



Рис. 1. Диаграмма рассеивания данных ( $n = 135$ ) титрования эталонной серии.

**Вывод.** Таким образом, методические подходы и экспериментальные результаты, изложенные в статье, могут быть полезны как исследователям, занимающимся разработкой новых или совершенствованием существующих лекарственных средств для ветеринарии, в том числе иммунобиопрепаратов, так и их изготовителям, заинтересованным в высоком качестве своей продукции.

Список литературы

1. Как соответствовать современным требованиям GMP? Ж. «Чистые помещения и технологические среды». – 2004. – № 4. – С. 8-11.
2. Положение о лаборатории доклинических испытаний потенциальных лекарственных средств и биологически активных добавок к кормам (утв. РАСХН декабрь 2001 г.) Еремец В.И., Токарик Э.Ф., Еремец Н.К., Калугин С.В. 3. Скотникова Т.А., Неминущая Л.А., Токарик Э.Ф., Смоленский В.И., Руденко Т.В., Горева И.П. Лабораторный рабочий эталонный материал: назначение, принципы приготовления, характеристика и калибровка //1 Международный ветеринарный конгресс по птицеводству (18-22 апреля 2005), – Москва. – 2005. – С.147-152. 4. Серия технических докладов ВОЗ. – 1990. – № 760. 5. Серия технических докладов ВОЗ. – 1991. – № 771.6. Скотникова Т.А. Совершенствование технологии производства и способов применения вакцин против ньюкаслской болезни. Автореф. дисс. докт. биолог. наук. Щелково. – 2010. – 48 с.

**LABORATORY WORKING REFERENCE MATERIAL IN MAINTENANCE AND QUALITY ASSURANCE VIRUS VACCINE AGAINST NEWCASTLE DISEASE**

**Skotnikova T.A., Neminushchaya L.A., Tokarik E.F., Samuilenko A.Ya., Yemets V.I.**

All-Russian Scientific Research Technical Institute for Biological Industry, Schelkovo, Russian Federation

In the given work results of working out and application in the conditions of laboratory and trial manufacture reference are presented a series virus vaccine against Newcastle disease (ND) from strain La-Sota. Researches are spent at working off of technological processes and the control operations directed on improvement of quality of a vaccine and ways of its application.

УДК 619:616.98:578.823.1:595.7

**ДО ПРОБЛЕМ ЕНТОМОЛОГІЧНОГО МОНИТОРИНГУ БЛЮТАНГУ**

**Стегній Б.Т., Філатов С.В., Кучерявенко Р.О.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

**Рубленко М.В.**

Національна академія аграрних наук України, м. Київ

Блютанг – неконтагіозна інфекційна хвороба свійських та диких жуйних, збудником якої є вірус, що належить до роду *Orbivirus*, родини *Reoviridae*. Основним шляхом передачі захворювання від однієї сприйнятливої тварини до іншої є біологічна трансмісія деякими видами кровосисних мокреців роду *Culicoides* (*Diptera: Ceratopogonidae*) [1]. За своїми екологічними особливостями збудник блютангу належить до арбовірусів, тобто здатний до реплікації в організмі двох філогенетично віддалених хазяїв, один з яких є кровосисним членистоногим та здійснює трансмісію вірусу до організму іншого – хребетної тварини, яка проявляє ознаки віремії. Такий механізм передачі є унікальним для групи арбовірусів, яка поєднує понад 500 видів з різних родин, кожна з яких, за єдиним виключенням (вірус африканської чуми свиней, родина *Asfarviridae*), є РНК-вмісними вірусами [2]. Вірус блютангу – типовий вид роду *Orbivirus*, всі представники якого мають геном у вигляді 10 сегментів двоспіральної РНК, здатні до реплікації в організмі членистоногих – переносників та є патогенами сільськогосподарських і диких тварин та людини. Окрім блютангу, до хвороб орбівірусної етіології, які мають особливе ветеринарне значення, відносять африканську чуму коней та епізоотичну геморагічну хворобу оленів. В епізоотології всіх трьох захворювань роль біологічних переносників відіграють мокреці [3].

Протягом останніх десятиріч багатьма дослідниками відмічається тенденція до глобалізації поширення арбовірусних захворювань. Хвороби, які раніше вважалися суто тропічними, розширюють свої нозоареали все далі і далі на північ. Частково це обумовлюється загальним потеплінням клімату та пов'язаним із ним розширенням ареалів переносників. Окрім того, суттєву

роль в цих процесах відіграє діяльність людини (урбанізація, міграція, міжнародна торгівля тощо). У цілому ж, механізми цього явища залишаються не до кінця зрозумілими, а тому – непередбачуваними. В повній мірі це відноситься і до хвороб орбівірусної етіології. Так, за останні 10 років, безпрецедентне за своїми масштабами та наслідками розширення нозоареалу блютангу, набуло значного резонансу і навіть стало класичним прикладом цих процесів [4, 5].

Станом на 2011 рік блютанг в Україні не зареєстровано, але існують значний ризик заносу його збудника з сусідніх країн та сприятливі умови для розвитку епізоотичного процесу (тобто неімунні популяції жуйних, розповсюдженість потенційних переносників вірусу та відсутність контролю захворювання) [6]. Згідно положень Санітарного кодексу наземних тварин МЄБ (СКНТ), статус території за відсутності клінічних проявів хвороби повинен визначатися шляхом проведення безперервних моніторингових досліджень, які були б частиною єдиної системи епізоотичного нагляду за захворюванням [7].

Зважаючи на необхідність впровадження програм з контролю та профілактики блютангу на державному рівні, слід відмітити, що моніторинг та прогнозування поширення арбовірусних захворювань є новою проблемою для спеціалістів ветеринарної медицини України, проблемою, яка потребує детального опрацювання та розробки загальних методичних підходів.

**Місце ентомологічного моніторингу в системі епізоотичного нагляду блютангу.** Епізоотичний нагляд – система динамічного комплексного спостереження за епізоотичним процесом захворювання та визначення його статусу в популяціях сприйнятливих тварин на окремих територіях з метою раціоналізації та покращення профілактичних та протиепізоотичних заходів. Проведення епізоотичного нагляду спряжене із систематичним збором, порівнянням та аналізом інформації пов'язаної з усіма ланками епізоотичного процесу.

Моніторинг – частина епізоотичного нагляду, періодичне проведення та аналіз стандартних досліджень і спостережень з метою виявлення змін в окремих ланках епізоотичного процесу або в стані здоров'я популяції [7, 8].

Виходячи з визначення, цілком зрозуміло, що система епізоотичного нагляду має бути спланована з урахуванням усіх ланок епізоотичного процесу захворювання. Оскільки блютанг – трансмісивна інфекція, важливими компонентами його епізоотології, які забезпечують визначення ступенів ризику захворювання, є векторна здатність окремих видів *Culicoides*, їх поширення, динаміка чисельності, трофічні зв'язки та тривалість зовнішнього інкубаційного періоду вірусу (останній розуміють як час необхідний для того, щоб інфікована комаха була здатна до передачі вірусу сприйнятливій тварини). Тому, поряд із серологічним моніторингом імпортованого в Україну та місцевого сприйнятливого поголів'я, одним із важливіших напрямків досліджень в системі епізоотичного нагляду хвороби є ентомологічний моніторинг.

Отже, основною метою ентомологічного моніторингу блютангу є – визначення різнорівневих зон ризику шляхом вивчення видового складу, поширеності та динаміки чисельності потенційних переносників.

**Мокреці, як переносники вірусу блютангу.** Серед майже 1500 видів світової фауни *Culicoides* лише невелика кількість відома як природні переносники вірусу блютангу, причому для кожної географічної області існують свої види «компетентних» переносників. Так для території Північної Америки такими видами є – *C. sonorensis* та *C. insignis* (південь США), для Центральної та Південної Америки – *C. insignis* та *C. pusillus*. В Австралії такими видами вважаються – *C. brevitarsis*, *C. wadai* *C. actoni*, *C. fulvus*; на більшій частині Старого Світу основним переносником вірусу вважається *C. imicola*, окрім того під час нещодавніх епізоотій на території Західної Європи були виявлені нові види переносників – *C. obsoletus*, *C. dewulfi*, *C. scoticus*, *C. pulicaris* та *C. punctatus*.

Причини, за якими одні види здатні підтримувати реплікацію вірусу в своєму організмі та здійснювати його подальшу трансмісію, а інші види не виявляють цієї здатності, досить складні і не до кінця зрозумілі. Зараз дослідниками прийнято вважати, що сприйнятливості мокреців до інфекції є спадковою рисою, тобто навіть різні популяції одного виду можуть мати різний рівень сприйнятливості до вірусу. Це означає, що оцінити векторну здатність того чи іншого виду можливо лише після проведення ретельних лабораторних досліджень багатьох популяцій з використанням різних серотипів і штамів вірусу [3, 9]. Окрім того, значним доказом є виділення або ідентифікація збудника в комах, зібраних в польових умовах під час спалахів захворювання. І хоча СКНТ не рекомендує проведення подібних досліджень в якості стандартної процедури для виявлення циркуляції збудника на певних територіях, види, відомі як переносники захворювання на території Європи, були визначені саме в такий спосіб [10, 11].

**Науково-методичні підходи щодо проведення ентомологічного моніторингу та стан вивченості фауни *Culicoides* в Україні.** У той час як збудник блютангу є одним з найбільш вивчених в морфологічному та молекулярно-генетичному плані вірусів тварин [12], досить багато незрозумілого залишається в питаннях його епізоотології, пов'язаних із переносниками. На сьогоднішній день мокреці залишаються однією з найменш вивчених груп кровососів, а методики та засоби, необхідні для визначення ключових особливостей екології переносників, досі залишаються на стадії розробки [13].

На сьогоднішній день в кожній з Європейських країн, які зазнали спалахів захворювання, а також в ендемічних щодо блютангу країнах (Австралія, США, Ізраїль), проводиться ентомологічний моніторинг переносників за допомогою світлопасток типу Onderstepoort. Ця процедура є детально опрацьованою та стандартизованою, дозволяє отримати найбільшу кількість комах, придатних для подальших морфологічних або вірусологічних досліджень. Разом з тим, окремими дослідниками відмічається, що застосування лише цього методу досліджень не відображує дійсних показників щодо видового складу та трофічних зв'язків мокреців і може призвести до неправильної оцінки векторної здатності тих чи інших видів [14].

Окремою проблемою ентомологічного моніторингу блютангу є правильне визначення видів – потенційних переносників. Разом із відсутністю кладистичного аналізу роду та підродів, існування близько пов'язаних криптичних видів (видів-близнюків), самиці, яких важко, а іноді зовсім не відрізняються за своїми морфологічними ознаками, значно ускладнює ситуацію. У зв'язку з цим, правильне визначення видів *Culicoides* залежить від детально розробленої таксономічної експертизи, яка потребує значного часу та високого рівня кваліфікації спеціаліста. З цієї причини, при проведенні ентомологічного моніторингу стандартним є визначення до комплексу – групи криптичних видів (наприклад *Obsoletus complex*, *Pulicaris complex*), яке базується на характеристиках малюнку крила та деяких інших морфологічних ознаках. Однак слід зазначити, що подібне визначення не завжди надійне, а також малоінформативне щодо векторної здатності окремих видів [13]. Останнім часом надії на вирішення цієї проблеми покладаються на застосування в систематичі засобів молекулярної діагностики. На сьогоднішній день закордонними

## **Розділ 1. Біобезпека та біозахист у ветеринарній медицині, емерджентні хвороби тварин**

спеціалістами розроблені протоколи РТ-ПЛР, які дозволяють швидко та надійно визначити окремі види *Obsoletus*, *Pulicaris* та *Imicola complex*, відомих як переносники блютангу на території Європи [15, 16].

Загальні підходи щодо проведення ентомологічного моніторингу при трансмісивних захворюваннях визначені в главі 1.5. СКНТ. Виходячи з її положень, на початкових етапах планування системи необхідний ретельний збір та аналіз наукової інформації, пов'язаної із поширенням та видовим складом переносників на певній території. Існування цієї інформації є ключовим елементом у визначенні зон ризику та місць подальших досліджень. Зважаючи на це, необхідно відзначити майже повну відсутність сучасних даних щодо видового складу та поширення мокреців роду *Culicoides* в Україні та її окремих регіонах. Найбільш вагомим внеском у цьому напрямку досліджень є роботи Г.К. Шевченко 1971-1977 років, згідно яких в Україні було виявлено 61 вид *Culicoides*, виділено окремі фауністичні комплекси для різних ландшафтно-кліматичних зон тощо [17, 18]. Однак, відзначаючи важливість цих робіт, необхідно підкреслити, що за даними 30-40 річної давності неможливо оцінювати сучасний стан ситуації, тому дослідження видового складу, сезонної динаміки чисельності та трофічних зв'язків мокреців в різних регіонах України є необхідним елементом ентомологічного моніторингу, який був би частиною загальної системи епізоотичного нагляду блютангу. Більше того – проведення моніторингових досліджень *Culicoides* потребують сумісних зусиль ентомологів, епізоотологів і вірусологів ветеринарного профілю.

### **Висновки.**

1. Зважаючи на високий ризик заносу вірусу блютангу в Україну, виникає нагальна необхідність до розробки та впровадження державної системи епізоотичного нагляду блютангу.

2. Розроблена система нагляду повинна бути інтегрованим комплексом фауністичних, вірусологічних, молекулярно-генетичних та картографо-статистичних досліджень.

3. Вважаємо, що успішна розробка та реалізація цієї програми може бути можливою лише завдяки спільним зусиллям науковців (ентомологів, вірусологів, біологів) та представників Державної ветеринарної служби України.

### *Список літератури*

1. Bluetongue in northern Europe / edited by Claude Saegerman, Francisco Reviriego-Gordejo and Paul-Pierre Pastoret ; OIE, Paris, ULg, 2008. – 90 p.
2. Goro Kuno and Gwong-Jen J. Chang Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends/ Kuno, G., Chang, G.// Clinical microbiology reviews – 2005. – 18(4) – p. 608–637.
3. Mellor, P.S. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors/ Mellor P.S., Boorman J., Baylis M. // Annu Rev Entomol. – 2000 – Vol. 45 – p. 307-340.
4. Emerging pests and vector-borne diseases in Europe / edited by Willem Takken and Bart G.J. Knols; Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, 2007. – 500 p.
5. N. James MacLachlan, Alan J. Guthrie Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other Orbivirus diseases/ McLachlan, J., Guthrie, A.// Veterinary research – 2010 – 41:P. 35 – 12.
6. Стегній, Б.Т. Заходи біобезпеки щодо блютангу в Україні / Б.Т. Стегній, В.С. Білокінь, В.І. Стеценко, Р.О. Кучерявенко, Г.В. Пилипенко // Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., – 2010. – Вип. 94 – С. 33-35.
7. OIE Terrestrial Animal Health Code 2010 // V.1 - Чап. 1.4, 1.5; V.2 – Чап. 8.3.
8. Покровский, В.И. Черкасский, Б.Л., Петров, В.Л. Противозидемическая практика. // – М.: – Пермь, 1998.
9. Mellor, P.S. Infection of the vectors and bluetongue epidemiology in Europe/ Mellor P.S.// Veterinaria Italiana – 2004. – 40(3) – p. 167-164.
10. Mehlhorn, H. First occurrence of *Culicoides obsoletus*-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe / Mehlhorn H, Walldorf V, Klimpel, S, Jahn, B, Jaeger, F, Eschweiler, J, Hoffmann, B, Beer, M. // Parasitol Res. – 2007 – 101(1) P. 219-228.
11. S. Caracappa Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily / S. Caracappa, A. Torina, A. Guercio, F. Vitale, A. Calabrt, G. Purpari, V. Ferrantelli, M. Vitale, P. S. Mellor // Veterinary Record – 2003 – 153 – P. 71-44.
12. Segmented Double-stranded RNA Viruses: Structure and Molecular Biology / edited by John T. Patton; Caister Academic Press, USA, 2008. – 374 p.
13. Goffredo, M. Entomological surveillance of bluetongue in Italy: methods of capture, catch analysis and identification of *Culicoides* biting midges/ Goffredo, M., Meiswinkel R. // Veterinaria Italiana – 2004. – 40(3) – p. 260-265.
14. Carpenter, S. An assessment of *Culicoides* surveillance techniques in northern Europe: have we underestimated a potential bluetongue virus vector?/ Carpenter et al. // Journal of applied ecology – 2008 – 45 – p. 1237 – 1245.
15. Nolan, D.V. Rapid diagnostic PCR assays for members of the *Culicoides obsoletus* and *Culicoides pulicaris* species complexes, implicated vectors of bluetongue virus in Europe./ Nolan et al. // Veterinary microbiology – 2007. – Sep 20;124(1-2) – P. 82-94.
16. Cetre-Sossah C. Molecular detection of *Culicoides* spp. and *Culicoides imicola*, the principal vector of bluetongue (BT) and African horse sickness (AHS) in africa and Europe / Cetre-Sossah et al. // Veterinary research – 2004 – 35 – p. 325-337.
17. Шевченко, А.К. Кровососущие мокрецы (Diptera, Ceratopogonidae, Leptoconopidae) Украины [Текст] : автореф. дис. д-ра биол. наук: 29.06.1971 / А.К. Шевченко ; [Ин-т зоологии АН УССР]. – К., 1971. – 57 с.
18. Фауна України [Текст]: Том 13, Вип. 1. Кровосисні мокреці / Г. К. Шевченко. – Київ : Наукова думка, 1977. – 253 с.

## **ON THE PROBLEMS OF THE ENTOMOLOGICAL SURVEILLANCE OF BLUETONGUE**

**Stegniy B.T., Filatov S.V., Kucheryavenko R.O.**

*National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv*

**Rublenko M.V.**

*National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv*

*In this article outlines the main activities and the role of the entomological surveillance of the vectors within bluetongue surveillance system. The primary purpose of such investigations is to provide data for the risk zone assessment. Also the main challenges and requirements of this activity elucidated. Authors stress the needs that methods of surveillance should be standardized according to the OIE demands.*