

серологічного діагностичного методу поряд з ІФА та РЗГА є доцільним. В V-образних планшетах у порівнянні з круглодонними планшетами реакція виразніша та більш чітка, відповідно, забезпечує точніший візуально облікований результат.

Список літератури

1. Сюрин, В.Н., Белоусова, Р.В., Фомина, Н.В. Ветеринарная вирусология. – М.: Колос, 1984. – 376 с. 2. Дяченко, Н.С. Пассивная гемагглютинация и ее применение в вирусологии. – К.: Наукова думка, 1979. – 147 с. 3. Вивчення динаміки рівня антитіл при гіперімунізації птиці та кролів вірусом хвороби Ньюкасла / С.С. Драгуть, М.Ю. Стегній, В.О. Бреславець. А.Б. Стегній // Вісник аграрних наук. – 2008, № 8. – С. 63-66.

INDIRECT HEMAGGLUTINATION TEST FOR NEWCASTLE DISEASE DIAGNOSTICS

Dragut S.S., Stegnyy B.T., Stegnyy A.B.

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

Method of indirect hemagglutination test for Newcastle disease diagnostics is presented in the paper. Examples of its application in comparison with hemagglutination inhibition test and indirect method of immune-enzyme analysis are given in the article.

УДК 619:616.98:578.825.1:616-085.371

НЕСПРИЯТЛИВІ ЧИННИКИ ВАКЦИНОПРОФІЛАКТИКИ ХВОРОБИ МАРЕКА

Заремба О.В., Стегній Б.Т., Ткаченко С.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

Мета. При впровадженні розробленої вакцини бівалентної культуральної проти хвороби Марека (ХМ) в птахогосподарстві, в якому і раніше впродовж 4 років застосовували дану вакцину, ми виявили раніше невідомий несприятливий чинник вакцинопрофілактики ХМ. Його аналіз і став метою нашої роботи.

Факторами, що збільшують ризики виникнення загибелі від вірусних захворювань вакцинованого птахопоголов'я можуть бути невідповідні умови утримання птиці, а також чинники, пов'язані з фізіологічним станом організму, якістю вакцини й умовами її застосування та зберігання. Велике значення в одержанні ефективної вакцинації мають санітарно-гігієнічні умови середовища, в яких утримується птиця, особливо в перші тижні життя [7, 8, 11].

Для одержання оптимального ефекту від вакцинації проти хвороби Марека (ХМ) враховують значно більшу кількість факторів, ніж перераховано, у зв'язку з недостатніми знаннями механізму імунітету при цій хворобі. У зниженні імунної реактивності певну роль відіграють постійно діючі стрес-фактори, число яких зростає в процесі інтенсифікації галузі [5, 6, 9].

Було доведено, що, крім якості вакцини, способу використання та ін., ефективність препарату залежить від інтервалу між його застосуванням і часом інфікування польовим вірусом щепленої птиці. Оскільки від моменту вакцинації до формування в організмі птиці надійного захисту проходить декілька діб, раннє зараження польовим вірусом призводить до важкої форми ХМ. Хоча вакцинація сприяє зменшенню захворюваності та смертності від ХМ, кількість інфікованого птахопоголов'я залишається значною. Більшість груп піддаються інфікуванню польовим вірусом на першому тижні життя, оскільки збудник захворювання постійно присутній у приміщенні [1, 2, 3, 4].

У той же час позитивні ефекти від вакцинації проти ХМ не слід переоцінювати. За її допомогою важко повністю оздоровити господарство, оскільки збудник з різним рівнем патогенності міститься в об'єктах довкілля, де добре зберігається, незважаючи на несприятливі умови [10].

Треба також враховувати сероваріантну належність вірусного фону при ХМ у птахогосподарствах збудника, що нерідко робить застосування імпортованих препаратів із різних комбінацій серотипів ВХМ необґрунтованим та неефективним, сприяючи лише додатковому інфікуванню птахопоголов'я новими серотипами ВХМ.

Матеріали і методи досліджень. Вакцина бівалентна культуральна ТУ У 24.4-00497087-015:2005 від 08.11.05 р., реєстраційне посвідчення №1314-04-0188-05 від 18 жовтня 2005 р. виробництва ННЦ «ІЕКВМ» готувалась згідно інструкції з виготовлення даного біопрепарату.

Отриману вакцину сировину двох виробничих штамів у клітинноз'язаному стані зберігали в замороженому стані за температури мінус 196°C у криогенних посудинах.

Для щеплення однодобових курчат було застосовано живу бівалентну культуральну вакцину проти хвороби Марека із вірусу герпесу курей другого серотипу, штам SBG (виготовлений 17.04.08), та вірусу герпесу индиків, штам FC-126 (виготовлений 11.02.08), суміш штамів готували безпосередньо перед застосуванням. Для цього ампули з вмістом виробничих штамів відтаювали на водяній бані за температури 36-38°C, розчиняли у флаконі з розчинником на вакцину, з розрахунку, щоб в 0,2 см³ об'ємної дози містилось по 1000 ФУО кожного виробничого штаму (SBG і FC-126). Вакцину вводили одноразово внутрішньом'язово, у внутрішню поверхню стегна. Було введено вакцину бівалентну культуральну проти хвороби Марека виробництва ННЦ «ІЕКВМ» однодобовим курчатом в інкубаторії птахогосподарства. Щеплення проводилось ін'єктором ІП-1 (напівавтоматичним). Для вакцинації використано 140 тисяч доз вакцини. Залишки доз вакцини та інструментарій були знезаражені кип'ятінням впродовж 30 хвилин.

З 2005 року вакциною бівалентною культуральною проти хвороби Марека у різних товарних птахогосподарствах було щеплено 345 тисяч курчат однодобового віку. Випадків захворювання серед щепленого птахопоголов'я не встановлено, що підтверджувало нешкідливість розробленого нами засобу специфічної профілактики хвороби Марека та високу імуногенну активність запропонованої вакцини.

У дослідженні з визначення напруженості імунітету до аденовірусної інфекції курей, який проведено в лабораторії вивчення вірусних хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ», використовували сироватку крові від птиці віком – 293 (група 1), 277 (група 2), 275 (група 3), 266 (група 4), 285 (група 5) діб по 10 проб від кожної групи. Повторне дослідження проводили через 28 діб. Наявність антитіл у сироватках крові до аденовірусної інфекції курей четвертого серотипу визначали в імуноферментному аналізі за допомогою тест-системи, виробництва ФДЗ ВНДІЗТ, до аденовірусної інфекції першого серотипу – в реакції імунодифузії (РІД). Постановку реакцій здійснювали згідно з методиками виробника зареєстрованих діагностиків.

Для проведення вірусологічних досліджень, з дотриманням умов стерильності, окремо від кожної курки відібрані імунокомпетентні внутрішні органи (селезінку, залозистий шлунок, серце, печінку).

Патологічний матеріал був відібраний від трупів птиці з метою перевірки на наявність у генетичному матеріалі вірусів птиці за допомогою ПЛР та виділення, за наявності, вірусу ХМ на культурі клітин.

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія

З кожної проби окремо були одержані гомогенати, частину яких використовували з метою постановки ПЛР, а решту – для інфікування моношарової культури фібробластів ембріонів курей, з розрахунку по дві культуральні ємкості 0,5-літровим об'ємом на кожну пробу. Дану роботу проведено на базі лабораторії біотехнології ННЦ «ІЕКВМ». Було проведено по три послідовні пасажі, зі щоденним переглядом під мікроскопом, для виявлення цитопатичних змін у культурі клітин.

Молекулярно-генетичні дослідження проводили в лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «ІЕКВМ». З відібраних зразків готували 10 % суспензію. Ізоляцію сумарної ДНК з цих гомогенатів проводили за допомогою комерційних наборів для екстракції ДНК «ДНК-сорб-В» виробництва «Центрального науково-дослідного інституту епідеміології» (Російська Федерація). Реакцію ампліфікації проводили за допомогою базових наборів АмпліСенс (Російська Федерація) та системи праймерів А1-4 (ідентифікація аденовірусів) 47/43 (ідентифікація вірусу Celo). Електрофоретичний аналіз проведено за допомогою набору для електрофорезу виробництва НВО Нарвак (Російська Федерація). Концентрація агарози в гелі 1,5 % при 120 В.

Серотипову належність досліджуваного матеріалу визначали в ПЛР методом А.Г. Амінева (1998), а патотип – методом W. Kozdrun (2002).

Результати досліджень. Впродовж місяця в даному птахогосподарстві було щеплено вакциною бівалентною проти ХМ 140 тисяч однодобових курчат. У цей же час було завезено з Чехії добовий молодняк, який не щеплювався даною вакциною і утримувався разом зі щепленими добовими курчатами.

Згідно схеми вакцинації та відбору матеріалу для проведення лабораторних досліджень птахогосподарства були надіслані проби сироваток крові від батьківського стада курей в лабораторію вивчення вірусних хвороб птиці для визначення напруженості імунітету до основних вірусних захворювань птиці (Ньюкаслська хвороба, синдром зниження несучості, інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт), паралельно дані сироватки були перевірені на рівень антитіл до аденовірусної інфекції курей та інфекційного енцефаломієліту. В таблицях 1, 2, 3, 4 представлені результати цих досліджень.

Таблиця 1 – Наявність антитіл до вірусу аденовірусної інфекції курей першого серотипу в РІД

№ п.п. сироватки	Група				
	1	2	3	4	5
1	+	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	+	+	+	0	0
4	+	0	0	0	0
5	+	0	+	0	0
6	+	0	+	+	+
7	+	+	+	0	+
8	0	0	0	+	0
9	0	0	0	0	+
10	0	0	0	0	0
% реагуючої птиці	60	20	40	20	30

Таблиця 2 – Наявність антитіл до вірусу аденовірусної інфекції курей четвертого серотипу в ІФА

№ п.п.	Група									
	1		2		3		4		5	
	титр	результат	титр	результат	титр	результат	титр	результат	титр	результат
1	13140	позитивний	64822	позитивний	8423	позитивний	2940	позитивний	3793	позитивний
2	7878	позитивний	15136	позитивний	11154	позитивний	14874	позитивний	9376	позитивний
3	3418	позитивний	12941	позитивний	8939	позитивний	11675	позитивний	19138	позитивний
4	569	сумнівний	695	сумнівний	13997	позитивний	22856	позитивний	41160	позитивний
середній титр	6251		23396		10628		13086		18367	

Інтерпретація результатів:

титр до 225 – негативний результат;

від 226 до 899 – сумнівний результат;

від 900 і вище – позитивний результат.

Результати повторних досліджень сироватки крові через 28 діб

Таблиця 3 – Наявність антитіл до вірусу аденовірусної інфекції курей першого серотипу в РІД

№ п.п. сироватки	Група				
	1	2	3	4	5
1	+	+	0	+	+
2	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	0
4	0	0	+	0	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	0
7	+	+	0	+	0
8	+	+	0	+	+
9	0	+	+	+	0
10	+	+	+	0	+
% реагуючої птиці	80	90	70	80	60

Таблиця 4 – Наявність антитіл до вірусу аденовірусної інфекції курей четвертого серотипу в ІФА

№ п.п.	Група									
	1		2		3		4		5	
	титр	результат	титр	результат	титр	результат	титр	результат	титр	результат
1	579	сумнівний	841	сумнівний	2350	позитивний	3800	позитивний	1393	позитивний
2	5545	позитивний	827	сумнівний	410	позитивний	6720	позитивний	6319	позитивний
3	2611	позитивний	1592	позитивний	9095	позитивний	6627	позитивний	10781	позитивний
4	1154	сумнівний	262	сумнівний	3354	позитивний	1724	позитивний	2414	позитивний
середній титр	2472		881		3802		4718		5227	

Інтерпретація результатів:

титр до 225 – негативний результат;

від 226 до 899 – сумнівний результат;

від 900 і вище – позитивний результат.

Специфічна профілактика аденовірусних інфекцій першого та четвертого серотипів у птахогосподарстві, саме як і на території України, не проводиться. Тому наявність антитіл до зазначених збудників свідчить про циркуляцію їх у господарстві. До аденовірусної інфекції першого серотипу кількість позитивних проб коливалася від 20 до 90 % (табл. 1 та 3), до аденовірусної інфекції четвертого серотипу при першому дослідженні 100 % проб були позитивними (табл. 2), при другому – 20 % (табл. 4).

Також були проведені дослідження, при яких виявлено підвищений рівень антитіл серед батьківського стада до збудника енцефаломієліту курей, проти цього захворювання вакцинація в птахогосподарстві теж не проводилась.

У результаті проведених молекулярно-біологічних досліджень виявлено ДНК аденовірусів у чотирьох з п'яти досліджених зразків. Цей вірусний генетичний матеріал ідентифіковано як такий, що належить збуднику аденовірусної інфекції птиці першого серотипу.

Через 4,5-5 місяців після щеплення вакциною бівалентною проти ХМ у птахогосподарстві почався падіж (8-12 голів щодня) з клінічними та патологоанатомічними ознаками, на думку ветеринарних фахівців господарства, характерними для ХМ.

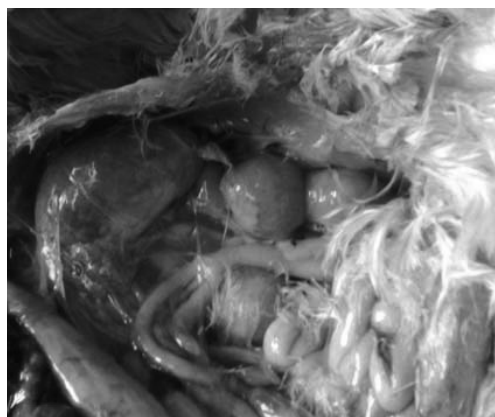
Для з'ясування причин загибелі птиці проведено патологічний розтин загиблої та примусово забитої птиці, з нервовими ознаками (падали на ноги, опущені крила). При розтині примусово забитої птиці (6 голів), виявлено зміни у вигляді артритів та подагри, інших змін не виявлено. При розтині загиблої птиці (9 голів) виявлено зміни у вигляді гідроперикардитів (рис. 1 в), гепатитів (рис. 1 а), нефритів та збільшення селезінки (рис. 1б), викривлення кілю. Салоподібних включень на печінці чи в інших органах, потовщення сідничного нерву та стінки залозистого шлунку, збільшення бурси Фабриціуса, не виявлено.



а



б



в

Рис. 1 Патологічні зміни, виявленні при розтині загиблої та вимушено забитої птиці в птахогосподарстві.

У жодному з трьох послідовних пасажів всіх проб ЦПД, характерної для вірусу ХМ не виявлено. Після третього пасажу інфіковану моношарову культуру клітин було знято і передано до лабораторії молекулярної діагностики для постановки ПЛР на ХМ досліджуваного в пасажах матеріалу. Також, навіть слідів ХМ 1 серотипу не виявлено.

У птахогосподарстві зіткнулись з новим раніше не відомим для практичної ветеринарної медицини захворюванням, тому ветеринарні лікарі господарства поставили неправильний діагноз, враховуючи тільки клінічні ознаки, не беручи до уваги ретельне проведення патологічного розтину, без присутності головного лікаря ветеринарної медицини господарства, та лабораторну діагностику.

Висновки.

1. За такої епізоотичної ситуації в господарстві, як то циркуляція серед батьківського стада аденовірусної інфекції, та недотриманням умов застосування вакцини проти ХМ і зоотехнічних вимог вважаємо, що щеплення вакциною бівалентною культуральною проти хвороби Марека є ефективним запобіжним засобом клінічного прояву цього захворювання в даному господарстві.

2. Можливою причиною виникнення комплексу захворювань можуть бути курчата, завезені з Чехії, вони не перевірялись, при посадці в приміщення з іншою птицею, на інфекційні захворювання і не щеплювались проти ХМ.

3. За даної схеми вакцинації у курчат постійно виникають стресові ситуації, що знижують імунну відповідь на введення живих вакцинних збудників та призводить до високого відходу серед птиці, тому потрібно кардинально змінити схему вакцинації, беручи до уваги епізоотичний фон даного птахопоголів'я.

Список літератури

1. Гусев, А. Советы по работе с вакциной против болезни Марека [Текст] / А. Гусев, Ш. Куляшбекова // Птицеводство. – 2001. – №4. – С. 40-42.
2. Современные стратегии вакцинопрофилактики инфекционных болезней птиц в российском птицеводстве. Тенденции и перспективы [Текст] / В.Н. Ирза [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных: материалы Международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ ВНИИЗЖ. – Владимир, 2003. – С. 277-284.
3. Кононенко, А.Б. Выживаемость вируса болезни Марека во внешней среде и устойчивость его к химическим дезинфицирующим веществам [Текст]: автореф. дис. канд. биологических наук / А.Б. Кононенко. – М., 1987. – с. 26.
4. Коровин, Р.Н. Основы профилактики болезни Марека [Текст] / Р.Н. Коровин, Н.Д. Придыбайло // Тез. докладов конференции по птицеводству. – Сергиев-Посад, 1995. – С. 99-100.
5. Friedman, A. Marek's disease vaccines cause temporary B-lymphocyte dysfunction and reduced resistance to infection in chicks [Text] / A. Friedman, E. Shalem-Meilin, E.D. Heller // Avian Pathol. – 1992. – №21. – P. 621-631.
6. Pathogenesis of Marek's disease (MD) and possible mechanisms of immunity induced by MD vaccine [Text] / T. Morimura [et al.] // J of Veterinary Medical Science. – 1998. – №60:1. – P. 1-8.
7. Schat, K.A. Immune responses to Marek's disease virus infection [Text]: review / K.A. Schat, C.J. Markowski-Grimsrud // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2001. – № 255. – P. 91-120.
8. Sharma, J.M. Introduction to poultry vaccines and immunity [Text] / J.M. Sharma // Adv. Vet. Med. – 1999. – №41. – P. 481-494.
9. Witter, R.L. Control strategies for Marek's disease: a perspective for the future [Text] / R.L. Witter // Poultry Science. – 1998. – №77:8. – P. 1197-1203.
10. Genetics and vaccines for the future control of Marek's disease [Text] / R.L. Witter [et al.] // Proc. Annual nat., beekeepers round table. S.1. – 1994. – P. 90-96.
11. Witter, R.L. Marek's disease [Text] / R.L. Witter, K.A. Schat // Disease of poultry. – Eleventh Edition. – Iowa: Iowa State University Press, 2003. – P. 405-465.

unfavorable factors of Marek's disease vaccinal prevention

Zaremba O.V., Stegny B.T., Tkachenko S.V.

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

Data concerning occurrence of poultry diseases at the poultry farms against the background of vaccination against Marek's disease with similar to this disease clinical and pathologic picture is presented in the paper.

УДК 619:616-085.371:636.2:616-084

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ, КЛЕБСИЛЛЕЗА РОТАВИРУСНОЙ И ПРОТЕЙНОЙ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ

Красочко П.А., Ломако Ю.В., Борисовец Д.С.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

Острые расстройства пищеварения телят всех возрастов — одна из проблем современного животноводства [2]. Массовые желудочно-кишечные инфекции приводят к снижению прироста массы тела, затратам на диагностические и лечебные мероприятия, выбраковке и гибели телят [3].

В комплексной профилактике и терапии инфекционных энтеритов телят ведущее место занимают химиотерапевтические препараты и антибиотики, однако, применение их способствует появлению антибиотикорезистентных штаммов и вторичных дисбактериозов. Поэтому одним из наиболее эффективных средств борьбы с вышеуказанными инфекциями является специфическая профилактика [4].

Известно, что в некоторых странах Европейского союза (ЕС) вакцинация против некоторых инфекций крупного рогатого скота запрещена, в других она обязательна. Учитывая высокий риск поражения стада, вакцинация в большинстве случаев необходима, она зачастую становится вынужденной, являясь единственным сдерживающим фактором развития эпизоотии и, как следствие, высоких экономических потерь [1].

Вследствие этого, важнейшим моментом при разработке инактивированной вакцины является определение профилактической и экономической эффективности препарата в условиях производства, учитывая при этом уровень заболеваемости новорожденных телят энтеритами, количество павших и вынужденно убитых животных, а также среднесуточные привесы живой массы.

Целью настоящего исследования стало определение профилактической и экономической эффективности инактивированной вакцины против вирусной диареи, клебсиеллеза, ротавирусной и протейной инфекций телят.