На наступному етапі роботи ми вивчали стабільність ліофільно висушеного препарату (табл. 2). Данні табл. 2 свідчать, що активність кислотоутворення *B. adolescentis* № 17 у день виготовлення становила 270 ± 7 °Т, через 6 місяців — 260 ± 8 °Т, а через 12 місяців — 240 ± 5 °Т.

Таблиця 2 — Результати аналізу сухої лікарської форми у флаконах на основі синбіотичного бактеріальної суміші в процесі тривалого зберігання

Термін зберігання	Активність кислотоутворення, °Т		Кількість живих бактерій, КУО/см ³	
	<i>B. adolescentis</i> № 17	<i>L. plantarum</i> № 7	<i>B. adolescentis</i> № 17	<i>L. plantarum</i> № 7
У день виготовлення	270 ± 7	360 ± 12	10 ¹¹ –10 ¹²	5,7 ± 0,22×10 ⁹
6 місяців	260 ± 8*	340 ± 11	10 ¹¹ –10 ¹²	5,1 ± 0,24×10 ⁹
12 місяців	240 ± 5	310 ± 9**	10 ¹⁰ –10 ¹¹	4,7 ± 0,19×10 ⁸

Примітка. ** — різниця вірогідна відносно показників терміну зберігання препарату у день виготовлення ($p \leq 0,01$).

Активність кислотоутворення *L. plantarum* № 7 у день виготовлення була 360 ± 12 °Т, через 6 місяців — 340 ± 11 °Т, а через 12 місяців — 310 ± 9 °Т. Кількість живих бактерій *B. adolescentis* № 17 у день виготовлення та через 6 місяців становила 10¹¹–10¹² КУО/см³, а через 12 місяців — 10¹⁰–10¹¹ КУО/см³. Кількість живих мікробних клітин *L. plantarum* № 7 у день випуску становила 5,7 ± 0,22×10⁹ КУО/см³, через 6 місяців — 5,1 ± 0,24×10⁹ КУО/см³, а через 12 місяців — 4,7 ± 0,19×10⁸ КУО/см³.

У процесі довгострокових досліджень вивчення стабільності препарату встановлено, що термін придатності препарату складає 1 рік (табл. 2) за зберігання у відповідних умовах. Основними показниками контролю активності препарату є активність кислотоутворення бактерій і кількість живих клітин.

Висновки. Доведено можливість використання лактулози як пребіотичного компонента у складі бактеріальної суміші на основі пробіотичних штамів бактерій. Установлена його оптимальна концентрація (1,5 %), за якої спостерігається зростання показників біологічної активності бактеріальної суміші. Досліджено стабільність синбіотичної бактеріальної суміші рідкої та ліофільно висушеної форм за зберігання у відповідних умовах — захищеному від світла місці за температури 4–8 °С. Збереження рідкої форми бактеріальної суміші з додаванням пребіотичного компонента за температури 4–8 °С можливе протягом 1 місяця без зниження показників активності, ліофільно висушеного препарату — впродовж 12 місяців.

Список літератури

- Rosenfeld C. S. Gut dysbiosis in animals due to environmental chemical exposures. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017. Vol. 7. P. 396. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00396>.
- DeGruttola A. K., Low D., Mizoguchi A., Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2016. Vol. 22, iss. 5. P. 1137–1150. DOI: <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000750>.
- Belizário J. E., Faintuch J. Microbiome and gut dysbiosis. In: Silvestre R., Torrado E., eds. *Metabolic Interaction in Infection*. Experientia Supplementum, Vol. 109. Cham : Springer, 2018. P. 459–476. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-74932-7_13.
- Paliy A. P., Gujvinska S. O., Kalashnyk M. V., Ivleva O. V., Petrov R. V., Baidevliatov Yu. A., Baidevliatova Yu. V., Husiev V. O., Hilko S. M., Kiralhazi I. I., Lohvynenko M. V., Paliy A. P., Bakun Yu. Yu. Development of technical regulations for the capsulated probiotic manufacture. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, iss. 5. P. 170–176. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_226.
- Chaucheyras-Durand F., Durand H. Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes*. 2010. Vol. 1, iss. 1. P. 3–9. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2008.1002>.
- Paliy A. P., Gujvinska S. O., Livoshchenko L. P., Nalivayko L. I., Livoshchenko Ye. M., Risovaniy V. I., Dubin R. A., Berezhna N. V., Paliy A. P., Petrov R. V. Specific composition of indigenous microflora (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp.) in farm animals. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, iss. 1. P. 43–48. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_7.
- Jensen A. P., Bjørnvad C. R. Clinical effect of probiotics in prevention or treatment of gastrointestinal disease in dogs: A systematic review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2019. Vol. 33, iss. 5. P. 1849–1864. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15554>.
- Гадзевич О. В., Палій А. П., Кінаш О. В., Петров Р. В., Палій А. П. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів, ізольованих з молока. *Світ медицини та біології*. 2019. № 3(69). С. 245–250. DOI: <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2019-3-69-245-250>.
- Culligan E. P., Hill C., Sleator R. D. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. *Gut Pathogens*. 2009. Vol. 1, iss. 1. P. 19. DOI: <https://doi.org/10.1186/1757-4749-1-19>.

10. Wernimont S. M., Radosevich J., Jackson M. I., Ephraim E., Badri D. V., MacLeay J. M., Jewell D. E., Suchodolski J. S. The effects of nutrition on the gastrointestinal microbiome of cats and dogs: impact on health and disease. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 1266. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01266>.
11. Paliy A. P., Gujvinska S. A., Rodionova K. O., Alekseeva N. V., Ponomarenko O. V., Alrawashdeh M. S., Yeletska T. A., Ponomarenko G. V., Kushnir V. Yu., Paliy A. P. Enhanced cultivation technology for lacto- and bifidobacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, iss. 3. P. 83–87. URL: <https://www.ujecology.com/articles/enhanced-cultivation-technology-for-lacto-and-bifidobacteria.pdf>.
12. Grześkowiak Ł., Endo A., Beasley S., Salminen S. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. *Anaerobe*. 2015. Vol. 34. P. 14–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.002>.
13. Shi L. H., Balakrishnan K., Thiagarajah K., Mohd Ismail N. I., Yin O. S. Beneficial properties of probiotics. *Tropical Life Sciences Research*. 2016. Vol. 27, iss. 2. P. 73–90. DOI: <https://doi.org/10.21315/tlsr2016.27.2.6>.
14. Gujvinska S. O., Paliy A. P., Dunaeva O. V., Paliy A. P., Berezhna N. V. Biotechnology production of medium for cultivation and lyophilization of lactic acid bacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, iss. 2. P. 5–11. URL: <https://www.ujecology.com/articles/biotechnology-production-of-medium-for-cultivation-and-lyophilization-of-lactic-acid-bacteria.pdf>.
15. Abdelhamid A. G., El-Masry S. S., El-DougDoug N. K. Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains possess safety characteristics, antiviral activities and host adherence factors revealed by genome mining. *The EPMA Journal*. 2019. Vol. 10, iss. 4. P. 337–350. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13167-019-00184-z>.
16. Davani-Davari D., Negahdaripour M., Karimzadeh I., Seifan M., Mohkam M., Masoumi S. J., Berenjian A., Ghasemi Y. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods (Basel, Switzerland)*. 2019. Vol. 8, iss. 3. P. 92. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8030092>.
17. Brosseau C., Selle A., Palmer D. J., Prescott S. L., Barbarot S., Bodinier M. Prebiotics: mechanisms and preventive effects in allergy. *Nutrients*. 2019. Vol. 11, iss. 8. P. 1841. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11081841>.
18. Paliy A. P., Gujvinska S. A., Livoshchenko L. P., Kytaieva D. V., Opanasenko Y. M., Tymoshenko R. Y., Shvets O. G., Kushnir V. Y., Anforova M. V., Paliy A. P. Influence of various prebiotic components on the main growth indicators of probiotic bacteria. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2021. Vol. 11, iss. 3. P. 231–239. URL: <https://www.ujecology.com/articles/influence-of-various-prebiotic-components-on-the-main-growth-indicators-of-probiotic-bacteria.pdf>.

**STUDY OF THE STABILITY OF THE MAIN INDICATORS OF PROBIOTIC CULTURES
LACTOBACILLUS PLANTARUM No. 7 AND BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS No. 17
IN THE BACTERIAL MIXTURE DURING STORAGE**

Guzhvyńska S. O., Paliy A. P., Kornieikov O. M.

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

The article presents the results of studying the stability of the main indicators of probiotic cultures *Lactobacillus plantarum* No. 7 and *Bifidobacterium adolescentis* No. 17 as part of a bacterial mixture during storage. The prebiotic component lactulose was added to the bacterial mixture at a concentration of 1.5%. The stability of the synbiotic bacterial mixture in vials and capsules when stored under appropriate conditions (in a place protected from light, at a temperature of 4–8°C) has been studied. Experiments have shown that the preservation of the liquid form of the bacterial mixture with the addition of a prebiotic component at a temperature of 4–8°C is possible for one month without a decrease in activity indicators, and for lyophilized form — for 12 months

Keywords: prebiotic, lactulose, lyophilisate

УДК 619:616.98-076:579.882.11:577.2.08:602.64

DOI [10.36016/VM-2021-107-13](https://doi.org/10.36016/VM-2021-107-13)

**РОЗРОБЛЕННЯ ТА ВАЛІДАЦІЯ ПОЗИТИВНОГО ПЛАЗМІДНОГО
КОНТРОЛЮ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ХЛАМІДІЙ
У ПОЛІМЕРАЗНІЙ ЛАНЦЮГОВІЙ РЕАКЦІЇ У ФОРМАТІ РЕАЛЬНОГО ЧАСУ**

Паєлов С. Л.

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

Дослідження присвячені конструюванню та випробуванню плазмідного позитивного контролю для проведення полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу з метою детекції генома хламідій. Було клоновано ділянку оперона 16s–23s рибосомальної РНК хламідій довжиною 142 п. н і лігровано до відкритого плазмідного вектора pTZ19R, після чого

отриманою конструкцією було трансформовано компетентні клітини *E. coli*. Наявність вставки контролювалось ампіциліновою селекцією клонів та за допомогою ПЛР. Ефективність застосування отриманої конструкції, копійність якого дорівнювала $7,65 \times 10^{10}$ молекул ДНК в 1 мкл, доводили шляхом установлення кореляції значень показнику *St* з кількістю ДНК у досліджуваному зразку. Випробування серії кратних розведень позитивного плазмідного контролю з концентраціями від 10^1 до 10^7 копій ДНК в 1 мкл в ПЛР у форматі реального часу було побудовано лінію регресії ($R^2 = 0,993$)

Ключові слова: ДНК, *Chlamydia*, pTZ19R

Захворювання, спричинені представниками родини Chlamydiaceae, протягом тривалого часу були поза увагою клініцистів через потребу в особливих лабораторних умовах для виявлення цієї групи внутрішньоклітинних збудників. Поступово більш детальні вивчення хламідій виявили їхню здатність легко змінювати господаря, а більшість з них можуть передаватися від тварин до людини [1]. Для сільськогосподарських тварин та птиці актуальними збудниками хламідіозів вважаються *Ch. psittaci*, *Ch. abortus*, *Ch. pecorum*, *Ch. suis*, *Ch. felis* та *Ch. caviae*, які спричиняють кон'юнктивіти, риніти, пневмонію, мастит, плацентит, що призводить до абортів, мертворождення або появи слабкого молодняку, безпліддя й ентериту [2, 3]. Потрібно відмітити, що клінічні прояви хламідіозу не є патогномонічними та часто можуть вказувати на інфікування іншими збудниками, наприклад *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Coxiella* [4]. Тому важливо вчасно проводити диференціацію. Виділення культури хламідії дозволяє остаточно підтвердити діагноз на хламідіоз, проте облігатний внутрішньоклітинний паразитизм цього збудника вимагає тривалого культивування в курячих ембріонах або клітинних культурах, що потребує значних витрат. Тому з метою швидкого виявлення збудника існують чутливі та швидкі тести, зокрема полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) [5, 6]. Останнім часом лабораторії ветеринарної медицини адаптували ПЛР у режимі реального часу, що значно скорочує час реакції та дозволяє визначати кількість копій генома в досліджуваному зразку.

Метою цього дослідження було створення простого, швидкого та надійного методу детекції ДНК представників роду *Chlamydia* у різних клінічних зразках на основі ПЛР у режимі реального часу.

Матеріали та методи. Для отримання позитивного плазмідного контролю була напрацьована в ПЛР ділянка оперона 16s–23s рибосомальної РНК хламідій довжиною 142 п. н., що фланкується послідовностями прамерів Chlam_F 5'-CATAAGGGCCATGCTGACTTGA-3' і Chlam_R 5'-GCCGTGAGGTGTTGGGTAAAGT-3', з подальшим виділенням амплікона з гелю за допомогою комерційного набору «GeneJet Gel Extraction kit» відповідно до інструкції виробника. Як матрицю використовували ДНК *Ch. abortus* S26/3. На наступному етапі отриманий продукт ампліфікації вбудовували до плазмідного вектора pTZ19R шляхом лігування з використанням комерційного набору «Ins TA clone PCR Cloning Kit» за інструкцією виробника. З метою клонування отриманої конструкції її використовували для трансформації хімічно компетентних клітин *E. coli* штаму DH5α, які потім висівали LB-агаром з додаванням ампіциліну (100 мкг/см^3) та інкубували за температури 37°C впродовж 16 год.

З метою селекційного відбору стійких до ампіциліну колоній кишкової палички до середовища додавали IPTG (50 мг/см^3) та X-Gal (50 мг/см^3), після чого обирали для подальших досліджень лише білі колонії. Правильність трансформації клітин *E. coli* визначали за допомогою ПЛР з використанням системи праймерів Chlam_F і Chlam_R. На завершальному етапі напрацьовували бактеріальну масу трансформованих плазмідною клітин *E. coli* у 50 см^3 рідкого LB середовища та виділяли плазмідну ДНК за допомогою комерційного набору «Plasmid Miniprep Kit» згідно з інструкцією виробника.

Сумарну ДНК виділяли сорбентним методом з використанням DNeasyMiniSpincolumn. Сумарна кількість виділеного генетичного матеріалу вимірювали за допомогою спектрофотометру DeNovix за довжини хвилі 230–280 нм. Розрахунок кількості копій плазмідної ДНК в 1 мкл (N) проводили за формулою:

$$N = \frac{A \times 6,022 \times 10^{23}}{B \times 1 \times 10^9 \times 660}$$

де: A — вихідна концентрація ДНК, нг/мкл;
B — довжина плазмідної ДНК, п. н.

Виходячи з отриманої концентрації, готували серію послідовних розведень очищених плазмід у концентраціях від 10^7 до 10^1 копій у 5 мкл, які досліджували за допомогою ПЛР у реальному часі. Для визначення кореляції показника C_t з кількістю копій ДНК у зразку проводили вимірювання показників лінійності та ефективності методики. Для цього було визначено рівень сигналу флюоресценції в послідовних розведеннях, після чого на підставі отриманих даних була побудована лінія регресії, за якою проводився розрахунок коефіцієнта кореляції ($R^2 \geq 0,98$). Полімеразну ланцюгову реакцію у режимі реального часу проводили з використанням реактивів виробництва фірми Applied Biosystems (AmpliAq Gold) згідно з інструкцією виробника (табл. 1).

Таблиця 1 — Склад реакційної суміші для проведення ПЛР-РЧ

Назва компонента	Об'єм на 1 реакцію, мкл
10-кратний ПЛР-буфер	2,5
25мМ Mg^{2+}	1,5
dNTP	0,5
праймери <i>Chlam_F/R</i>	по 1,0 кожного
зонд <i>Chlam_Probe</i> (FAM)	0,5
Taq-полімераза, 5 од/мкл	0,13
стерильна H_2O , вільна від нуклеаз, для ПЛР	до 20

Готовий мастермікс вносили у пластикові пробірки типу Eppendorf. Як негативний контрольний зразок використовували 5 мкл стерильної деіонізованої води, а як позитивний — 5 мкл розчину ДНК референтного штаму *Ch. abortus* S26/3. Також використовували обладнання Fast 7500 Real-time PCR system за протоколом, наведеним у табл. 2.

Таблиця 2 — Режими ампліфікації для детекції генетичного матеріалу *Chlamydia* spp.

Назва етапу	Режим	Кількість циклів
Початкова денатурація	95 °C — 5 хв	1
Денатурація	95 °C — 15 с	40
Відпал	60 °C — 20 с	
Елонгація	72 °C — 40 с	

Результати досліджень. З метою підтвердження правильності постановки ПЛР під час дослідження клінічних зразків щодо вмісту генетичного матеріалу хламідій необхідно мати стабільний і специфічний позитивний контроль. Останнім часом все більше як позитивний контроль використовується не екстрагована безпосередньо з культури збудника ДНК, а сконструйовані за допомогою біоінженерних рекомбінантних плазмід, які у своєму складі містять відповідні специфічні ділянки генома патогена. Це дозволяє більш точно стандартизувати такі зразки та за необхідності синтезувати відповідну кількість контролів, маючи законсервовану культуру рекомбінантних клонів *E. coli*, які є трансформованими вищезазначеними плазмідними конструкціями. Тому на наступному етапі досліджень було сконструйовано плазмідний вектор pTZ19R, який містить вставку довжиною 142 п. н., що фланкується праймерами *Chlam_F* і *Chlam_R*, розробленими на попередньому етапі. Сконструйована плазміда довжиною 2 969 п. н. була трансформована до компетентних клітин *E. coli* DH5α (рис. 1).

Треба відмітити, що комерційний вектор pTZ519R має у своєму складі ген стійкості до ампіциліну та ген *lacZ*, що дає змогу проводити селекцію колоній *E. coli* DH5α, які з більшою долею вірогідності мають у своєму складі специфічну вставку. Після проведення трансформації з використанням ІПТГ та X-Gal у поживному середовищі для перевірки клонів методом ПЛР було відібрано чотири поодинокі білі колонії *E. coli*, які були виявлені на агаровому середовищі у чашках Петрі після інкубування. Перевірку проводили з використанням специфічних праймерів *Chlam_F* і *Chlam_R* (рис. 2).

За підсумками проведеної реакції всі колонії показали наявність специфічного амплікона, що дозволило їх обрати для подальших досліджень, а саме було напрацьовано бактеріальну масу в об'ємі 50 см³ і за допомогою комерційного набору виділено плазмідну ДНК.

Отже, було сконструйовано плазмиду pTZ19F_Chla зі вставкою ділянки оперона 16s–23s рибосомальної РНК хламідій довжиною 142 п. н., якою трансформували ампіцилін-резистентну кишкову паличку, що дає можливість використовувати її як позитивний контроль для детекції генетичного матеріалу збудників хламідіозу методом ПЛР у режимі реального часу.

З метою розроблення ефективного протоколу проведення ПЛР у реальному часі проводили оптимізацію реакції за показниками концентрації праймерів та зонда, підбору температури відпалу, а також визначення концентрації іонів магнію.

На першому етапі проводили серію експериментів для встановлення оптимальної концентрації праймерів. Для цього проводили ПЛР з концентрацією олігонуклеотидів у діапазоні від 0,1 до 0,6 мкМ з шагом 0,1. При цьому враховували найнижчі стандартні відхилення показників флуоресценції між трьома повторами.

За результатами титрування праймерів та зонда оптимальні показники були в межах 0,4–0,5 мкМ та 0,2–0,3 мкМ відповідно.

Було також встановлено, що оптимальна температура відпалу праймерів є в межах від 60 до 62 °С. Для визначення оптимальної концентрації іонів магнію готували реакційну суміш з таким вмістом розчину $MgCl_2$ — від 0,5 до 5 мкМ з кроком 0,5 мкМ. Найвищий рівень флуоресценції спостерігався в межах від 2 до 3 мкМ. Концентрацію *Taq*-полімерази та dNTP було обрано за рекомендацією виробника.

З метою встановлення кореляції значень показника *St* з кількістю ДНК у досліджуваному зразку було проаналізовано лінійність та ефективність запропонованої методики.

Для цього проводили оцінку рівнів флуоресценції у стандартних кратних розведеннях зразків рекомбінантного плазмідного контролю pTZ19F_Chla. Спочатку вираховували його копійність, яка дорівнювала $7,65 \times 10^{10}$ в 1 мкл. Потім готували серію кратних розведень плазмиди з концентраціями від 10^1 до 10^7 копій ДНК в 1 мкл та проводили ПЛР у форматі реального часу. За результатами цих випробувань було побудовано лінії регресії та розраховано R^2 — коефіцієнт кореляції, який дорівнював 0,993 (рис. 3).

Ці результати свідчать про пряму залежність сигналу флуоресценції від ступеня розведення ДНК, тобто дана методика є високоефективною, а отриманий результат — прямо пропорційним концентрації зразка.

Таким чином, створено методику проведення реакції ампліфікації у форматі реального часу з використанням розроблених праймерів Chlam_F і ChlamR та зонда Chlam_probe з порогом чутливості 10 копій ДНК хламідій в 1 мкл.

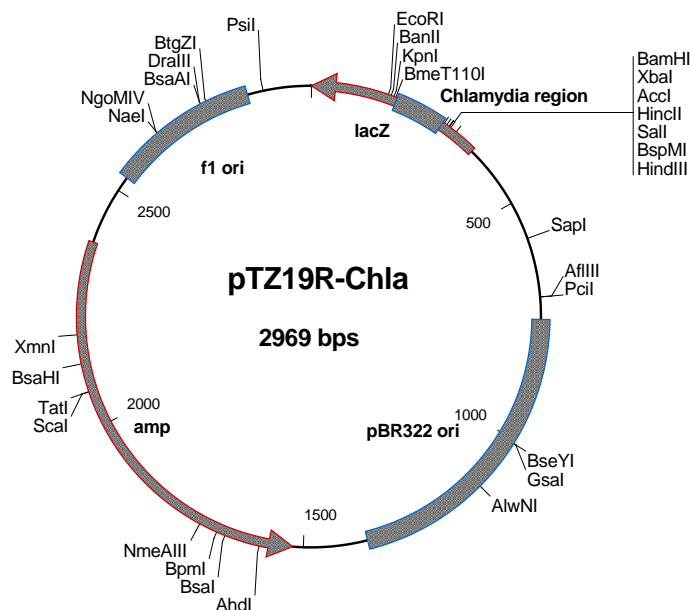


Рис. 1. Схематичне зображення будови позитивного плазмідного контрольного зразка pTZ19F-Chla для детекції генетичного матеріалу збудників хламідіозу методом ПЛР.

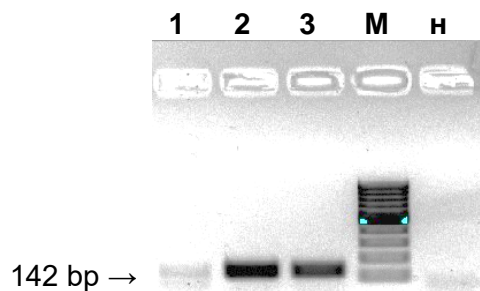


Рис. 2. Електрофореграма результатів ампліфікації отриманих клонів *E. coli*, трансформованих плазмидою pTZ19F-Chla: M — маркер молекулярної маси, 1 — негативний клон; 2, 3 — позитивні клони, n — негативний контроль реакції.

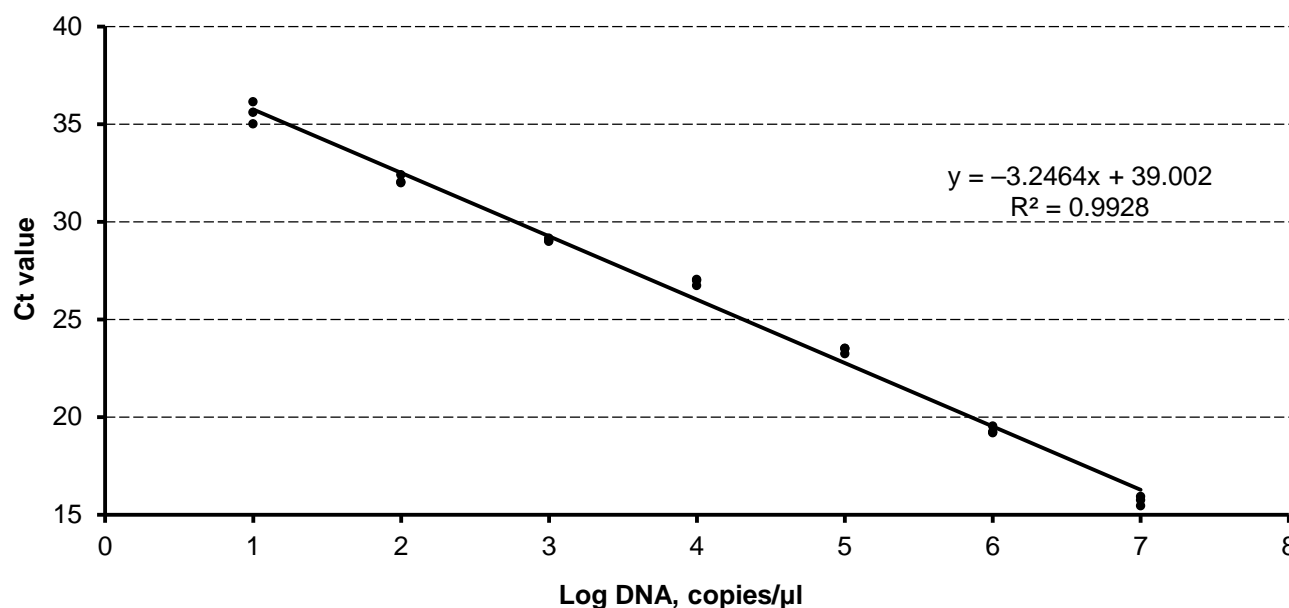


Рис. 3. Калібрувальний графік результатів проведення ПЛР у форматі реального часу для виявлення генетичного матеріалу *Chlamydia* spp. за допомогою послідовних десятикратних розведень зразків плазмідного позитивного контролю pTZ19F-Chla у трьох повтореннях.

Висновки. Проведені дослідження дозволили отримати позитивний плазмідний контроль pTZ19F-Chla, а також трансформовану культуру *E. coli*, що є джерелом таргентної ділянки оперона 16s–23s рибосомальної РНК хламідій довжиною 142 п. н. для його застосування в ПЛР в режимі реального часу. Випробування отриманого контролю показало його придатність для проведення реакції ампліфікації.

Список літератури

1. Elwell C., Mirrashidi K., Engel J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. *Nature Reviews. Microbiology*. 2016. Vol. 14, iss. 6. P. 385–400. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.30>.
2. Borel N., Polkinghorne A., Pospischil A. A review on chlamydial diseases in animals: still a challenge for pathologists? *Veterinary Pathology*. 2018. Vol. 55, iss. 3. P. 374–390. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985817751218>.
3. Cheong H. C., Lee C. Y. Q., Cheok Y. Y., Tan G. M. Y., Looi C. Y., Wong W. F. Chlamydiaceae: diseases in primary hosts and zoonosis. *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, iss. 5. P. 146. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050146>.
4. Vidal S., Kegler K., Greub G., Aeby S., Borel N., Dagleish M. P., Posthaus H., Perreten V., Rodriguez-Campos S. Neglected zoonotic agents in cattle abortion: tackling the difficult to grow bacteria. *BMC Veterinary Research*. 2017. Vol. 13, iss. 1. P. 373. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1294-y>.
5. Lienard J., Croxatto A., Aeby S., Jaton K., Posfay-Barbe K., Gervais A., Greub G. Development of a new chlamydiales-specific real-time PCR and its application to respiratory clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011. Vol. 49, iss. 7. P. 2637–2642. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00114-11>.
6. Rohde G., Straube E., Essig A., Reinhold P., Sachse K. Chlamydial zoonoses. *Deutsches Arzteblatt International*. 2010. Vol. 107, iss. 10. P. 174–180. DOI: <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0174>.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A POSITIVE PLASMID CONTROL FOR DETECTION OF CHLAMYDIA GENETIC MATERIAL IN REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

Pavlov S. L.

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

The studies was devoted to the construction and testing of a plasmid positive control for real-time polymerase chain reaction to detect the chlamydia genome. A 142-bp region of 16s–23s rRNA operon of the chlamydia was cloned and ligated to the open plasmid vector pTZ19R, and competent *E. coli* cells were transformed with the resulting construct. The presence of the insert was monitored by ampicillin selection of clones and by PCR. The effectiveness of the application of the obtained structure, the copy number of which was equal to 7.65×10^{10} DNA molecules per μl , was proven by establishing the correlation of the values of the Ct to the amount of DNA in the sample. Testing a series of multiple dilutions of a positive plasmid control with concentrations from 10^1 to 10^7 DNA copies per μl in real-time PCR, a regression line was constructed ($R^2 = 0.993$)

Keywords: DNA, Chlamydia, pTZ19R

6. ІМУНОЛОГІЯ ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

УДК 619:612.017.12:577.1.08:636.5.087.69:638.221.6

DOI 10.36016/VM-2021-106-14

ДИНАМІКА ФАКТОРІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПТИЦІ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ НА ОСНОВІ ЛЯЛЕЧКИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

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

Метою дослідження було визначити направленість та вираженість впливу розроблюваної кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на неспецифічний гуморальний імунітет птиці. Дослідження виконували на курчатах-бройлерах добового віку, яких утримували у стандартних умовах віварію. Птиці першої групи задавали добавку зранку, змішуючи з комбікормом із розрахунку 3,0 см³/кг живої ваги. Друга група була контрольною. На 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби по 5 голів птиці з кожної групи еутаназовано та відібрано кров для клініко-біохімічних досліджень. У сироватці крові птиці визначали рівень загального білка, альбумінів, глобулінів, концентрацію циркулюючих імунних комплексів середньої молекулярної маси та серомукоїдів загальноприйнятими методами. Установлено, що застосування спричиняє підвищення концентрації гемоглобіну до 16,0 % та незначну активацію еритропоезу, підвищення рівня гуморального імунітету, про що свідчить підвищення глобулінів до 12,2 % та циркулюючих імунних комплексів до 30,7 %, а також пригнічення синтезу серомукоїдів на 15,4 %. Виявлений позитивний ефект кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на стан природної резистентності можна розцінювати як один з чинників підвищення середньодобового приросту маси тіла курчат на 39,0 % у перші 7 днів життя, а наприкінці досліду — на 5 %

Ключові слова: імунорезистентність, клініко-біохімічні показники

З кожним роком в Україні стає все більш популярним вирощування та виробництво екологічно чистих продуктів харчування та кормових добавок. З початку ХХІ століття ринок органічної продукції в Україні швидко розвивається. Виробництво екологічно чистої продукції можливе за умов відсутності застосування синтетичних мінеральних добрив, пестицидів, використання антибіотиків і кормових добавок [1]. Постає питання пошуку альтернативних джерел біологічно активних речовин природного походження, якими, зокрема, можуть бути відходи шовківництва — лялечки шовковичного та дубового шовкопрядів. Поживні та біологічно активні речовини, які містить лялечка шовкопряда, можуть використовуватись для профілактики та лікування хвороб тварин, а також для підвищення природної резистентності організму тварин [2–5]. У науковій літературі [1, 6] є дані щодо застосування екстракту лялечки дубового шовкопряда у тваринництві (свині, телиці), які підвищують інтенсивність росту та резистентність організму тварин. В останні роки з'явилась низка публікацій [4, 5, 7] щодо вивчення механізмів впливу екстрактів з відходів шовковичного виробництва (лялечки, фекалії) на організм тварин. У той же час у доступній нам літературі відсутні дані щодо біологічного впливу лялечки шовкопряда на гематологічні та біохімічні показники крові тварин.

У зв'язку з цим **метою** дослідження було визначити направленість і вираженість впливу розроблюваної кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда (КД ЛШШ) на неспецифічний гуморальний імунітет птиці.

Матеріали та методи. Дослід проведено на курчатах-бройлерах добового віку. Сформовано 2 групи курчат-аналогів. Птиці першої групи задавали добавку зранку, змішуючи з комбікормом із розрахунку 3,0 см³/кг живої ваги. Друга група — контроль. Упродовж досліду птицю зважували та вели спостереження за клінічним станом. Дослід тривав 48 днів. На початку досліду та на 7-му, 14-ту, 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби птицю зважували. На 20-ту, 27-му,

34-ту та 48-му доби по 5 голів птиці з кожної групи було еутаназовано та відібрано кров для клініко-біохімічних досліджень.

Для визначення показників неспецифічного гуморального імунітету птиці за згодовування кормової добавки на основі лялечки шовкопряда у сироватці крові птиці визначено рівень загального білка, альбумінів, глобулінів, концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Ю. А. Гриневича шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ-6000 і серомукоїдів — спектрофотометрично за різницею екстинкцій за довжин хвилі 260 та 280 нм [8, 9].

Цифрові дані обробляли біометрично загальноприйнятими методами статистики із застосуванням *t*-критерію Стюдента та використанням комп'ютерних програм Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA) і Microsoft Excel 2007. При цьому порівнювали показники дослідної та контрольної груп у відповідні терміни дослідження.

Результати досліджень. Щоденний огляд птиці дослідної та контрольної груп показав, що клінічний стан курчат був задовільний: птиця рухлива, апетит збережений протягом усього досліді, ріст та розвиток відповідав нормативним показникам. Рівень збереженості курчат в обох групах складав 100 %. Аналіз результатів, отриманих за задавання препарату на основі лялечки шовковичного шовкопряда курчатам підтверджує, що він чинить позитивний вплив на приріст маси тіла птиці (табл. 1).

Таблиця 1 — Маса курчат-бройлерів за дії кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда, г ($M \pm m$, $n = 5$)

Доба досліді	Дослідна група	Контрольна група	Відмінність маси курчат упродовж досліді, % від контролю
1	42,4 \pm 0,25	46,5 \pm 0,24	-8,8
7	164,0 \pm 1,1*	118,0 \pm 1,0	+39,0
14	411,0 \pm 3,8*	312,6 \pm 2,2	+31,7
20	845,7 \pm 3,0*	753,3 \pm 5,0	+12,3
27	1415,0 \pm 9,0*	1350,0 \pm 6,6	+4,8
34	2185,0 \pm 15,5*	1808,0 \pm 18,3	+20,8
48	2963,0 \pm 29,0*	2822,0 \pm 22,0	+5,0

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Так, починаючи з 7-ї доби дослідження реєстрували підвищення ($p \leq 0,05$) середньої живої ваги курчат дослідної групи на 39,0, 31,7, 12,3, 4,8, 20,8 та 5,0 % протягом всього терміну спостережень (на 7-му, 14-ту, 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби відповідно) у порівнянні з контролем. При цьому необхідно зазначити, що впродовж досліді середня маса тіла птиці дослідної групи збільшилась у 69,9 раза, тоді як у курчат контрольної групи — у 60,7 раза.

Під час розтину у птиці, якій задавали КД ЛШШ, уражень шлунково-кишкового тракту та внутрішніх органів не виявлено (рис.).

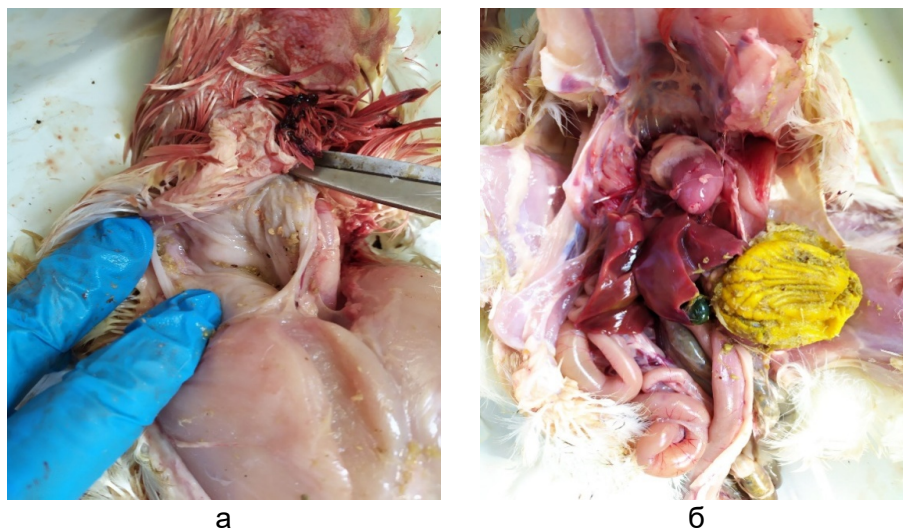


Рис. Стан внутрішніх органів за розтину птиці дослідної групи: а) волю; б) внутрішні органи та мускульний шлунок.

Аналізуючи дані табл. 2, слід відмітити, що вміст загального білка сироватки крові птиці дослідної групи на початку досліду (27-ма доба) був підвищений на 4,0 %, а на 34-ту та 48-му доби реєстрували його зниження на 6,0 та 3,5 % відповідно, що свідчить про незначний вплив КД ЛШШ на цей показник.

Таблиця 2 — Динаміка маркерів неспецифічного імунітету курчат-бройлерів за дії кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Доба досліду	Дослідна група	Контроль	Показники	Доба досліду	Дослідна група	Контроль
Загальний білок, г/л	20	29,3 \pm 0,9	29,5 \pm 0,4	Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	20	1,02 \pm 0,001*	1,15 \pm 0,010
	27	33,4 \pm 1,4	32,1 \pm 0,9		27	0,81 \pm 0,009*	0,96 \pm 0,009
	34	29,7 \pm 0,3	31,6 \pm 0,6		34	0,93 \pm 0,001*	0,99 \pm 0,004
	48	41,6 \pm 1,4	43,1 \pm 0,7		48	0,42 \pm 0,004*	0,44 \pm 0,001
Альбуміни, г/л	20	14,8 \pm 0,8	15,8 \pm 0,3	Циркулюючі імунні комплекси, мг/мл	20	0,15 \pm 0,001*	0,13 \pm 0,002
	27	15,0 \pm 1,4	15,7 \pm 1,4		27	0,28 \pm 0,003*	0,26 \pm 0,001
	34	14,3 \pm 0,5	15,7 \pm 0,8		34	0,29 \pm 0,007*	0,23 \pm 0,007
	48	12,4 \pm 0,4	13,3 \pm 1,1		48	0,17 \pm 0,006*	0,13 \pm 0,001
Глобуліни, г/л	20	14,5 \pm 1,1	13,7 \pm 0,6	Серомукоїди, мг/мл	20	0,40 \pm 0,001*	0,44 \pm 0,001
	27	18,4 \pm 1,0	16,4 \pm 0,6		27	0,38 \pm 0,001*	0,43 \pm 0,002
	34	15,3 \pm 0,8	15,8 \pm 1,4		34	0,40 \pm 0,007*	0,43 \pm 0,003
	48	29,2 \pm 0,4	29,8 \pm 0,8		48	0,11 \pm 0,001*	0,13 \pm 0,001

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Упродовж 48 діб дослідження встановлено тенденцію до зменшення вмісту альбуміну (у середньому на 7,3 %). Уміст глобулінів у сироватки крові курчат дослідної групи, навпаки, був підвищеним на 5,8 та 12,2 % на 20-ту та 27-му доби відповідно, а наприкінці дослідження цей показник був у межах значень середнього показника контрольної групи.

Упродовж тривалого терміну дослідження (48 діб) впливу кормової добавки на основі ЛШШ спостерігали вірогідне ($p \leq 0,05$) зменшення альбумін-глобулінового коефіцієнту на 11,3, 15,6, 6,1 та 4,5 % на 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби відповідно. Аналізуючи дані щодо рівня циркулюючих імунних комплексів, слід підкреслити вірогідне його підвищення на 15,4, 7,7, 26,1 та 30,7 % відповідно у сироватці крові курчат дослідної групи протягом усього експерименту (табл. 2). Протилежна динаміка відмічалась щодо вмісту серомукоїдів: вірогідне зниження рівня до 9,1, 11,6, 7,0 та 15,4 % відповідно.

Ураховуючи біологічну роль маркерів уродженого імунітету [2, 10], динаміка яких вивчалась, можна констатувати, що застосування КД ЛШШ забезпечує підвищення рівня факторів неспецифічного імунітету (глобуліни, ЦІК) та зниження маркерів імуносупресії (Sm) в організмі курчат.

Отримані нами результати співпадають з даними сучасних наукових літературних джерел щодо вивчення біологічної дії екстрактів відходів шовковиробництва. Так, було встановлено, що екстракт з лялечки шовкопряда знижує активність запальних процесів за рахунок зниження продукування прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-4 TNF- α) та активізації протизапального Th-1–опосередкованого IL-21 у мишей [5]. Екстракт фекалій шовкопряда регулював метаболізм заліза шляхом інгібування гепсидину і одночасно стимулював синтез еритропоєтину для лікування ниркової анемії у щурів [7]. При дослідженні білкового складу лялечок шовковичного шовкопряда встановлено значну кількість класів білків, зокрема ферментів, які представляють великий інтерес для фармацевтичної промисловості, зокрема для застосування за серцево-судинних захворювань [4]. Автори роблять висновок про перспективність застосування лялечок шовковичного шовкопряда також як джерела високоцінних білків у «зеленій» та «відновлювальній» промисловості.

Висновки. 1. Застосування кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда дозволяє підвищити рівень неспецифічного гуморального імунітету курчат, про що свідчить посилення експресії таких її маркерів як глобуліни на 12,2 %, циркулюючих імунних комплексів — до 30,7 %, а також пригнічення синтезу серомукоїдів на 15,4 %.

2. Виявлений позитивний ефект кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на стан природної резистентності можна розцінювати як один із чинників підвищення середньодобового приросту маси тіла курчат на протязі досліду на 39,0 % у перші 7 днів життя.

Список літератури

1. Чиркин А. А., Коваленко Е. И., Шейбак В. М., Смирнов В. Ю., Дорошенко Е. М., Надольник Л. И., Паршонок Д. И., Денисова С. И. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.). Учёные записки УО «Витебский государственный университет им. П. М. Машерова». 2007. Т. 6. С. 248–266. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22843963>.
2. Петров Р. В. Иммунология. Москва : Медицина, 1982. 368 с.
3. Болотников И. А., Конопатов Ю. В. Практическая иммунология сельскохозяйственных птиц. Санкт-Петербург : Наука, 1993. 204 с. ISBN: 5020258164.
4. Altomare A. A., Baron G., Aldini G., Carini M., D'Amato A. Silkworm pupae as source of high-value edible proteins and of bioactive peptides. *Food Science & Nutrition*. 2020. Vol. 8, iss. 6. P. 2652–2661. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1546>.
5. Choi D. W., Kwon D. A., Jung S. K., See H. J., Jung S. Y., Shon D. H., Shin H. S. (2018). Silkworm dropping extract ameliorate trimellitic anhydride-induced allergic contact dermatitis by regulating Th1/Th2 immune response. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2018. Vol. 82, iss. 9. P. 1531–1538. DOI: <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1475210>.
6. Кочергин Б. Н., Степанова Н. А., Толкачёва Т. А., Чиркин А. А. Характеристика жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда. *Вестник Віцебського державного університету*. 2012. № 4(70). С. 28–36. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17891574>.
7. Mei H., Wu N., Huang X., Cui Z., Xu J., Yang X., Zeng F., Wang K. Possible mechanisms by which silkworm faeces extract ameliorates adenine-induced renal anaemia in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. Vol. 266. P. 113448. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113448>.
8. Покровский А. А., ред. Биохимические методы исследований в клинике. Москва : Медицина, 1969. 652 с.
9. Меньшиков В. В., ред. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва : Медицина, 1987. 90 с.
10. Коваленко Л. В. Стан вродженого імунітету овець за експериментального лімфлейкозу та застосування засобів його специфічної профілактики. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2018. Т. 6, № 2. С. 38–48. URL: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/177>.

DYNAMICS OF NON-SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY FACTORS IN POULTRY WHICH RECEIVED FEED SUPPLEMENT BASED ON SILKWORM PUPAE

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

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

The purpose of the study was to determine the focus and the intensity of the effect of the developed feed supplement based on the silkworm pupae on the nonspecific humoral immunity of poultry. The research was carried out on one-day-old broiler chickens, which were kept in standard vivarium conditions. The birds of first group were given the supplement in the morning, mixing with compound feed at the rate of 3.0 ml/kg of live weight. The second group was control. On the 20th, 27th, 34th and 48th days, 5 birds from each group were euthanized and blood was collected for clinical and biochemical studies. To determine the indicators of non-specific humoral immunity of birds after receiving feed supplement based on silkworm pupae in the blood serum of birds, the level of total protein, albumins, globulins, the concentration of circulating immune complexes of average molecular weight and seromucoids were determined by generally accepted methods. As a result of the use of a feed supplement based on silkworm pupae, there was determined an increase in the level of hemoglobin up to 16.0% and a slight activation of erythropoiesis, an increase in the level of humoral immunity, as evidenced by an increase in globulins up to 12.2% and circulating immune complexes up to 30.7%, and also inhibition of seromucoid synthesis by 15.4%. Thus, it has been concluded that the use of a feed supplement based on silkworm pupae allows to increase the level of non-specific humoral immunity of chickens, as evidenced by increased expression of its markers (globulins, circulating immune complexes), as well as inhibition of seromucoid synthesis. The revealed positive effect of the feed supplement based on silkworm pupae on the state of natural resistance can be considered as one of the factors of increasing the average daily weight gain of chickens by 39.0% in the first 7 days of life

Keywords: immune resistance, clinical and biochemical indicators

7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ

УДК 619:616.993/995-036.22:636.52/.58(477.52/.6)

DOI 10.36016/VM-2021-107-15

ВЗАЄМОЗАЛЕЖНІСТЬ І БІОРІЗНОМАНІТНІСТЬ ЗБУДНИКІВ ПАРАЗИТОЦЕНОЗІВ КИШКОВОГО КАНАЛУ КУРЕЙ СХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

Люлін П. В.

Державний біотехнологічний університет,
Харків, Україна, e-mail: liulinpetr@gmail.com

Богач М. В.

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

Зміни форм господарювання, концентрація поголів'я птиці на обмежених територіях призводять до порушення гомеостазу у біотопах і паразитарних системах. Метою досліджень було з'ясувати особливості поширення, біорізноманітність і взаємозалежність збудників паразитоценозів кишкового каналу курей східного регіону України. За результатами досліджень визначено біорізноманітність паразитоценозів кишкового каналу курей у птахогосподарствах східного регіону України. Виявлено 17 видів збудників, з них 10 видів найпростіших — представники типів Apicomplexa, Zoomastygophora та 7 видів гельмінтів: 5 видів — представники класу Nematoda, 2 види — класу Cestoda. Установлено вплив технологій вирощування та систем утримання курей на загальну інвазованість, біорізноманітність паразитоценозів, визначено видові індекси паразитоценозу (ВІП, %) та кореляційні взаємозалежності між компонентами паразитоценозів. За промислової технології вирощування курей у клітках паразитоценоз формували 6 видів еймерій (ВІП — 100 %, середня EI — 15,72 %); за утримання на глибокій незмінній підстилці в структурі паразитоценозу частка еймеріозу у ВІП становила 87,72 %, аскаридіозу — 12,28 %. За традиційної екстенсивної технології вирощування курей з використанням вигулів і випасів (фермерські та підсобні господарства) загальна інвазованість курей становила 64,07 %. У паразитоценозі кишкового каналу у курей встановлено взаємозв'язки між збудниками — високий рівень кореляції між еймеріозом, гістомонозом, трихоманозом і гельмінтозами (0,718–0,944) та між гістомонозом, аскаридіозом, гетеракозом і капіляріозом (0,975–0,998) і низький рівень кореляції між гістомонозом і трихоманозом (0,449), що свідчить про наявність синергетичних (високий рівень кореляції) і конкурентних (низький рівень кореляції) взаємозв'язків між компонентами паразитоценозів кишкового каналу

Ключові слова: найпростіші, гельмінти

Продукти птахівництва — м'ясо та яйця є важливими у продовольчому забезпеченні населення. Однак їх отриманню значною мірою перешкоджають інвазійні хвороби особливо кишкового каналу, які характеризуються погіршенням загального стану курей, зниженням апетиту, розладами травлення, схудненням, відставанням у рості та розвитку, зниженням продуктивності, загибеллю молодняка і завдають значних економічних збитків галузі [1–7].

Дослідження літературних джерел останніх років свідчать про значне поширення паразитарних захворювань кишкового каналу курей, особливо у фермерських та особистих підсобних господарствах як в Україні, так і за кордоном [2, 3, 5–9], разом з цим дослідники зазначають про зміни епізоотичної ситуації та перебіг інвазії, які частіше реєструються у вигляді змішаних та асоційованих [7, 10, 11].

Багатогранність біорізноманітності (понад 150 видів збудників) і одночасне паразитування у кишковому каналі курей різних видів збудників в окремих біоценозах здатні формувати паразитоценози та утворювати паразитарні системи з відповідними взаємозв'язками та

взаємодією збудників між собою і організмом живителя в цілому. Проте питання взаємодії і формування взаємозв'язків між співчленами в паразитоценозах кишкового каналу, представниками найпростіших, гельмінтів та їхнє поєднання залишаються недостатньо дослідженими.

Метою роботи було дослідити поширення, біорізноманітність паразитофауни паразитоценозів кишкового каналу курей східного регіону України, що передбачало визначення видової належності збудників, компонентів паразитоценозів кишкового каналу курей та їхніх кореляційних взаємозв'язків.

Матеріали та методи. Дослідження курей проводили в господарствах східного регіону України з інтенсивною промисловою (птахофабрики: філія «Голден кросс» ТОВ «Курганський бройлер», приватний науково-виробничий комплекс (ПНВК) «Інтербізнес» Харківської області), екстенсивною (фермерські, особисті, підсобні господарства) технологіями утримання і вирощування птиці (Харківська, Сумська, Полтавська, Донецька області) та в лабораторії кафедри паразитології Харківської державної зооветеринарної академії (нині — Державного біотехнологічного університету) впродовж 2015–2021 рр.

У процесі роботи користувались епізоотологічним, клініко-паразитологічними, копроскопічними, математично-статистичними методами досліджень.

Матеріалом досліджень слугували фекалії, які відбирали методом випадкової вибірки з підлоги безпосередньо після дефекації та індивідуально з клоаки. Проби фекалій досліджували методами нативного мазка, висячої та роздавленої краплі, стандартизованим методом Фюллеборна [12]. Основними показниками при цьому були екстенсивність інвазії (EI, %), індекс зараженості (ІЗ), видовий індекс паразитоценозу (ВІП, %) [13].

Індекс зараженості (ІЗ) визначали за формулою (1):

$$ІЗ = \frac{EI}{n} \quad (1)$$

де: EI — екстенсивність інвазії;

n — кількість виявлених видів збудників.

Видовий індекс паразитоценозу (ВІП, %) розраховували за формулою (2):

$$ВІП = \frac{ІЗ_{\text{вид}}}{\sum ІЗ_{1-n}} \times 100\% \quad (2)$$

де: $\sum ІЗ_{1-n}$ — сума індексів зараженості компонентами паразитоценозу;

$ІЗ_{\text{вид}}$ — індекс зараженості окремим видом збудника.

Видову належність збудників встановлювали за результатами досліджень морфології овоскопічних елементів при малому збільшенні ($\times 80$; $\times 100$) мікроскопу та за допомогою визначників спеціальних атласів диференціальної діагностики [14–17].

Посмертну діагностику проводили за результатами гельмінтологічних розтинів за методом К. І. Скрябіна [18]. Зібраних нематод консервували у рідині Барбагало, а цестод — у 70 ° етиловому спирті. Видову належність гельмінтів визначали за морфологічною будовою: нематод після просвітлення у молочній кислоті з гліцерином, а цестод — після фарбування молочнокислим карміном. Диференціацію онкосфер цестод (райєтин, давеній) проводили згідно з методикою М. В. Богача зі співавт. [19]. Дослідження взаємозв'язків між збудниками встановлювали шляхом обчислення ступеня кореляції.

Статистичну обробку (кореляційний, двофакторний аналіз) проводили за допомогою програмного забезпечення MS Excel [20].

Результати досліджень та обговорення. Аналіз отриманих і статистично опрацьованих матеріалів копроскопічних досліджень показав, що в птахогосподарствах за інтенсивної промислової (в клітках, на глибокій незмінній підстилці) та екстенсивної (з використанням вигулів та пасовищ), технологій вирощування курей інвазійні хвороби кишкового каналу мають широке поширення, про що вказують й інші дослідники [6–8, 10, 18].

Біорізноманітність збудників інвазій кишкового каналу у фермерських господарствах Сходу України за традиційної технології вирощування курей представлена 10 видами найпростіших типів Apicomplexa та Zoomastigophora, 7 видами гельмінтів класів Cestoda, Secernentea та Adenophorea, з яких, у тому числі 5 видами нематод та 2 видами цестод:

1. *Eimeria accervulina* (Tyzzer, 1929)
2. *Eimeria maxima* (Tyzzer, 1929)
3. *Eimeria tenella* (Raillet et Lucet, 1891)
4. *Eimeria necatrix* (Johnson, 1930)
5. *Eimeria praecox* (Johnson, 1930)
6. *Eimeria brunetti* (Levine, 1942)
7. *Eimeria mivati* (Edgar et Seibold, 1964)
8. *Eimeria mitis* (Tyzzer, 1929)
9. *Histomonos meleagridis* (Tyzzer, 1919)
10. *Trichomonos gallinae* (Rivolta, 1878)
11. *Ascaridia galli* (Schränk, 1788)
12. *Heterakis gallinarum* (Schränk, 1788)
13. *Capillaria obsignata* (Madsen, 1945)
14. *Capillaria caudinflata* (Molin, 1858)
15. *Capillaria bursata* (Freitas et Almeida, 1934)
16. *Railleitia tetragona* (Molin, 1858)
17. *Railleitia echinobotrida* (Molin, 1858)

За промислової технології вирощування та утримання курей у клітках копроскопічно виявляли збудників еймеріозу, а за утримання на глибокій незмінній підстилці — збудників еймеріозу й аскаридіозу. Результати досліджень наведено у табл. 1.

Таблиця 1 — Поширення ендопаразитів кишкового каналу курей за промислової технології вирощування та утримання

Хвороби	Досліджено, гол.	Інвазовано, гол.	EI, %	II, в 1 г фекалій	IЗ	ВІП, %
у клітках						
Еймеріоз	1 367	215	15,72	89,5 ± 9,2	15,72	100
на підлозі						
Еймеріоз	1 580	714	45,18	587,4 ± 4,8	22,59	87,72
Аскаридіоз	1 580	97	6,13	21,4 ± 1,6	3,16	12,28
із них моноінвазії						
Еймеріоз	1 580	621	39,30	587,4±4,8	19,65	80,52
Аскаридіоз	1 580	4	0,25	21,4±1,6	0,72	0,76
у тому числі асоційовані						
Еймеріоз + Аскаридіоз	1 580	93	5,88	—	2,94	18,71

Примітки: EI — екстенсивність інвазії; EI — інтенсивність інвазії; IЗ — індекс зараженості; ВІП — видовий індекс паразитоценозу.

За промислової технології утримання та вирощування курей у клітках паразитоценоз кишкового каналу формували еймерії, що узгоджується з даними інших дослідників [7, 9]. Середня EI та IЗ складала 15,72 %, ВІП — 100 %. Біорізноманітність еймерій представлена 6 видами (*E. accervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. brunetti*).

За вирощування курей на глибокій незмінній підстилці (промислова технологія) інвазованість поголів'я еймеріозом у середньому становила 45,18%, аскаридіозом — 6,13 %. У паразитоценозі кишкового каналу частка еймерій (ВІП) складала 87,72 %, аскаридій — 12,28 %. Видовий склад еймерій налічував 8 видів. Як моноінвазію еймеріоз реєстрували у 39,30 % випадків, що від загальної кількості інвазованого поголів'я становило 80,52% та підтверджується також даними інших дослідників [2–4, 7, 11, 17].

Аналізуючи отримані і статистично оброблені матеріали досліджень індивідуальних приватних господарств з традиційною екстенсивною системою утримання курей на підлозі з використанням вигулів та пасовищ нами встановлено, що біорізноманітність збудників нараховувала 17 видів, у тому числі найпростіших — 10, гельмінтів — 7 видів. За результатами копроскопічних обстежень 1 325 гол. різновікових груп курей у фермерських та індивідуальних господарствах сходу України, загальна інвазованість складала 64,07 % (табл. 2).

Таблиця 2 — Поширення ендопаразитів кишкового каналу курей в індивідуальних господарствах сходу України

Хвороби	Досліджено, гол.	Інвазовано, гол.	EI, %	II, в 1 г фекалій	I3	ВІП, %
Еймеріоз	1 325	501	37,81	1 397,72 ± 109,24	4,720	36
Гістомоноз	1 325	73	5,50	10,5 ± 0,5	0,680	5,18
Трихомоноз	1 325	53	4,00	8,3 ± 0,3	0,500	3,81
Аскаридіоз	1 325	209	15,77	117,72 ± 12,8	1,970	15,02
Гетеракоз	1 325	173	13,05	91,56 ± 8,7	1,630	12,43
Капіляріоз	1 325	271	20,45	39,24 ± 2,3	2,550	19,45
Акуаріоз (хейлоспіруроз)	1 325	2	0,15	13,08 ± 1,6	0,010	0,07
Райєтиноз	1 325	112	8,45	12,1 ± 0,9	1,050	8
Моноінвазії						
Еймеріоз	1 325	215	16,22	1 397,72 ± 109,24	2,020	25,77
Гістомоноз	1 325	3	0,22	10,5 ± 0,5	0,020	0,25
Трихомоноз	1 325	28	2,11	8,3 ± 0,3	0,260	3,32
Аскаридіоз	1 325	21	1,58	117,72 ± 12,8	0,190	2,42
Гетеракоз	1 325	20	1,50	91,56 ± 8,7	0,180	2,29
Капіляріоз	1 325	57	4,30	39,24 ± 2,3	0,530	6,76
Акуаріоз (хейлоспіруроз)	1 325	1	0,07	13,08 ± 1,6	0,008	0,1
Райєтиноз	1 325	35	2,64	12,1 ± 0,9	0,330	4,21
у т. ч. асоційовані						
Е + Гіст.	1 325	3	0,22	—	0,020	0,25
Е + Т	1 325	25	1,88	—	0,230	2,93
Е + Аскар.	1 325	37	2,79	—	0,340	4,34
Е + Гет.	1 325	12	0,90	—	0,110	1,4
Е + К	1 325	88	6,64	—	0,830	10,6
Е + Акуар.	1 325	1	0,07	—	0,008	0,1
Е + Р	1 325	36	2,71	—	0,330	4,21
Гіст. + Гет.	1 325	55	4,15	—	0,510	6,51
Аскар. + Гет.	1 325	24	1,81	—	0,220	2,8
Аскар. + К	1 325	68	5,13	—	0,640	8,17
Аскар. + Р	1 325	11	0,83	—	0,100	1,27
Гет. + К	1 325	16	1,20	—	0,150	1,91
Гет. + Р	1 325	10	0,67	—	0,080	1,02
Е + Аскар. + Гет.	1 325	9	1,35	—	0,160	2,04
Е + Аскар. + К	1 325	18	1,20	—	0,150	1,27
Е + Гіст. + Гет.	1 325	16	0,75	—	0,090	1,14
Е + Гіст. + К	1 325	10	0,15	—	0,010	0,12
Е + Аскар. + Р	1 325	2	0,52	—	0,060	0,76
Е + К + Гет.	1 325	7	0,75	—	0,090	1,14
Е + К + Р	1 325	9	0,67	—	0,080	1,02
Е + Гет. + Р	1 325	5	0,37	—	0,040	0,51
Е + Аскар. + Гет. + К	1 325	4	0,30	—	0,030	0,38
Е + Аскар. + Гет. + К + Р	1 325	3	0,22	—	0,020	0,25
Усього	1 325	849	64,07	—	7,836	—

Примітки: EI — екстенсивність інвазії; EI — інтенсивність інвазії; I3 — індекс зараженості; ВІП — видовий індекс паразитоценозу; Акуар. — Акуаріоз (хейлоспіруроз); Аскар. — Аскаридіоз; Гет. — Гетеракоз; Гіст. — Гістомоноз; Е — Еймеріоз; К — Капіляріоз; Т — Трихомоноз; Р — Райєтиноз.

Серед ендопаразитозів кишкового каналу протозоози реєструвались у 47,31 % поголів'я курей, в тому числі еймеріоз — у 37,81 % з середньою інтенсивністю інвазій 1 397,72 ± 109,24 ооцист в 1 г фекалій, гістомоноз — у 5,5 % з інтенсивністю 10,5 ± 0,5 гістомонад в 1 г фекалій,

трихомоноз — у 4,0 % з інтенсивністю від $8,3 \pm 0,3$ збудників в 1 г фекалій, та гельмінтози — у 57,87%, з яких найпоширенішими були капіляріоз — у 20,45 %, аскаридіоз — у 15,77 %, гетеракоз — у 13,05 % з інтенсивністю відповідно $39,24 \pm 2,3$, $117,72 \pm 12,8$, $91,56 \pm 8,7$ яєць в 1 г фекалій. Райєтиноз реєструвався серед 8,45 % поголів'я курей з інтенсивністю $12,1 \pm 0,9$ яєць в 1 г фекалій і досить рідко акуаріоз (хейлоспіруроз) — у 0,15 % з інтенсивністю $13,08 \pm 1,6$ яєць в 1 г фекалій.

Інвазії кишкового каналу у вигляді моноінвазій реєструвалися у 28,64 % поголів'я курей, що становило 44,72 % від загального числа інвазованих птахів. Здебільшого паразитарну систему кишкового каналу курей формували змішані асоційовані інвазії — паразитоценози, частіше двохкомпонентні — у 45,28 %, трьох- і більше компонентні інвазії реєструвалися відповідно у 9,03 % та 0,22–0,3 % поголів'я курей.

У паразитоценозі кишкового каналу курей першочергове місце займали збудники емеріозу (ВІП — 36,09 %), а серед гельмінтозів збудники капіляріозу (ВІП — 19,43 %) та гетеракозу (ВІП — 12,43 %). Значно меншу частку в паразитоценозі кишкового каналу займали райєтини (ВІП — 8,0 %), гістомонади (ВІП — 5,18 %) та трихомонади (ВІП — 3,81 %). Аукаріоз реєструвався рідко (ВІП — 0,07 %).

Взаємозв'язки між збудниками в паразитоценозах визначали за результатами кореляційного аналізу між загальною інвазованістю, моно- та асоційованими інвазіями (табл. 3).

Таблиця 3 — Кореляційна матриця між усіма захворюваннями, моно- та асоційованими інвазіями

Хвороби	Загальна інвазованість	Моноінвазії	Асоційовані
Загальна інвазованість	1		
Моноінвазії	0,907	1	
Асоційовані	0,955	0,742	1

Дані табл. 3 свідчать про те, що існує дуже висока кореляція між загальною кількістю хвороб і моноінвазіями (0,907) і асоційованими захворюваннями (0,955), між моно- та асоційованими інвазіями — кореляція висока (0,742).

Результати статистичної обробки кореляційного аналізу між ендопаразитами і їхніми проявами — моноінвазійним та асоційованим наведено у табл. 4.

Таблиця 4 — Кореляційна матриця між проявами хвороб (загальні, моно-, асоційовані інвазії)

Хвороби	Еймеріоз	Гістомоноз	Трихомоноз	Аскаридіоз	Гетеракоз	Капіляріоз	Акуаріоз (хейлоспіруроз)	Райєтиноз
Еймеріоз	1							
Гістомоноз	0,718	1						
Трихомоноз	0,944	0,449	1					
Аскаридіоз	0,762	0,998	0,506	1				
Гетеракоз	0,774	0,997	0,521	0,999	1			
Капіляріоз	0,855	0,975	0,635	0,988	0,990	1		
Акуаріоз (хейлоспіруроз)	0,992	0,625	0,978	0,675	0,688	0,782	1	
Райєтиноз	0,944	0,907	0,783	0,933	0,939	0,978	0,895	1

Дані кореляційної матриці показують, що кореляція між проявами еймеріозу та гістомонозу (0,718) та трихомонозу (0,944) є дуже високою. Спостерігається висока кореляція між еймеріозом і гельмінтозами: аскаридіозом (0,762), гетеракозом (0,774), капіляріозом (0,855) і дуже висока з акуаріозом (0,992) та райєтинозом (0,944). Слабка кореляція між гістомонозом і трихомонозом (0,449), але дуже висока між гістомонозом і аскаридіозом (0,998), гетеракозом (0,997) і капіляріозом (0,975); середня з акуаріозом (0,625) і дуже висока з райєтинозом (0,907). Середня кореляція існує між трихомонозом та аскаридіозом (0,506), гетеракозом (0,521) і

капіляріозом (0,635), але дуже висока з аукаріозом (0,978) і райєтинозом (0,783). Також має місце дуже висока кореляція між аскаридіозом і гетеракозом (0,999), капіляріозом (0,879) і райєтинозом (0,933), гетеракозом і капіляріозом (0,990), середня з аукаріозом (0,688). Висока кореляція між капіляріозом і аукаріозом (0,782) і дуже висока між капіляріозом і райєтинозом (0,978). Для розуміння цілісного системного значення факторів впливу на характер біоценотичних взаємозв'язків і принципів взаємодії компонентів паразитоценозу та інших випадкових факторів нами проведено двофакторний дисперсійний аналіз, результати якого наведені у табл. 5.

Таблиця 5 — Результати застосування двофакторного дисперсійного аналізу

Дисперсійний аналіз						
Джерело варіації	SS	df	MS	F фактичне	p-значення	F критичне
Окремі хвороби	1 335,487	7	190,7838	10,43256	0,000129	2,764199
Прояви хвороб	373,8763	2	186,9382	10,22227	0,001833	3,738892
Випадкові фактори	256,0227	14	18,28734			
Разом:	1 965,386	23				
Вплив на захворюваність, %						
Окремі хвороби	67,95					
Прояви хвороб	19,02					
Випадкові фактори	13,03					
Разом:	100,00					

За даними табл. 5 захворюваність на ендопаразитози курей у 67,95 % спричинена окремими збудниками ($p < 0,0001$), 19,02 % хвороб обумовлені асоційованими (паразитоценотичними) проявами ($p < 0,0018$), 13,03 % припадає на різноманітний вплив випадкових факторів. Отже, дослідження кореляційних залежностей між збудниками паразитоценозів кишкового каналу курей вказують на високу залежність загальної інвазованості та асоційованих (паразитоценотичних) проявів інвазійних хвороб. Крім того, між окремими збудниками в паразитоценозах кишкового каналу існує висока та слабка кореляція, що вказує на наявність відповідно синергічних і конкурентних взаємовідносин між збудниками в паразитоценозах, про що також вказують деякі дослідники [1, 13, 21].

Висновки: 1. Біорізноманітність паразитоценозів кишкового каналу курей залежить від технологій вирощування та систем утримання птиці.

2. Установлені взаємозв'язки між збудниками паразитоценозів кишкового каналу курей: висока кореляція між еймеріозом, гістомонозом, трихоманозом і гелмінтозами (0,718–0,944), між гістомонозом, аскаридіозом, гетеракозом і капіляріозом (0,975–0,998) і слабка кореляція між гістомонозом і трихоманозом (0,449).

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні синергічних і конкурентних взаємовідносин між компонентами паразитоценозів.

Список літератури

- Атаев А. М., Зубаирова М. М., Карсаков Н. Т., Газимагомедов М. Г., Кочкарев А. Б. Влияние экологических факторов на биоразнообразие и популяционную структуру гельминтов домашних жвачных животных на юго-востоке Северного Кавказа. *Юг России: экология, развитие*. 2016. Т. 11, № 2. С. 84–94. DOI: <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2016-2-84-94>.
- Богач М. В., Тараненко І. Л. Паразитарні хвороби індиків фермерських і присадибних господарств півдня України. *Аграрний вісник Причорномор'я* : зб. наук. праць. Одеса, 2003. Вип. 21. С. 311–317.
- Богач М. В., Склярчук В. Г., Манько О. Г., Данілейко Ю. М. Екологія паразитарних хвороб домашньої птиці : навч. посіб. Одеса : Освіта України, 2013. 288 с.
- El-Dakhly K. M., El-Seify M. A., Mohammed E. S., Elshahawy I. S., Fawy S. A., Omar M. A. Prevalence and distribution pattern of intestinal helminths in chicken and pigeons in Aswan, Upper Egypt. *Tropical Animal Health and Production*. 2019. Vol. 51, iss. 3. P. 713–718. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1725-1>.
- Ferdushy T., Nejsun P., Roepstorff A., Thamsborg S. M., Kyvsgaard N. C. *Ascaridia galli* in chickens: intestinal localization and comparison of methods to isolate the larvae within the first week of infection. *Parasitology Research*. 2012. Vol. 111, iss. 6. P. 2273–2279. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3079-3>.
- Короленко Л. С., Веселий В. А., Коваленко І. І. Еймеріоз свійської птиці в господарських центральних областей України, заходи боротьби і профілактики. *Ветеринарна медицини України*. 2012. № 4. С. 21–22.

7. Маршалкіна Т. В., Заїкіна Г. В., Коваленко І. І. Моніторинг інвазійних хвороб свійської птиці в господарствах степової зони України. *Ветеринарна медицина* : міжвід. темат. наук.зб. 2010. Вип. 93. С. 271–275. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2010_93_58.
8. Богач М. В., Березовський А. В., Тараненко І. Л. Інвазійні хвороби свійської птиці : навч. посіб. Київ : Ветінформ, 2007. 224 с.
9. Люлін П. В., Федорова О. В., Приходько Ю. О., Нікіфорова О. В., Мазанний О. В. Цестодози курей в умовах особистих селянських господарств південно-східного регіону України. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. 2019. № 4. С. 110–113. DOI: <https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.04.21>.
10. Sharma N., Hunt P. W., Hine B. C., Ruhnke I. The impacts of *Ascaridia galli* on performance, health, and immune responses of laying hens: new insights into an old problem. *Poultry Science*. 2019. Vol. 98, iss. 12. P. 6517–6526. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez422>.
11. Вертійчук А. І. Шляхи подальшого розвитку птахівництва в Україні. *Ефективне птахівництво*. 2008. № 11 (47). С. 3–5.
12. Котельников Г. А. Гельминтологические исследования окружающей среды. Москва : Росагропромиздат, 1991. 143 с. ISBN: 5260005538.
13. Наконечний І. В. Структурно-функціональна організація паразитоценотичних угруповань екосистем південно-західного Причорномор'я : автореф. дис. ... д-ра біол. наук. Київ : Інститут агроєкології УААН, 2010. 39 с. URL: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0510U000584>.
14. Черепанов А. А., Москвин А. С., Котельников Г. А., Хренов В. М. Дифференциальная диагностика гельминтозов по морфологической структуре яиц и личинок возбудителей : атлас. Москва : Колос, 2001. 76 с. ISBN: 5100037393.
15. Дахно І. С., Березовський А. В., Галат В. Ф., Аранчій С. В., Євстаф'єва В. О., Дахно Г. П., Приходько Ю. О. Атлас гельмінтів тварин : атлас. Київ : Ветінформ, 2001. 118 с. ISBN: 9667063100.
16. Pellérdy L. P. Coccidia and coccidiosis. 2nd ed. Berlin : Parey, 1974. 959 p. ISBN: 3489733177.
17. Рыжиков К. М., Черткова А. Н. Определитель гельминтов домашних куриных птиц. Москва : Наука, 1968. 258 с.
18. Скрябин К. И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. Москва : МГУ, 1928. 45 с.
19. Богач М. В., Стегній Б. Т., Степанова Н. О., Шайдюк І. В. Спосіб прижиттєвої диференціації онкосфер дафнеозу та райетинозу птиці : пат. на корисну модель 78451, Україна. № u201208044 ; заявл. 02.07.12 ; опубл. 25.03.13, бюл. № 6. 2 с.
20. Барановський Д. І., Гетманець О. М., Хохлов А. М. Біометрія в програмному середовищі MS Excel : навч. посіб. Харків : СПДФО Бровін О. В., 2017. 90 с. ISBN: 9789669709110.
21. Park S.-I., Shin S.-S. Concurrent *Capillaria* and *Heterakis* infections in Zoo Rock partridges, *Alectoris graeca*. The Korean Journal of Parasitology. 2010. Vol. 48, iss. 3. P. 253–257. DOI: <https://doi.org/10.3347/kjp.2010.48.3.253>.

INTERDEPENDENCE AND BIODIVERSITY OF PATHOGENS IN INTESTINAL CHANNEL PARASITOCENOSES OF CHICKENS IN THE EASTERN REGION OF UKRAINE

Liulin P. V.

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

Bogach M. V.

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

Changes in the forms of management, the concentration of poultry in limited territories lead to a violation of homeostasis in biotopes and parasitic systems. The research aimed to find out the peculiarities of distribution, biodiversity, and interdependence of pathogens in parasitocenoses of the intestinal tract of chickens in the Eastern region of Ukraine. According to the results of research, the biodiversity of pathogens in parasitocenoses of the chicken intestinal tract in poultry farms in the Eastern region of Ukraine has been determined. 17 species of pathogens were identified, including 10 species of protists (from Apicomplexa and Zoomastigophora), and 7 species of helminths: 5 species from Nematoda, 2 species from Cestoda. The influence of breeding technologies and systems of keeping chickens on the prevalence, biodiversity of parasitocenoses, species indices of parasitocenosis (SIP, %), and correlations between components of parasitocenoses have been determined. For the industrial technology of raising chickens in cages, the parasitocenosis was formed by 6 species of Eimeria (SIP — 100%, prevalence — 15.72%). When poultry was kept on a deep when kept on a deep unchanging litter in the structure of the parasitocenosis the share of eimeriosis was 87.72%, ascariasis — 12.28%. For the traditional extensive technology of raising chickens using pastures (farms and homestead farms), the prevalence in chickens was 64.07%. In the parasitocenosis of the intestinal tract in chickens there are relationships between pathogens — a high correlation between eimeriosis, histomonosis, trichomoniasis and helminthiasis (0.718–0.944) and between histomonosis, ascariasis, heterococcus and capillary (0.975–0.998), and a low correlation between histomonosis and trichomoniasis (0.449), which indicates the presence of synergetic (high correlation) and competitive (low correlation) relationships between the components of parasitocenoses of the intestinal tract

Keywords: *protists, helminths*

8. ІСТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ НАУКИ

УДК 619(092)[Chernukha V. K.]

DOI 10.36016/VM-2021-107-16

ДО 100-РІЧЧЯ ПРОФЕСОРА ВОЛОДИМИРА КИРИЛОВИЧА ЧЕРНУХИ — ПРОРЕКТОРА ХАРКІВСЬКОГО ЗООВЕТЕРИНАРНОГО ІНСТИТУТУ (1971–1984 рр.)

Люлін П. В.*Державний біотехнологічний університет,
Харків, Україна, e-mail: liulinpetr@gmail.com***Стегній Б. Т.***Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна*

У статті представлені основні етапи життя, науково-педагогічної діяльності на шляху становлення харківської школи ветеринарних гематологів та паразитологів, розвитку Харківського зооветеринарного інституту та основні напрямки наукової діяльності

Ключові слова: історія науки, наукова школа, паразитологія

Володимир Кирилович Чернуха — талановитий учений і педагог, організатор і методист, доктор ветеринарних наук, професор, проректор Харківського зооветеринарного інституту 1971–1984 рр.

Володимир Кирилович Чернуха народився 17 травня 1921 р. в м. Обоянь Курської обл. в інтелігентній українській сім'ї службовців. Його батьки — вихідці з Полтавської області (м. Зіньків) — мали педагогічну освіту. Батько, Кирило Романович, працював учителем школи, викладачем, завучем Обоянського педагогічного технікуму, у 1937 р. був репресований. Мати, Ганна Степанівна, — педагог, навчала дітей початкової школи м. Обоянь. Їхня родина була багатодітна — Володимир у сім'ї був найменшим — п'ятим. Старші два брати Микола та Віктор і дві сестри Олександра і Валентина всі здобули вищу освіту. Микола Кирилович — ветеринарну, працював завідувачем райветлікарні та районної ветеринарної аптеки; Віктор Кирилович та Валентина Кирилівна — технічну освіту, працювали відповідно інженерами дорбудуправління та заводу хімреактивів; Олександра Кирилівна — педагогічну, працювала вчителем середньої школи та викладачем школи тваринництва.

Так склалося, що дитячі та юнацькі роки життя Володимира Кириловича були непростими. З 1929 р. він навчався в Обоянській середній школі, яку закінчив у 1939 р., і того ж року вступив на перший курс Харківського ветеринарного інституту, який закінчив лише в 1950 р., отримавши диплом з відзнакою. Навчання було довгим, бо завадила цьому війна.

По закінченню першого курсу, у червні 1940 р. Держинським райвоенкоматом м. Харкова В. К. Чернуху було призвано на військову службу рядовим стрілецького полку. Потім було навчання у військовому училищі, він був призначений командиром взводу гаубичного артилерійського, потім мінометного полків, у подальшому — командиром батареї у складі Воронезького, Степового фронтів, 1-ї Гвардійської танкової армії, потім — помічником начальника відділу комплектування кадрів артилерії, помічником начальника штабу 1-го



Українського та 4-го Українського фронтів. У складі військ пройшов до кордону, звільняв Польщу, Чехословаччину та дійшов до Берліну. За бойові заслуги нагороджений трьома орденами, у тому числі орденом Вітчизняної війни 2-го ступеня, та п'ятьма медалями. Війну закінчив у званні капітана. Під час служби у запасі отримав чергове звання майора.

З армії демобілізований був у 1946 р., його небайдужість і жага до знань повернули до студентського життя і назавжди пов'язали з Харківським ветеринарним, а з 1961 р. — Харківським зооветеринарним інститутом (ХЗВІ). Навчання в інституті давалось йому легко, яке він поєднував його із суспільно-громадською роботою — обирався парторгом курсу, секретарем партійного бюро факультету.

По закінченню інституту (1950 р.) був відмічений одним з кращих випускників, отримав пропозицію подальшого навчання в аспірантурі кафедри патології і терапії незаразних хвороб ХЗВІ. За період навчання в аспірантурі плідно проводив наукові дослідження за основним напрямом наукової діяльності кафедри — вивчення патогенезу анемій та методи лікування з використанням прижиттєвої пункції кісткового мозку, що завершилось захистом його дисертації на тему «Опыт применения кампалона для стимуляции эритропоеза у лошадей и выработки иммунитета у кроликов» на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук (науковий керівник — професор С. І. Смирнов).

Подальша науково-педагогічна та суспільна діяльність доцента В. К. Чернухи поєднувалась із роботою на посаді проректора з підвищення кваліфікації керівних кадрів зооветспеціалістів, викладачів технікумів. Робота на цій посаді вимагала значних зусиль, високої ерудиції і знання справи. У своїй роботі пріоритетним напрямом він вважав наукову і навчально-практичну роботу, працював на перспективи розвитку та вирішення проблем промислового тваринництва. Тривала та наполеглива плідна праця була завершена у 1968 р. захистом докторської дисертації на тему «Материалы по этиопатогенезу, лечению и профилактике желудочно-кишечных заболеваний у новорожденных телят». Непосидючість, наукова активність і широта наукової думки слугували його обранням на посаду проректора з наукової роботи, на якій він працював з 1971 до 1984 р.

З 1973 р., будучи проректором з наукової роботи, В. К. Чернуха, після обрання за конкурсом, очолив кафедру паразитології і клінічної діагностики, що внесло деякі новації у напрям наукової роботи колективу кафедри та його учнів. За період його роботи на кафедрі розробляються більш досконалі методи лікування, боротьби та профілактики низки паразитарних хвороб тварин. Очолюючи кафедру Володимир Кирилович спрямовував багатопланову наукову та педагогічну діяльність викладачів кафедри з підготовки кваліфікованих кадрів ветеринарних спеціалістів.

В. К. Чернуха зробив значний вклад у розвиток харківської школи ветеринарних паразитологів. Особисто підготував двох учнів — кандидатів ветеринарних наук з напряму протозоологія, які під його керівництвом успішно захистили дисертації: Д. І. Гостев на тему «Эпизоотология, терапия и химиопрофилактика кокцидиоза свиней в хозяйствах Украины» та П. В. Люлін на тему «Розповсюдження, видовий склад збудників та вдосконалення заходів боротьби з еймеріозом індиків у спеціалізованих господарствах і фермах України».

Результати наукової діяльності професора В. К. Чернухи відображені в 130 наукових працях, серед яких 5 монографій і 6 довідників. Із здобуттям незалежності України за його редакцією та колективом авторів (співробітників кафедри паразитології ХЗВІ) у 1995 р. була створена та затверджена Мінагропромом України програма з паразитології та інвазійних хвороб сільськогосподарських тварин для вузів і факультетів України за спеціальністю «Ветеринарна медицина». У 1996 р. за редакцією В. К. Чернухи колективом кафедри за участю професорів інших вузів В. Ф. Галата (Національний аграрний університет, нині — Національний університет біоресурсів і природокористування України) та Ю. Г. Артеменка (Білоцерківській державний (нині — національний) аграрний університет) було випущено для вузів України перший підручник українською мовою — «Паразитологія та інвазійні хвороби сільськогосподарських тварин», яким користуються спеціалісти і до сьогодні.

Володимир Кирилович користувався дуже високим авторитетом серед колективу, йому були притаманні простота і скромність, чесність і доброзичливість, дисциплінованість і вимогливість, порядність і мудрість, ерудиція і життєлюбність — те, що на сьогодні називається академічною доброчесністю.

У 2000 р. на 79-му році життя його серце зупинилося, але світлий образ Володимира Кириловича назавжди залишиться у пам'яті колег, співробітників, чисельної кількості його учнів — студентів, кому довелося спілкуватися з цією чудовою людиною.

**TO THE 100TH ANNIVERSARY OF PROFESSOR VOLODYMYR KYRYLOVYCH CHERNUKHA —
VICE-RECTOR OF THE KHARKIV ZOovETERINARY INSTITUTE (1971–1984)**

Liulin P. V.

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

Stegniy B. T.

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

The article presents the main stages of life, scientific and pedagogical activities on the way to the formation of the Kharkiv School of Veterinary Hematologists and Parasitologists, the development of the Kharkiv Zooveterinary Institute, and the main directions of scientific activity

Keywords: *history of science, scientific school, parasitology*

ЗМІСТ

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ.
ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

<i>Бузун А. І., Кольчик О. В., Музика В. П., Северин Р. В., Гонтарь А. М., Гринченко Д. М., Войтенко Р. В.</i> КОНЦЕПЦІЯ «КОРМОВОГО ЛАНЦЮГА» ЦИРКОВІРУС- БАКТЕРІЙНИХ ІНФЕКЦІЙ У СВИНАРСТВІ	5
--	---

<i>Полупан І. М.</i> РЕАКЦІЯ ПРЯМОЇ ІМУНОФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ В ЛАБОРАТОРНИЙ ДІАГНОСТИЦІ СКАЗУ ТВАРИН В УКРАЇНІ.....	15
---	----

<i>Гібалюк Ю. О., Недосєков В. В.</i> АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАХОДІВ БОРОТЬБИ ЗІ СКАЗОМ ТВАРИН В УКРАЇНІ.....	19
--	----

2. ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ ТА МІКРОБІОЛОГІЯ

<i>Коваленко В. Л., Чечет О. М.</i> ФУНГІЦИДНА ДІЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ПРЕПАРАТУ «БІОЛАЙД»	26
--	----

<i>Завгородній А. І., Білушко В. В., Позмогова С. А., Калашник М. В., Калашник Н. В., Кіптенко А. В., Стешенко Л. М.</i> ВИЗНАЧЕННЯ ПРИЧИН АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ НА ТУБЕРКУЛІН У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ.....	30
---	----

<i>Рудова Н. Г., Ісаков М. М., Лиманська О. Ю., Болотін В. І., Солодянкін О. С., Герілович А. П.</i> ЕКСПРЕС-МЕТОДИКА ДЕТЕКЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ЦВС-II У ПОЛЬОВИХ УМОВАХ	37
---	----

3. ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

<i>Корнєйков О. М., Стегній Б. Т., Олешко А. Ю., Бородай Н. І., Коровін І. В., Голово В. О., Северин Р. В., Аль Джабарі Мунір</i> ДЕЯКІ АСПЕКТИ ЕФЕКТИВНОГО КОНТРОЛЮ ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В КРАЇНАХ ЄВРОПИ	42
--	----

<i>Горбатенко С. К., Кузнецова О. В., Мягких Н. В., Корнєйкова О. Б.</i> МАЛОВИВЧЕНІ ВІРУСНІ МІНОРНІ ІНФЕКЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ. 1. БИЧАЧИЙ ІМУНОДЕФІЦИТ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	51
--	----

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

<i>Курбацька О. В., Оробченко О. Л.</i> ВАЛІДАЦІЯ ЕКСПРЕС-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОРМІВ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ <i>PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM</i>	56
---	----

<i>Гайдей О. С., Олексієнко І. С., Шуляк С. В., Меженський А. О., Київська Г. В., Крушельницька О. В.</i> МОНІТОРИНГ ГМО У СОЇ, РІПАКУ ТА КОРМАХ ДЛЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ ЗА 2018–2020 РОКИ	61
---	----

5. БІОТЕХНОЛОГІЯ**Верецун А. Л., Усова Л. П.**ОЧИСТКА ТА КОНЦЕНТРУВАННЯ АНТИГЕНУ ДЛЯ ІФА
З ВИКОРИСТАННЯМ ЕПІЗООТИЧНИХ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ
ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ, ВИДІЛЕНИХ В УКРАЇНІ..... 65**Гужвинська С. О., Палій А. П., Корнєйков О. М.**ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ
ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР *LACTOBACILLUS PLANTARUM* № 7
І *BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS* № 17 У СКЛАДІ
БАКТЕРІАЛЬНОЇ СУМІШІ ВПРОДОВЖ ЗБЕРІГАННЯ 70**Павлов С. Л.**РОЗРОБЛЕННЯ ТА ВАЛІДАЦІЯ ПОЗИТИВНОГО ПЛАЗМІДНОГО
КОНТРОЛЮ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ХЛАМІДІЙ
У ПОЛІМЕРАЗНІЙ ЛАНЦЮГОВІЙ РЕАКЦІЇ У ФОРМАТІ РЕАЛЬНОГО ЧАСУ 74**6. ІМУНОЛОГІЯ ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ****Стегній Б. Т., Коваленко Л. В., Бойко В. С.,****Руденко О. П., Пазуцян О. Є.**ДИНАМІКА ФАКТОРІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ГУМОРАЛЬНОГО
ІМУНІТЕТУ ПТИЦІ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ
НА ОСНОВІ ЛЯЛЕЧКИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА 79**7. ПАРАЗИТОЛОГІЯ****Люлін П. В., Богач М. В.**ВЗАЄМОЗАЛЕЖНІСТЬ І БІОРІЗНОМАНІТНІСТЬ
ЗБУДНИКІВ ПАРАЗИТОЦЕНОЗІВ КИШКОВОГО
КАНАЛУ КУРЕЙ СХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ..... 83**8. ІСТОРІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ НАУКИ****Люлін П. В., Стегній Б. Т.**ДО 100-РІЧЧЯ ПРОФЕСОРА ВОЛОДИМИРА КИРИЛОВИЧА ЧЕРНУХИ —
ПРОРЕКТОРА ХАРКІВСЬКОГО ЗООВЕТЕРИНАРНОГО ІНСТИТУТУ (1971–1984 рр.) 90

CONTENTS

1. PROBLEMS OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY. EMERGENT INFECTIONS

<i>Buzun A. I., Kolchuk O. V., Muzyka V. P., Severyn R. V., Gontar A. M., Hrynchenko D. M., Voitenko R. V.</i> CONCEPTION OF THE "FEED'S CHAIN" FOR PORCINE CIRCOVIRUS-BACTERIAL INFECTIONS IN PIGGERY	5
--	---

<i>Polupan I. M.</i> DIRECT FLUORESCENT ANTIBODY TEST IN LABORATORY DIAGNOSIS OF ANIMAL RABIES IN UKRAINE	15
---	----

<i>Gibaliuk Yu. O., Nedosekov V. V.</i> ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF ANIMAL RABIES CONTROL MEASURES IN UKRAINE	19
--	----

2. VETERINARY VIROLOGY AND MICROBIOLOGY

<i>Kovalenko V. L., Chechet O. M.</i> FUNGICIDAL EFFECT OF "BIOLIDE" DISINFECTANT	26
--	----

<i>Zavgorodniy A. I., Bilushko V. V., Pozmogova S. A., Kalashnyk M. V., Kalashnyk N. V., Kiptenko A. V., Steshenko L. M.</i> DETERMINATION OF THE CAUSES OF ALLERGIC REACTIONS TO TUBERCULIN IN CATTLE	30
--	----

<i>Rudova N. G., Isakov M. M., Lymanska O. Yu., Bolotin V. I., Solodiankin O. S., Gerilovych A. P.</i> EXPRESS METHOD FOR DETECTION OF GENETIC MATERIAL OF PCV-II IN FIELD CONDITIONS	37
---	----

3. EPIZOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

<i>Kornieikov O. M., Stegnyy B. T., Oleshko A. Yu., Borodai N. I., Korovin I. V., Golovko V. O., Severyn R. V., Al Jabari Munir</i> SOME ASPECTS OF EFFECTIVE CONTROL OF BOVINE INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS IN EUROPEAN COUNTRIES.....	42
---	----

<i>Gorbatenko S. K., Kuznetsova O. V., Miahkykh N. V., Kornieikova O. B.</i> INSUFFICIENTLY EXPLORED MINOR VIRAL INFECTIONS OF CATTLE. 1. BOVINE IMMUNODEFICIENCY (LITERATURE REVIEW)	51
---	----

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

<i>Kurbatska O. V., Orobchenko O. L.</i> VALIDATION OF RAPID METHOD FOR DETERMINING THE OVERALL TOXICITY OF FEED USING BIOLUMINESCENT MICROORGANISMS <i>PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM</i>	56
---	----

<i>Haidei O. S., Oleksiienko I. S., Shuliak S. V., Mezhenskyi A. O., Kyivska G. V., Krushelnytska O. V.</i> MONITORING OF GMOs IN SOYBEANS, CANOLA AND FODDER FOR FARM ANIMALS IN UKRAINE IN 2018–2020.....	61
---	----

5. BIOTECHNOLOGY**Veretsun A. L., Usova L. P.**

PURIFICATION AND CONCENTRATION OF ANTIGEN
FOR ELISA USING EPIZOOTIC ISOLATES OF INFECTIOUS
LARYNGOTRACHITIS VIRUS ISOLATED IN UKRAINE 65

Guzhvyńska S. O., Paliy A. P., Kornieikov O. M.

STUDY OF THE STABILITY OF THE MAIN INDICATORS
OF PROBIOTIC CULTURES *LACTOBACILLUS PLANTARUM* No. 7
AND *BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS* No. 17
IN THE BACTERIAL MIXTURE DURING STORAGE 70

Pavlov S. L.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A POSITIVE PLASMID
CONTROL FOR DETECTION OF CHLAMYDIA GENETIC
MATERIAL IN REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION 74

6. IMMUNOLOGY AND CLINICAL BIOCHEMISTRY**Stegniy B. T., Kovalenko L. V., Boiko V. S.,****Rudenko O. P., Pazushchan O. Ye.**

DYNAMICS OF NON-SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY
FACTORS IN POULTRY WHICH RECEIVED FEED
SUPPLEMENT BASED ON SILKWORM PUPAE 79

7. PARASITOLOGY**Liulin P. V., Bogach N. V.**

INTERDEPENDENCE AND BIODIVERSITY OF PATHOGENS
IN INTESTINAL CHANNEL PARASITOCENOSES OF CHICKENS
IN THE EASTERN REGION OF UKRAINE 83

8. HISTORY OF VETERINARY SCIENCE**Lyulin P. V., Stegnyy B. T.**

TO THE 100TH ANNIVERSARY OF PROFESSOR
VOLODYMYR KYRYLOVYCH CHERNUKHA —
VICE-RECTOR OF THE KHARKIV ZOVETERINARY INSTITUTE (1971–1984) 90