

животных: В 2 т. / Под ред. А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьева, Е.А. Непоклонова, Е.С. Воронина - М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 1. – 911 с. 3. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина // М.: ВНИТИБП, 1998. – 928 с. 4. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th edition (Керівництво щодо діагностики та вакцинопрофілактики хвороб тварин. П'яте видання) – 2005.

STUDY OF ANTIBODY LEVEL AT IMMUNIZATION OF POULTRY AND RABBITS AGAINST INFECTIOUS BRONCHITIS

Dragut S.S., Stegnyy M.Yu., Breslavets, V.A., Stegnyy A.B.

NSC “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkov

Data on reception of immune sera, specific to infectious bronchitis virus, from turkeys and rabbits presented in the paper. Dynamics of virus-specific antibody levels at their hypersimmunization in haemoagglutination test, undirect haemoagglutination test and undirect ELISA has been studied.

УДК 636:616.98:578.824.11:616-036.22

ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ СКАЗУ ВІД ДОМАШНІХ М'ЯСОЇДНИХ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

Дрожже Ж.М.

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

У статті представлені результати філогенетичного аналізу нуклеопротеїну ізолятів вірусу сказу, виділених від м'ясоїдних тварин на території України, в порівнянні з іншими ізолятами генотипу 1.

Сказ – надзвичайно небезпечна інфекційна хвороба тварин і людей, яка викликається вірусом, характеризується ураженням центральної нервової системи та закінчується летально. Збудника сказу відносять до роду *Lyssavirus*, родини *Rhabdoviridae*, порядку *Mononegavirales*. Під *Lyssavirus* (від грецького *lyssa* – сказ) включає вірус сказу (7 генотипів): генотип 1 – *Rabies virus*, генотип 2 – *Lagos bat virus*, генотип 3 – *Mokola virus*, генотип 4 – *Duvenhage virus*, генотип 5 – *European bat lissavirus 1*, генотип 6 – *European bat lissavirus 2*, генотип 7 – *Australian bat lissavirus*. Генотип 1 включає класичний вірус сказу роду *Lyssavirus*, що викликає захворювання у людей. Генотип 1 виявлений у більшості країн світу, а у летючих мишей зустрічається тільки на Американському континенті. Актуальність вивчення збудника сказу та його розповсюдження зумовлено сприйнятливістю до цієї інфекції широкого й різноманітного кола тварин, можливістю втягнення в ланцюг циркуляції вірусу не тільки диких, а й сільськогосподарських тварин, надзвичайно великою небезпекою для людини і відсутністю засобів лікування при цій хворобі [1].

Сказ розповсюджений практично на всіх континентах світу, виключенням є кілька острівних держав (Велика Британія, Ірландія, Нова Зеландія, Японія). Резервуаром класичного вірусу сказу є ссавці, в основному м'ясоїди (собаки – основний вектор і резервуар сказу) і летючі миши [2].

Із середини ХХ століття відбувалася адаптація вірусу сказу серед лисиць і сформувалися нові природні вогнища рабічної інфекції, де основним господарем, резервуаром та переносником сказу стали червоні лисиці. З кінця 70-х років в Європі впроваджені програми пероральної вакцинації лисиць, що дали змогу призвести до повної ліквідації сказу серед лисиць і деяких інших видів тварин (наприклад, енотовидних собак) у цілих країнах. Пероральна імунізація стала найважливішою методикою проведення програм боротьби і ліквідації сказу серед диких тварин. Ряд європейських країн ліквідували собачий сказ шляхом проведення вакцинації домашніх тварин та знищенням вовків та бродячих собак [3,4,5]. Кількість країн, що отримали повну перемогу над сказом, з кожним роком зростає, статус *Rabies-free* країн мають:

Бельгія, Фінляндія, Греція, Ісландія, Ірландія, Італія, Люксембург, Кіпр, Норвегія, Португалія, Швеція, Швейцарія, Англія. До них наближуються Данія, Франція, Іспанія, де реєструється сказ летючих мишей або завезені в країну випадки. Значні кроки до успіху в боротьбі з інфекцією зроблені цілим рядом країн: Німеччиною, Польщею, Угорщиною, Чехією, Естонією, Словакією тощо [6].

На тлі значного поліпшення епізоотичної ситуації щодо сказу в Європі, наша країна залишається стаціонарно неблагополучною зоною щодо епізоотії сказу. Формування успішної стратегії боротьби з інфекційними хворобами, організація протиепізоотичних заходів, а також розробка і впровадження біологічних препаратів для специфічної профілактики передбачають детальне вивчення біологічних властивостей збудника, сучасну лабораторну діагностику та аналіз епізоотичного нагляду в країні та її регіонах. Сучасна діагностика сказу проводиться трьома стандартними методиками, рекомендованими ВООЗ: методом флуоресціюючих антитіл (МФА), індикацією вірусу в культурі клітин, біопробою на білих мишах [7].

За останні 15 років розвиток молекулярної біології дав можливість удосконалення вивчення збудника сказу. В літературі все більше накопичується повідомлень про застосування полімеразної ланцюгової реакції в діагностиці сказу. Метод ПЛР став важливим засобом удосконалення епідеміологічного і філогенетичного вивчення вірусів [8, 9, 10, 11, 12]. Еволюція вірусу сказу може бути досліджена шляхом порівняння нуклеотидної послідовності нуклеопротеїнового і глікопротеїнового генів ізолятів. Філогенетичний аналіз даних нуклеотидної послідовності може виявити різні групи вірусу сказу, кожна з яких пов'язана з окремими географічними областями.

Метою проведених нами досліджень було отримання та аналіз результатів досліджень нуклеотидної послідовності зібраних нами ізолятів вірусу сказу від м'ясоїдних з різних областей України для філогенетичного аналізу походження збудника.

Матеріали та методи. З метою вивчення штамів збудника сказу серед м'ясоїдів нами проаналізовані результати лабораторних досліджень на сказ в Україні за останні п'ять років, визначені найбільш неблагополучні регіони, де було відібрано зразки позитивних на сказ матеріалів, використовуючи сучасну технологію фільтрувального паперу (FTA®) для відбору, тривалого зберігання, безпечного транспортування та подальшого відновлення і молекулярного дослідження вірусів [13]. Матеріали вносили на FTA® Cards згідно з настановою до використання FTA® Gene Guard System права на постачання запатентовані Whatman company.

З метою визначення РНК вірусу сказу та результатів секвенування продуктів ПЛР-аналізу матеріали передані до референс-лабораторії ЄС/ВООЗ/МЕБ по сказу м. Нансі Республіки Франції. Дослідження проводили методами ПЛР та секвенування продуктів ПЛР-аналізу в референс-лабораторії.

Результати досліджень та обговорення. Проведені протягом 2006-2008 років у 16 областях України 5 кампаній пероральної вакцинації диких тварин дещо змінили загальну ситуацію щодо сказу тварин. Аналіз епізоотичного стану щодо сказу серед м'ясоїдних тварин в Україні за 2008 рік свідчить про збільшення лабораторно підтверджених випадків сказу саме серед собак і котів на тлі зменшення загальної кількості випадків сказу серед всіх інших м'ясоїдних, насамперед – червоних лисиць, у порівнянні з 2007 роком [14]. Тому нами були відібрані 28 зразків ізолятів вірусу сказу від собак та котів з 8 областей України, які найбільш неблагополучні щодо сказу та географічно розрізнені, а саме Чернігівської, Донецької, Сумської, Кіровоградської, Луганської, Харківської, Вінницької та Черкаської областей. Результати філогенетичного аналізу нуклеопротеїну вірусу сказу з 13 ізолятів від собак та котів, надісланих в 2008 році та 16 ізолятів від різних видів тварин (червоної лисиці, ВРХ, собак) надісланих в 2002 році з України, наведені на рисунку 1.

Філогенетичний аналіз послідовностей гену 29 ізолятів вірусу сказу та 7 штамів збудників, виділених на території Російської Федерації (GenBank # AY 352464, # AY 352474, # AY 352466, # AY 352465 red fox, Russia), території Угорщини (GenBank # RVU 43000, # RVU 42998 red fox, Hungary) та території Польщі (GenBank # AF033879 fox, Poland) був проведений за допомогою алгоритму Neighbor Joining. При цьому

була побудована не вкорінена дендрограма вертикального типу. Аналіз її топографії показав наявність двох основних ліній вірусів, що циркулюють на території України. Попарна відстань між цими групами склала 0,052. Дивергенція між штамми цих груп складала до 10 %.

Група 1 вміщувала 3 штами (1-3) та демонструвала 6,4% нуклеотидних відмінностей. Група 2 представлена двома підгрупами, відстань між якими складає 0,037. Підгрупа 2.1 складалася з 24 українських ізолятів (4-27) та російського штаму (GenBank # AY 352464). Дивергенція між українськими ізолятами в середині підгрупи 2.1 не перевищувала 0,5 %, у той час, як всі вони різнилися від російського штаму на 1,45 %.

Підгрупа 2.2 була представлена лише одним єдиним ізолятом з України (RVUkraine 2008-028), що різнився на 3,33 % за первинною нуклеотидною послідовністю від ізолятів підгрупи 2.1 в середньому та на 3-3,5 % від індивідуальних послідовностей вибірки. Основні вузли побудованої дендрограми мали високі показники BS-value (570-1000), що свідчило про вірогідність отриманої топографічної структури.

Розгляд оцінених за алгоритмом Neighbor Joining філогенетичних зв'язків у вигляді радіальної дендрограми показав наявність двох основних гілок, що відповідали раніше ідентифікованим групам та мали характерну внутрішньогрупову топографію, описану в попередньому аналізі.

Аналіз філогенетичного дерева згідно з нуклеотидною послідовністю генів нуклеопротеїну вірусу сказу різних ізолятів з України показав належність досліджених ізолятів до одного штаму. Всі досліджені ізоляти, надіслані в 2008 році з України, виявилися близько спорідненими до ізоляту вірусу сказу, виділеного від червоної лисиці з Російської Федерації (GenBank # AY 352464). Ізоляти від червоних лисиць з Вінницької та Волинської областей 2002 року (N RVUKr2, N RVUKr16) мають близьку генетичну спорідненість з ізолятами енотовидних собак з Польщі, лисиці з Польщі (GenBank # AF033879 fox, Poland) та червоної лисиці з Російської Федерації (GenBank # AY 352474).

Ізолят від червоної лисиці з Херсонської області 2002 року (N RVUKr3) має близьку генетичну спорідненість з ізолятами від червоних лисиць з Російської Федерації (GenBank # AY 352466, # AY 352465), що споріднені з ізолятами від червоних лисиць Угорщини (GenBank # RVU 43000, # RVU 42998 red fox, Hungary).

Висновки.

1. Ізольовані штами вірусу сказу від домашніх тварин з різних регіонів України мають близькі філогенетичні зв'язки з вірусами, ізольованими від червоних лисиць на території Російської Федерації.

2. Наведені результати філогенетичного аналізу ізолятів вірусу сказу від домашніх м'ясоїдних дають уявлення про географічне розташування їхніх найближчих родичів.

Список літератури

1. Груздев, К.Н., Недосеков, В.В. Бешенство животных // М.: Аквариум. – 2001. – 304 с. 2. Rupprecht, C.E., Nemeroff, T., Hanlon, C.A. Rabies re-examined // Lancet Infect. Dis. 2 – 2002. – P. 327-343. 3. Шестопалов, А.М., Кисурин, М.И., Груздев, К.Н. Бешенство и его распространение в мире // Вопр. вирусологии. – 2001. – №2. – С.7-12. 4. Estrada, R., Vos, A., De Leon, N., Muller, T. Field trial with oral vaccination of dogs against rabies in the Philippines // Infect. Dis. – 2001. – №1. – P. 23. 5. Pastored, P.P. Epidemiology and control of fox rabies in Europe // Vaccine. – 1999. – № 17 – P. 1750-1754. 6. Rabies Bulletin Europe. – 2006. – V. 30. – №4. – P. 21. 7. Dean, D., Abelseth, M., Atanasiu, P. The fluorescent antibody test. In: Meslin F.X., Kaplan M., Koprovski H. (Eds.) // Laboratory techniques in rabies. Fourth ed. – World Health Organisation, Geneva, Switzerland. – 1996. – P. 88-95. 8. Bourhy, H., Kissi, B., Tordo, N. Molecular diversity of the lyssavirus genus // Virology – 1993. – № 194. – P. 70-81. 9. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies related viruses. Heaton P., Johnstone P., Mc Elhinney, L., Cowley R., O'sullivan E., Whitby J. // J. Clin. Microbiol. – 1997. – №35. – P. 2762-2766. 10. Heaton, P., Mc Elhinney, L., Lowing, J.P. Detection and identification of rabies and rabies-related viruses using rapid-cycle PCR // J. Virol. Methods. – 1999. – № 81. – P. 63-69. 11. Sacramento, D., Bourhy, H., Tordo, N. PCR technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus // Mol. Cell. Probes. – 1991. – № 5. – P. 229-240. 12. Nadin-Davis, S. Polymerase Chain reaction protocols for rabies virus discrimination // J. Virol. Methods. – 1998. – № 75. – P. 1-8. 13. Picard-Meyer, E., Barrat, J., Cliquet, F. Use of filter paper (FTA®) technology for sampling, recovery and molecular characterisation of rabies viruses // J. Virol. Methods. – 2007. – № 140. – P. 174-182. 14. Дрожже, Ж.М. Результати дослідження антирабійного імунітету у домашніх м'ясоїдних // Ветеринарна біотехнологія. – Київ. – 2009. – №14. – С. 98-102.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF RABIES VIRUS ISOLATES IN DOMESTIC CARNIVORA FROM UKRAINE

Drozhzhe Zh.M.

The State Science-Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary-and-Sanitary Examination, Kyiv

Results of phylogenetic analysis of nucleoprotein isolates of carnivora from Ukraine against other isolates genotype 1 are presented in the article.

УДК 619:616-091.8:579.852.3.98

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ПАТОЛОГО-АНАТОМІЧНОГО ПРОЯВУ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ПОРОСЯТ

Дубина Я.О.¹

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

Мета роботи полягала у вивченні патоморфологічних змін при сальмонельозі в умовах виробництва у поросят віком 1,5–2 місяці. Всього проведено патолого-анатомічне дослідження дев'яти випадків захворювання поросят, з органів яких бактеріологічним дослідженням виділено збудника сальмонельозу. Патолого-анатомічний розтин був проведений методом повної евісцерації в загальноприйнятій послідовності. При сальмонельозі поросят віком 1,5–2 місяці за гострого перебігу хвороби реєструються крововиливи на серозних і слизових оболонках, в паренхімі лімфатичних вузлів і селезінці, гостре катаральне запалення кишкового тракту. Підгострий і хронічний перебіг хвороби характеризується фібринозно-дифтеритичним ураженням товстого відділу кишкового тракту, венотромбозом внутрішніх органів є наслідком серцевої недостатності, що розвивається під впливом білкового переродження міокарду та відповідно викликає порушення його скоротливої функції. Виходячи з результатів проведених досліджень, є необхідним подальше вивчення хвороби за гострого та підгострого її перебігу на патоморфологічному рівні.

Вступ. Сальмонельоз має широке розповсюдження серед різних видів тварин і птиці. Хворі переважно молоді. За літературними даними на патолого-анатомічному рівні хвороба за гострого перебігу проявляється катаральним, а іноді й геморагічним запаленням слизової оболонки шлунку та кишок, крововиливами на серозних і слизових оболонках, у лімфатичних вузлах тощо. У легенях, частіше в діафрагмальних частках, спостерігають гостре лобулярне запалення фібринозного типу. Печінка збільшена в розмірі, темно-вишневого кольору через застій крові або ж світло-коричневого (глинистого). Селезінка збільшена, із заокругленими краями, синьо-червоного кольору, під капсулою можливі крововиливи [3]. Середостінні та брижові лімфовузли набряклі, сіро-червоного кольору й у 2-3 рази збільшені в розмірі [5].

У підгострих і хронічних випадках хвороби у сліпій та ободовій кишках виявляють дифузне, катаральне або вогнищеве крупозно-фібринозне запалення слизової оболонки. Агреговані лімфоїдні вузлики та поодинокі лімфоїдні вузлики клубової, сліпої та ободової кишок набряклі, збільшені в розмірі та виступають у провітні кишки у вигляді валиків (агреговані лімфоїдні вузлики) або напівкулястих підвищень (поодинокі лімфоїдні вузлики). У легенях, частіше при “легеневій” формі сальмонельозу, виявляють ділянки катарального запалення переважно на діафрагмальних частках. Селезінка збільшена в розмірі з крововиливами в пульпу та набряк ретикулярної тканини. У печінці, селезінці, нирках, лімфатичних вузлах і кістковому мозку виявляють жовтуваті фокуси некрозу та сальмонельозні вузлики (гранулеми) [2, 3].

Мета роботи полягала у вивченні патоморфологічних змін при сальмонельозі в умовах виробництва у поросят віком 1,5 – 2 місяці.

Матеріали та методи. Усього проведено патолого-анатомічне дослідження дев'яти випадків захворювання поросят, з органів яких бактеріологічним дослідженням виділено збудника сальмонельозу. Патолого-анатомічний розтин був проведений методом повної евісцерації в загальноприйнятій послідовності.

¹ науковий керівник д.в.н., професор Борисевич Б.В.