

для рибопосадкового матеріалу. Це свідчить про постійну циркуляцію збудників інфекційних хвороб, зокрема бактерій роду *Aeromonas* у водоймах області.

Висновок. Таким чином, особливого значення набувають знання епізоотичної ситуації щодо інфекційних хвороб риб у певних регіонах, так як розробка та впровадження ефективних заходів боротьби із захворюваннями риб не можливі без вивчення особливостей епізоотичного процесу.

Список літератури

1. Методичні вказівки «По лабораторній діагностиці аэромоноза карпов» затверджена начальником Гол. Вет. Управління СРСР 23.04.1986р.
2. Болезни пресноводных рыб. /О.Н. Давидов, Ю.Д. Темниханов. – К.: «Ветинформ», 2003. – 544с.: ил.249 Библиогр.: С. 539-543. 3. Справочник по болезням прудовых рыб / П.В. Микитюк, Е.Ф. Осадчая, Т.П. Погорельцева и др.; Под ред. П.В. Микитюка. – К.: Урожай, 1984. – 248 с.
4. Ихтиопатология / Москва. Издательство «Пищевая промышленность», 1977 г. 5. Болезни пресноводных рыб. /О.Н. Бауер, В.А. Мусселиус, Ю.А. Стрелков. Москва издательство колос 1969 г.

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF INFECTIOUS FISH DISEASES IN KHARKIV REGION DURING THE PERIOD 1960-2010

Kutsenko V.G.

Kharkiv State Laboratory of Veterinary Medicine

The paper presents data about infectious diseases of fish in Kharkiv region during the period 1960-2010.

УДК 619:616.98:578.828.11

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГРУППОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ELISA-ТЕСТЕ ПРОБ МОЛОКА И СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ МОНИТОРИНГА СИТУАЦИИ ПО ЛЕЙКОЗУ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Москалик Р.С.

Научно-практический институт биотехнологий в зоотехнии и ветеринарной медицине, г. Кишинэу, Молдова

Балова С.З.

Республиканский ветеринарно-диагностический центр, г. Кишинэу, Молдова

Для решения проблемы лейкоза крупного рогатого скота во многих странах, особенно на постсоветском пространстве продолжают вестись всесторонние научные разработки, однако серьезных успехов пока не достигнуто [1-4, 7, 14-17]. Как показывают выполненные в НИИЖиВ [9, 12] исследования эпизоотический процесс при лейкозе – «рукотворный», а поэтому главным звеном в решении этой проблемы должно быть соблюдение требований профессиональной этики при обслуживании и эксплуатации животных. Эти требования и порядок их выполнения сформулированы в разработанной нами концепции «антиэпизоотической цепи» защиты от распространения лейкоза [9], где серьезная роль также отводится своевременной серологической диагностике (второе звено) и выбраковке на убой зараженных животных (третье звено).

Для серомониторинга и управления эпизоотической ситуацией по лейкозу широко используются серологические методы (РИД, ELISA, ПЦР) своевременного выявления зараженных ВЛКРС животных, порог чувствительности которых при обнаружении анти-ВЛКРС антител в сыворотке крови зараженных животных, разный [6, 8, 12, 13, 15, 16].

В настоящее время в ветеринарной диагностике наряду с РИД все больше применяется ELISA-тест для проведения научных разработок и практического серомониторинга и управления процессом оздоровления от лейкоза крупного рогатого скота [6, 8, 13]. Этот метод был использован нами при выполнении представленной научной публикации.

Поиск эффективного решения ликвидации лейкоза крупного рогатого скота с минимальными материальными затратами является весьма актуальной проблемой.

Цель работы. Отработать наиболее оптимальный вариант применения метода ELISA для группового тестирования проб крови (молока), позволяющий сократить материальные затраты и сохранить высокую (100 %) специфическую активность выявления зараженных ВЛКРС животных.

Материалы и методы. Чувствительность серологических методов обнаружения инфицированных ВЛКРС животных оценивали при сравнительном исследовании проб сыворотки крови и молока в РИД и ELISA, а порог чувствительности – титрованием сероположительных проб от 1:5 до 1:100 с подтверждением результатов в ELISA-veri test.

Рассчитывали оптимальный уровень инфицированности стада, при котором целесообразно группирование проб. Сгруппированные (по 10) пробы, положительно реагирующие в ELISA, исследовали повторно (каждую из входящих в десятку) для персонального обнаружения среди них сероположительных.

Для тестирования проб сыворотки крови (молока) в РИД использовали диагностикумы производства России, Румынии, Польши, Украины, Франции, а в ELISA – диагностические наборы, изготовленные во Франции – Institut Pourque. Исследования проводили, согласно требованиям МЭБ (Manual of Standartes for Diagnostic test Vaccines, 2004, Edition, a. V-a).

Результаты исследований. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Молдова показывает, что несмотря на существующие проблемы, в целом она характеризуется постепенным снижением уровня инфицированности животных ВЛКРС от 48,5 % в 1991 г. до 9,6 % в 2010 г.

Установлено, что объективным и самым главным фактором, серьезно сдерживающим темпы искоренения лейкоза, является ежегодно высокая (4,5-5,5 %) инцидентность (впервые выявленные) заражения животных [9-11].

При этом опыт нашей страны и других государств СНГ и мира убеждает, что многолетний серомониторинг (в некоторых странах – по несколько раз в год), на который ежегодно тратятся значительные средства, не всегда является эффективным [2-4, 7, 16].

Доказано, что только в комплексе трех звеньев, разработанной нами [9] «антиэпизоотической цепи» защиты от распространения ВЛКРС, где главным является первое (соблюдение требований профессиональной этики при обслуживании животных) звено можно гарантировано вести полное и надежное искоренение лейкоза, даже в хозяйствах с очень высокой (67-82 %) инфицированностью животных [10-13].

Розділ 6. Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин

Анализ имеющейся литературы [3, 4, 6, 12, 16] показывает, что из общей суммы денежных средств, выделяемых на оздоровление от лейкоза, практически все тратятся на диагностикумы – (второе звено «антиэпизоотической цепи»), при этом не всегда обоснованно и правильно.

Для выявления наиболее эффективного метода и тактики диагностики лейкоза с минимальными затратами на это средств и времени нами проведен цикл исследований, некоторые из которых изложены ниже.

Прежде всего, приводим данные сравнительного изучения чувствительности ELISA и РИД (табл. 1).

Таблица 1 – Выявление зараженных ВЛКРС животных при исследовании сыворотки крови в ELISA и РИД

№ п/п	Административная территория	Кол-во исслед. проб	Из них сероположительные в				ELISA >РИД			
			ELISA		РИД		к исслед. кол-ву		к ELISA +	
			гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
1	Кишинэу	1753	127	7,2	112	6,4	15	0,8	15	11,8
2	Криулень	4713	167	3,6	149	3,2	20	0,4	20	12,0
3	Дондушень	1260	68	5,4	50	4,8	18	1,4	18	26,5
4	Штефан Водэ	2474	577	23,3	511	21,5	66	2,7	66	11,5
5	Чадыр Лунга	1558	55	3,5	49	3,1	6	0,4	6	11,0
6	Бассарабка	1032	57	5,5	49	4,7	8	0,7	8	14,0
7	Ниспорень	759	184	24,2	170	22,4	14	1,8	14	7,6
8	Каушень	40	6	15,0	6	15,0	0	0	0	0
9	Страшень	45	2	4,4	2	4,4	0	0	0	0
Всего:		13534	1243	9,2	1098	8,1	145	1,1	145	11,7

Из данных табл. 1 видно, что при сравнительном тестировании 13534 проб сыворотки крови 1243 (9,2 %) из них были сероположительными в ELISA и 1098 (8,1 %) – в РИД. Это значит, что фактический показатель инфицированности животных ВЛКРС, согласно результатов ELISA-screening и частично ELISA-veri tests были на 1,1 % больше, чем по данным в РИД, что позволило дополнительно выявить в ELISA 145 (11,7 %) зараженных ВЛКРС животных. При этом следует отметить, что случаев когда бы сероположительные в РИД пробы давали отрицательные результаты в ELISA не было. Однако в литературе имеется немало сведений о том, что положительные пробы в РИД реагировали отрицательно в ELISA и даже ПЦР [1, 2, 5, 6, 16], хотя убедительного объяснения этому авторы не приводят. Как известно, порог чувствительности в РИД значительно ниже, чем у ELISA и ПЦР и при использовании диагностикумов высокого качества все положительные в РИД пробы должны быть выявлены в ELISA и ПЦР. Подтверждение этой закономерности представлено нами в данной, а также ранее опубликованной работах [13].

Преимущество высокой чувствительности ELISA-теста перед РИД было максимально выраженным при исследовании молока (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнительное тестирование сыворотки крови и молока в ELISA и РИД

№ п/п	Исслед. материал	Кол-во исслед. проб	Из них выявлено сероположительных, в				ELISA >РИД			
			ELISA		РИД		к исслед. кол-ву		к ELISA+	
			гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
1	сыворотка крови	253	121	47,8	109	43,1	12	4,7	12	9,9
2	молоко	368	172	46,4	0	0	172	100	172	100
Всего:		621	293	47,2	109	17,5	184	29,7	184	62,8

Представленные в табл. 2 данные свидетельствуют о том, что только ELISA может быть использована для выявления анти-ВЛКРС антител в молоке, хотя РИД полезна при тестировании молозива (первые порции после отела) [14].

Для количественного измерения величины чувствительности разных методов серомониторинга проводили определение титра анти-ВЛКРС антител в положительных пробах с помощью ELISA и РИД. Установлено, что все сероположительные сыворотки в ELISA реагировали в разведениях от 1:5 до 1:25, часть из них 1:50-1:100. В РИД лишь часть проб были положительными и только в титре 1:5.

Таким образом установлено, что наиболее оптимальный вариант группирования проб (с учетом уверенного запаса в них диагностических титров анти-ВЛКРС антител), для тестирования их в ELISA является формирование образцов, состоящих из 10 проб.

Следующим вопросом, требующим принципиального решения было определение наиболее оптимальных параметров инфицированности ВЛКРС популяции животных (хозяйство, населенный пункт) при которых экономически и диагностически целесообразно проведение группирования проб для тестирования в ELISA-тесте (табл. 3).

Математические (теоретические) расчеты оптимальной возможности группирования исследуемых в ELISA проб, позволили получить результаты о том, что экономически и тактически наиболее эффективным является:

1. группирование исследуемых проб крови (молока) по 10 (десять);
2. применение этой тактики для серомониторинга ситуации по лейкозу в хозяйствах и населенных пунктах, где общая инфицированность скота ВЛКРС находится на уровне 5 % и ниже.

Практическая реализация теоретических расчетов (табл. 3) при серомониторинге ситуации по лейкозу в населенных пунктах одного из административных районов Молдовы представлены в табл. 4.

Таблица 3 – Расчет диагностической и экономической эффективности группирования проб (по 10) сыворотки крови при тестировании в ELISA

Уровень зараженности популяции животных ВЛКРС, %	Расход диагностикума, доз			Экономическая эффективность	
	%	больше нормы, %	меньше нормы, %	затраты материальных средств	
				%	в разы
10	110	10	-	+10	+1,1
9	100	-	-	0	0
8	90	-	10	-10	-1,1
7	80	-	20	-20	-1,25
6	70	-	30	-30	-1,4
5	60	-	40	-40	-1,7
4	50	-	50	-50	-2,0
3	40	-	60	-60	-2,5
2	30	-	70	-70	-3,3
1	20	-	80	-80	-5,0
0	10	-	90	-90	-10,0

Примечание: (+) - перерасход средств; (-) - экономия средств; (0) - соответствует исходной стоимости

Таблица 4 – Результаты тестирования в ELISA проб сыворотки крови сгруппированных по 10

№ п/п	Населенный пункт	Кол-во исследованных		из них реагировало в ELISA-тесте			
		животных (гол.)	проб сгруппирован. по 10	положительно		отрицательно	
				гол.	%	гол.	%
1	с. Кочиерь	486	49	14	3,0	472	97,0
2	с. Сагайдак	441	44	8	1,8	433	98,2
3	с. Оницкань	688	69	8	1,2	680	98,8
4	с. Круглик	544	54	5	0,9	539	99,1
5	с. Ратуш	412	41	21	5,1	391	94,9
6	с. Машкауць	480	48	11	2,3	469	97,7
7	с. Ишновец	251	25	9	3,6	242	90,4
8	с. Гыртоп	158	16	2	1,3	156	98,7
9	с. Стецкань	277	28	5	1,8	272	97,7
10	с. Балцата	46	5	0	0	46	100
Всего:		3783	379	83		3700	
В среднем:		379±107	379±10	8,3±4	2,2±0,9	370±119	97,8±1,9

Из данных табл. 4 видно, что из 3783 проб сыворотки крови для тестирования было сформировано 379 проб (по 10 в каждой). При исследовании их в ELISA screening-test выявлено 83 положительных. Повторное персональное исследование этих положительных проб позволило выявить конкретных 83 животных, зараженных ВЛКРС. В результате было установлено, что средний уровень зараженности животных в мониторируемых населенных пунктах составляет в среднем 2,2±0,9 % (от 0 до 5,1 %). Расчет показал, что для тестирования 3783 проб сыворотки крови израсходовано 1209 (379+83×10) доз диагностикума, что в 3,1 раза меньше, чем при традиционном порядке постановки ELISA.

Из представленных данных можно легко вычислить (зная конкретную стоимость диагностикума) экономическую эффективность от предлагаемой нами тактики группирования проб при исследовании в ELISA и определить целесообразность ее использования при конкретной эпизоотической напряженности ситуации по лейкозу в хозяйствах и населенных пунктах.

Данные, представленные в табл. 4 полностью соответствуют теоретическим расчетам, представленным в табл. 3 и могут служить универсальным показателем для принятия решения об избрании тактики серомониторинга в ELISA-тесте.

Выводы. 1. Предлагаемая тактика группирования проб сыворотки крови (молока) по 10 (десять) для серомониторинга эпизоотической ситуации по искоренению лейкоза, выполняемая в ELISA-тесте, имеет существенное экспериментально подтвержденное преимущество по сравнению с РИД. Сущность этого преимущества формулируется следующим образом: чем ниже (от 5 % и меньше) показатель зараженности животных ВЛКРС в мониторируемой популяции (хозяйство, населенный пункт), тем выше экономическая эффективность (при 1 % в 5 раз, а при 0 % в 10 раз) выполняемых исследований, при сохранении высокой диагностической чувствительности используемой реакции – ELISA-теста и сокращения рабочего времени на проведение серологических исследований.

2. Сравнительным тестированием 13534 проб сыворотки крови КРС установлено, что ELISA-тест в 100 % случаев перекрывал (положительно реагирует) все РИД-положительные результаты и дополнительно выявил 145 (11,7 %) сероположительных проб. Случаев, где бы РИД была положительной, а ELISA отрицательной, не выявлено. Считаем, что объективность и эффективность, полученных результатов от применения методов серомониторинга зависят, главным образом, от качества (очистки) диагностикумов, а также от соблюдения методики постановки реакции.

Список літератури

1. *Абрамов, А.В. і др.* Порівняльна ефективність діагностики лейкозу великої рогатої худоби при використанні різних методів дослідження. // Ветеринарна медицина України, 2007, №2, – С. 33-34.
2. *Бусол, В.А. і др.* Порівняльна оцінка методів захиттєвої діагностики лейкозу великої рогатої худоби. // Ветеринарна медицина, Міжвідом. тематичний науков. збірник, Харків, ІЕКВМ, 2008, вып.91, – С. 90-94.
3. *Горбатенко, С.К.* Постепізоотичний контроль благополуччя великої рогатої худоби щодо лейкозу. // Ветеринарна медицина, Міжвідом. тематичний науков. збірник, Харків, ІЕКВМ, 2009, вып.92, С. 138-142.
4. *Гулюкин, М.И., Валихов, А.Ф. і др.* Особенности инфекционного процесса индуцированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота. // «Современное состояние и перспективы исслед. по инфекц. и протоз. инф. живот., рыб и пчел», М., 2008, – С. 106-114.
5. *Двоеглазов и др.* Сравнительный анализ разных коммерческих тест-систем и методов диагностики ВЛКРС. // Материалы Сибирской науч.-практич. конференции, Новосибирск: НГАУ, 2004, – С. 304-306.
6. *Иванов, О.В., Иванова, О.Ю. и др.* Эффективность серологических методов исследования при лейкозе крупного рогатого скота. // Ветеринария, 2008, №7, – С. 6-8.
7. *Епанчинцева, О.В., Петров, А.А.* Лейкоз крупного рогатого скота в Челябинской области. // «Соврем.сост.и персп. исслед. по инф. и протоз. патол. жив-х., рыб и пчел», М., 2008, – С. 114-119.
8. *Licursi, M. et al* Provirus variants of bovine leukemia virus in naturally infected cattle from Argentina and Japan. // *Veter.Microbiol.*, 2003, vol.96, nr. 1, P. 17-23.
9. *Москалик, Р.С.* Антиэпизоотическая цель мероприятий, гарантирующих искоренение и надежную профилактику лейкоза крупного рогатого скота. // Ветеринарна медицина, Міжвідом. тематичний науков. збірник, Харків, ІЕКВМ, 2009, вып.92, – С. 138-142.
10. *Москалик, Р.С., Азоп, Г.К., Николаева, А.В.* Опыт борьбы с лейкозом в условиях интенсивного ведения молочного скотоводства. // Ветеринария, 1989, № 8, – С. 39-43.
11. *Москалик, Р.С.* Эпизоотология и меры борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. // Кишинев, 1992, – С. 1-61.
12. *Москалик, Р.С.* Принципиальные аспекты современной тактики борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. // Simpozionul Științific Internațional „Realizări și perspective în creșterea animalelor”, Chișinău, 2006, – P. 435-439.
13. *Москалик, Р.С., Балов, С.В., Тылту, Св.* Эффективность использования РИД и ELISA для серомониторинга лейкоза крупного рогатого скота. // Simpozionul Științific Internațional „Realizări și perspective în creșterea animalelor”. Chișinău, 2006, – P. 438-442.
14. *Москалик, Р.С., Балов, Св.З.* Профессиональная этика и оптимизация тактики серомониторинга при оздоровлении от лейкоза КРС. // «Современное состояние и перспективы исследований по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел», М., 2008, – С. 167-172.
15. *Naif H.M., Brandon R.B. et al.* Bovine leukemia proviral DNA detection in cattle using the polymerase chain reaction. // *Veter. Microbiol.*, 1990, vol.25, nr. 2-3, P. 117-129.
16. *Спирidonov, В. и др.* Применение метода ПЦР в реальном времени для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. // Сб. тр.VI Всероссийский конф «Генодиагностика инфекционных болезней», 2007, т.2, – С. 60-62.
17. *Свинаренко, О. І.* Проблема ліквідації лейкозу. // Здоров'я тварин і ліки, 2003, №8, с.22.

DIAGNOSTIC AND ECONOMIC EFFICIENCY OF GROUP INVESTIGATION OF BLOOD SERUM (MILK) IN ELISA-TEST FOR MONITORING OF THE SITUATION CONCERNING CATTLE LEUCOSIS

Moskalik R.S.

Scientific Practical Institute for Biotechnologies and Zootechny and Veterinary Medicine, Chisinau, Moldova,

Balova S.Z.

Republican Center for Veterinary Diagnostic, Chisinau, Moldova

Use of high sensitive ELISA-test has allowed to fulfill the optimal variant of group (per 10 probes) investigation of the blood serum (milk) which efficiency is high in those farms and settlements where level of contamination by BLV of cattle was below 5 %.

At application of such tactics of testing remains high sensitivity and specificity of ELISA and reduces in 3-10 times (depending on level of cattle contamination) economic expenses and time for carrying out of seromonitoring.

УДК 619:616.98:619.5

АНАЛІЗ ЕТІОЛОГІЧНОГО ЗНАЧЕННЯ САЛЬМОНЕЛ СЕРЕД ІНШИХ ЗБУДНИКІВ ХАРЧОВИХ ТОКСИКОІНФЕКЦІЙ В УКРАЇНІ

Неверковець Н.Ю.

*Дніпропетровська дослідна станція Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»*

Охорона населення від захворювань, спільних для тварин та людини, у тому числі, від токсикоінфекцій різної етіології – одна з основних задач ветеринарної і гуманної медицини. До спалахів захворювань людей призводить споживання в їжу продуктів харчування, контамінованих збудниками – сальмонелами, ешеріхіями. За останнє десятиріччя багатьма дослідниками відмічено, що в епідеміології харчових токсикоінфекцій відбулись деякі зміни, зокрема, в етіологічній структурі відмічається наростання значення інших збудників – *Campilobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus spp.* та ін. [2].

Незважаючи на те, що боротьба з сальмонельозом триває вже понад півстоліття, це захворювання залишається одним із найбільш розповсюджених в світі. Першочергова роль в розповсюдженні харчових токсикоінфекцій, обумовлених бактеріями роду *Salmonella*, належить продуктам птахівництва [1]. Проблема залишається актуальною у зв'язку з поширенням збудників зі зміненими біологічними властивостями, а також зі змінами в етіологічній структурі сальмонельозу: знизилась циркуляція хазяїн-адаптованих сальмонел *Salmonella gallinarum pullorum*, збільшується відсоток виділення *S. enteritidis* та *S. tiphymurium* [3, 4].

Проведені дослідження були спрямовані на визначення розповсюдженості збудників сальмонельозу, вивчення його етіологічної структури та встановлення основних джерел захворюваності людей на токсикоінфекцію в Україні.

Матеріали і методи. Аналіз та узагальнення епізоотологічних даних щодо сальмонельозу тварин проводили на підставі вивчення матеріалів офіційної звітності, які одержані в архівах Державного Комітету ветеринарної медицини та Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Результати досліджень. Як вже було зазначено, токсикоінфекції у людей викликають не тільки представники з роду *Salmonella*. На підставі ствердження багатьох вітчизняних та іноземних дослідників, що за останнє десятиріччя набувають вагомості значення інші збудники, нами було проаналізовано дані офіційної звітності. Метою проведеної роботи було встановлення відсоткового складу патогенів, які можуть викликати токсикоінфекції. Серед збудників були порівняні наступні: сальмонели, ешеріхії, стафілококи, стрептококи, протей та інші (лістерія, клебсієлла, цитробактер, кампілобактер, бацилюс, клостридії, ієрсинії). Динаміка виділення патогенів зображена на рис. 1.