

начати зв'язок між якістю і безпечністю молока. Для стабільного виробництва якісного та безпечного сирого молока на молочних фермах необхідно впроваджувати систему НАССР. Контамінація молока мікроорганізмами може відбуватися з різних джерел: від корови, недостатньо промитого молочного обладнання, довілля. Особливе значення як джерело контамінації має доїльне обладнання. Ці потенційно небезпечні чинники повинні бути визначені як критичні точки керування гігієною та санітарією на молочних фермах.

Список літератури

1. Белов, Ю. П. Розробка та впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів НАССР. 2. Малаховский, В. Ф. Системы качества — важнейшая ступень на пути в ВТО // Молочная промышленность. 2005. — № 7. — С. 13-15. 3. Расторгуев, П. В., Почтовая, И. Г. Обеспечение качества и безопасности молочного сырья на основе внедрения принципов НАССР. Весник Национальной Академии Наук Белоруссии № 1 2007 Серия Аграрные Науки — С. 27-29. 4. САС /КСР 1-1969 Міжнародний кодекс правил „Загальні принципи гігієни харчових продуктів”. 5. ISO 22000 Система менеджменту безпечності харчових продуктів. Вимоги до організації ланцюга виробництва та постачання.

MOTIVATION OF THE POSSIBILITY AND NEED OF THE SYSTEM NASSR AT MILK PRODUCTION ON DAIRY FARMS

Ostapuyuk M. P.

State Committee of Veterinary Medicine of Ukraine

Main dangerous factors, which must be basic of the system NASSR on dairy farms, are studied. Microbiological factors of objects, which influence upon level of microbial content in milk, are investigated. The directly proportional dependence between sanitary indexes of milk and the farm sanitation level is carried out. Critical points of management process to sanitations and hygiene on dairy farm are determined.

УДК 619:616-076:616.98:578.825.15

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Пилипенко Г. В.¹

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У статті наведені основні традиційні та сучасні методи лабораторної діагностики інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби, що дозволяють визначити наявність збудника в організмі хворих тварин та стан імунного захисту, а також проводити наукові дослідження з подальшого вивчення властивостей представників родини герпесвірусів.

Інфекційний ринотрахеїт-пустульозний вульвовагініт великої рогатої худоби — це контагіозне захворювання, що викликається вірусом родини Herpesviridae підродини Alphaherpesvirinae риду Varicellovirus та характеризується гарячкою, катарально-некротичним запаленням

¹Науковий керівник доктор вет. наук, проф., Білокінь В. С.

слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, кератокон'юнктивітом, ураженням статевих органів і центральної нервової системи, абортами. Особливо виражений тропізм збудник виявляє до багат шарового нероговілого епітелію слизової оболонки, епітелію альвеолярно-трубчастих білково-слизових залоз у підслизовому шарі верхніх дихальних шляхів і статевих органів, а також ендотелію кровоносних судин, а також імунокомпетентних клітин. Імунні реакції організму на вірус ІРТ ВРХ умовно підрозділяють на специфічні, що забезпечуються В- і Т-клітинами, та неспецифічні, що опосередковані поліморфоядерними нейтрофілами, інтерфероном, комплементом та іншими факторами, які можуть обмежувати прикріплення вірусу на клітинах респіраторного епітелію. Хворобу диференціюють від парагрипу-3, вірусної діареї, адено-, корона та респіраторно-синцитіальної інфекції, злоякісної катаральної гарячки та хламідіозу. Оскільки після захворювання на ІРТ тварини залишаються вірусоносіями фактично довічно, викорінення хвороби можливе лише за виявлення і бракування вірусоносіїв, особливо в племінних господарствах. Діагностичні дослідження проводять з використанням комплексних методів епізоотичного обстеження господарств та лабораторної діагностики [1, 2, 3].

Сучасна лабораторна діагностика має на озброєнні як методи, що вважаються традиційними, так і новітні розробки.

Експрес-методи.

– Виявлення вірусного антигену в прямому та непрямому варіантах реакції імунофлюоресценції (РІФ), реакції дифузійної преципітації (РДП), декількох варіантах імуноферментного аналізу (ІФА) та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Суть імунологічних реакцій полягає у взаємодії антигену з антитілами (один з компонентів обов'язково відомий). Відмінність полягає в умовах протікання реакцій та подальшому способі виявлення комплексу, що утворюється. Так, за прямої імунофлюоресценції моноспецифічна антисироватка кон'югується з ізотіоціанатом флуоресцеїну, тоді як у непрямому тесті використовується антибічачий імуноглобулін, кон'югований з ізотіоціанатом. На цей час виробляються набори для виявлення та типування ІРТ методами ПЛР, ПЛР у реальному часі.

– Виявлення патогномічних внутрішньоядерних оксифільних тілець-включень Кауді типу А [1, 2, 4,].

Вірусологічні методи (ізоляція, індикація та ідентифікація вірусу).

– Виділення вірусу здійснюють у первинних та субкультурах клітин нирок або селезінки ембріона корови, нирок, легень або тестикул телят, а також перещеплених ліній, таких як MDBK (перещеплювана культура клітин нирок теляти), КСТ (коронарні судини теляти). Проводять від одного до трьох сліпих пасажів. У подальшому, у разі появи цитопатичної дії (ЦПД), вірус ідентифікують у реакції нейтралізації (РН) з моноспецифічною сироваткою або моноклональними антитілами (МКА). Можливо ідентифікувати вірус за допомогою імунофлюоресценції або імунопероксидазного тесту з кон'югатом моноспецифічної сироватки або МКА. Доцільно також використання ПЛР.

– Електронна мікроскопія. Принцип базується на тому, що пучок електронів проходить через досліджуваний об'єкт і відображення останнього проектується на люмінесцентний екран. Завдяки різній електронній щільності часточок об'єкту відбувається розсіювання електронів пучка електронного променя. Після проходження через об'єкт пучка електронів на екрані виникає видиме його зображення, яке фотографують. Перегляд і фотографування виконують за умови збільшення у (30-100) тисяч разів. Ідентифікацію вірусів проводять шляхом визначення їх форми, розмірів і морфології.

– Біопроба на телятах 6-8 – місячного віку з подальшим виявленням вірусу в мазках відбитках зі слизової оболонки носа, кон'юнктиви і піхви з характерними ознаками хвороби у РІФ. При необхідності зі змивів виділяють та ідентифікують вірус. У тварин-реконвалесцентів виявляють вірус за нейтралізації антитілами [1, 2, 4,].

Ретроспективна діагностика. Ретроспективна лабораторна діагностика інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби базується на встановленні чотириразового і вище приросту титрів специфічних антитіл постінфекційного походження, які виявляються за допомогою однієї або кількох серологічних реакцій. Антитіла в парних сироватках крові як перехворілих, так і вакцинованих тварин виявляють у реакції нейтралізації (РН), реакції непрямої гемаглютинації (РНГА), реакції дифузійної преципітації (РДП), реакції зв'язування комплементу (РЗК), реакції затримки гемаглютинації (РЗГА), та одним з методів ІФА. В основі ІФА полягає приєднання антитіл або антигенів до твердої фази зі збереженням імунологічної активності і застосування ферменту в якості маркера імунологічної реакції, що відбувається на твердій фазі. Маркер дозволяє спостерігати реакцію візуально або інструментально. На сьогодні все більшого поширення набувають ELISA-методи. Так, розроблені непрямий ІФА, тест для прямого виявлення антигену бичачого герпесвірусу першого типу (BHV-1), в якому він може поєднуватися з моно – або поліклональними антитілами (M-ELISA), крапковий ІФА (dot-ELISA) [2, 4, 5].

Детекцію вірусу у спермі биків-плідників здійснюють шляхом вірусовиділення в культурах клітин, використання РІФ та ПЛР.

Слід зазначити, що виділення вірусу не завжди вказує на його причетність до спалаху хвороби. Кінцевий лабораторний діагноз повинен бути встановлений на групі тварин і повинен супроводжуватись сероконвесією від негативної до позитивної або встановленням 4-х та більш кратного приросту титру антитіл у парних пробах сироваток крові, відібраних від тварин з інтервалом три тижні [1, 2, 4].

Окрім вищезгаданих, для експрес-діагностики та вивчення патогенезу і біологічних властивостей вірусу був розроблений метод молекулярної гібридизації (ДНК-гібридизації *in situ*), основою якого є ДНК-зонд, сконструйований на основі одониткової ДНК фага M13mp8 шляхом клонування фрагмента вірусного генома. Чутливість методу не поступається чутливості ПЛР. Гаджиев В. М. (1990; 1991) розробив метод прискореної ідентифікації ІРТ ВРХ в культурі клітин за допомогою крапкової молекулярної гібридизації. До цього аналогічні методи

на гістозрізах за допомогою радіоактивних зондів застосовувались іноземними дослідниками (Ackerman M. et Wyller R., 1984, D. Brunner, 1988, J.Q. Xia et al., 1995) та ін. Розроблені зазначені методики у ДНУ «Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии» [3].

У Мануалі МЕБ як тести для діагностики хвороби, а також як тести, що рекомендовані при інтернаціональній торгівлі, зазначені реакція нейтралізації, полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі, непрямий твердофазний імуноферментний аналіз, блокуючий твердофазний імуноферментний аналіз та ізоляція вірусу зі сперми биків [1, 2].

У цілому встановлення діагнозу на захворювання передбачає облік та аналіз епізоотологічних даних, клінічних ознак хвороби, патологоанатомічних змін і результатів лабораторних досліджень.

Список літератури

1. Инфекционная патология животных Том 1 [Текст]/ под общей ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева [и др.] – М.: ИКЦ «Академкнига» 2006 г., С. 665 – 673.
2. OIE Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. CHAPTER 2.3.5. [Електр. ресурс] /Списіб доступу: www.oie.int/fr/normes/mmanual/.htm – Загол. з екрану.
3. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота [Текст]/А. Г. Плотов, А. Ф. Шуляк, Т. И. Плотова, А. Н. Сергеев – РАСХН, Сиб. отделение, ТНУИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2006., – С. 76 – 104.
4. Практикум з ветеринарної вірусології [Текст]/ І. І. Панікар, В. Г. Скибіцький, О. С. Калініна – Суми, «Козацький вал» 1997. С. 181 – 182.
5. Detection of bovine herpes virus-1 (BHV-1) infection in breeding bulls by serological and molecular methods and its characterization by sequencing of PCR products.: [Електр. ресурс] /Списіб доступу http://openmed.nic.in/2233/01/Dr_Lata_Jain_M.V.Sc_Thesis.pdf – Загол. з екрану.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS

Pylypenko A.V.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

Basic traditional and modern methods of laboratory diagnostics of infectious bovine rhinotracheitis that allow to say about presence of agent in organism of sick animals and state of immune protection and to carry out scientific researches at the following study of the features of herpesvirus representatives are presented in the article.