

12. Allan G. M. Porcine circoviruses: a review / G. M. Allan, J. A. Ellis // J. of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2000. – N 12. – P. 3–14.
13. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease / P. Meerts [et al.] // BMC Veterinary Research. – 2006. – Vol. 2. – P. 6.
14. Dulac G. Porcine circoviruses antigens in PK 15 cell line (ATCC CCLL 33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs / G. Dulac, A. Afshar // Canad. J. of Veterinary Research. – 1989. – Vol. 53. – P. 431–433.
15. Fort de Puig M. Characterization of Immune Responses to Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Infection and Vaccination in Pigs / Fort de Puig M. – Bellaterra : Facultat de veterinaria de Barcelona, 2009. – 149 p.
16. Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV-2) and nonpathogenic PCV 1 in weanling pigs / M. Fenaux [et al.] // J. of Virology. – 2003. – Vol. 77. – P. 11232–11234.
17. Lyoo K. S. Virologic, epidemiologic, and prophylactic investigation on porcine circovirus type 2 infection in pigs / K. S. Lyoo. – Mode of access : http://conservancy.umn.edu/bitstream/53718/1/Lyoo_umn_0130E_10499.pdf. – Title from the screen.
18. The Circoviridae // Virus taxonomy. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / F. A. Murphy [et al.]. – Vienna and New York : Springer Verlag, 1995. – P. 166-168.

INDICATORS OF LEVEL POSTINFECTION NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE TWO IN THE BLOOD SERUM OF WILD BOARS

Sytiuk M.P.

Institute of veterinary medicine NAAS of Ukraine, Kiev

Goal. Determine the level of specific humoral antibodies against circovirus type two in the blood sera of wild boars.

Materials and methods. In total, 6820 blood sera collected for the period 2001–2013 years of hunted wild boars in different regions of Ukraine. Research on the presence of specific humoral antibodies against circovirus type two in the blood sera of wild boars conducted by immunoperoxidase test in neutralization reaction. The studies were used: continuous cell cultures SK-6, the reference virus PCV-2 strain «Stoon 1010»; positive serum against PCV-2 virus; growing medium - DMEM; fetal serum of cattle; versene solution; 0.25 % trypsin solution. Antibody titers were expressed two-fold dilution and log with base 2 (log₂).

Results. Total neutralization reaction we investigated 6820 blood sera of wild boars for the presence of specific neutralizing antibodies against circovirus type two between 2001 and 2013 years, on the territory 76.3 % of districts in all regions of Ukraine. Positive sera to the virus identified 2149 and negative - 4671. Submitted ratio titers of specific neutralizing antibodies against porcine circovirus type two in sera of wild boars was: 0.05 % blood sera (1 sample) had titers of 2 log₂; 16.15 % (347 samples) – 3 log₂; 22.15 % (476 samples) – 4 log₂; 17.17 % (369 samples) – 5 log₂; 19.03% (409 samples) – 6 log₂; 14.19 % (305 samples) – 7 log₂; 8.61 % (185 samples) – 8 log₂; 2.28% (49 samples) – 9 log₂; 0.37 % (8 samples) – 10 log₂. Average level of antibodies in the sera of wild boars become (5,3 ± 0,04 log₂), and dominant – 4 log₂.

Conclusions. 1. According to the results of the investigations showed that among 6820 blood sera from hunted wild pigs in 2149 (31.5 %) samples were positive for circovirus type two.

2. Our data indicate that infection field virus these wildlife species and spread it in herds of wild pigs.

3. Heterogeneity indicators of the level of antibodies in the sera of wild pigs against circovirus second type may be due to several factors - the virulence of the virus, the dose of virus infection, reactivity organism.

Keywords: porcine circovirus type two, wild boars, immunoperoxidase test in neutralization reaction, antibody titers.

УДК 619:616.98:578.831.1:636.5

ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕПІЗООТИЧНИХ ВЕЛОГЕННИХ І МЕЗОГЕННИХ ШТАМІВ ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІЗОЛЬОВАНИХ В УКРАЇНІ

Стегній А.Б.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті наведені результати досліджень біологічних властивостей велогенного та мезогенного епізоотичних вірусів ньюкаслської хвороби, які були ізольовані від курей в різні роки та в різних регіонах України. Встановлено індекс інтрацеребральної патогенності, визначена патогенність за середнім часом загибелі КЕ, патогенність для дорослих курей, вивчені клінічні ознаки та патологоанатомічні зміни. За результатами досліджень визначено можливість використання цих вірусів в якості контрольних і вакцинних штамів.

Ключові слова: вірус, ньюкаслська хвороба, клінічні ознаки

Ньюкаслська хвороба – одна з найнебезпечніших вірусних хвороб сільськогосподарських і диких птахів у світі. Дуже поширена в більшості країн світу з розвиненим птахівництвом. Спалахи захворювання постійно реєструються в Європі, Азії, Африці та Америці [1, 2], відносна стабільність щодо цього захворювання спостерігається в країнах Океанії [3]. Що стосується України, то вона вважалася вільною від ньюкаслської хвороби з 1992 року. Останній, офіційно зареєстрований випадок захворювання було встановлено в січні 2006 року на одній з птахофабрик Харківської області. Після комплексу протиепізоотичних заходів з червня 2007 року територія України за даними Державного комітету ветеринарної медицини України та МЕБ вільна від ньюкаслської хвороби. Але необхідно зазначити, що в деяких малих присадибних господарствах громадян, де утримується свійська птиця різних видів без дотримання основних ветеринарно-санітарних вимог, реєструються випадки захворювання та загибелі птиці на НХ.

Важливим елементом моніторингу ньюкаслської хвороби є вивчення біологічних властивостей різних епізоотичних штамів. Ця інформація дозволяє отримувати інформацію щодо циркулюючих штамів вірусу ньюкаслської хвороби, проводити підбір вакцинних і контрольних штамів. У зв'язку з вище зазначеним метою наших досліджень було вивчити та порівняти біологічні властивості двох вірусів ньюкаслської хвороби, які ізольовані від курей в різних регіонах та в різні роки.

Матеріали та методи. У дослідженнях використовували штами вірусу ньюкаслської хвороби НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 та ЛГ-85. Збудника розмножували на 9–11 добових курячих СПФ ембріонах. Патогенність вірусів визначали за інтрацеребральним індексом патогенності, середнім часом загибелі курячих ембріонів, інфікованих мінімальною летальною дозою за загальноприйнятими методиками МЕБ [4]. Дорослих курей інфікували інтраназально та внутрішньом'язово в дозі 0,2 мл екстраембріональною рідиною вільною від бактеріальної та грибової контамінації в розведенні 1:10.

Результати досліджень. Вірус НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 було ізольовано у відділі вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» з патологічного матеріалу загиблих курчат. Матеріал було доставлено з присадибного господарства м. Івано-Франківськ. Дослідження цього вірусу розпочали з визначення біологічної активності та титру гемаглютининів. Для досліджень було використано ІІІ пасаж на КЕ. Титр в РГА становив 1:128–1:1024. Інфекційний титр коливався від 7 Іg ЕІД_{50/0,2 мл} до 7,78 Іg ЕІД_{50/0,2 мл}. Вірус викликав загибель ембріонів, титр біологічної активності за летальністю для КЕ становив 8,0 Іg ЕЛД_{50/0,2 мл}.

Наступним етапом було визначення патогенності вірусу за середнім часом загибелі КЕ, інфікованих мінімальною летальною дозою. За результатами досліджень встановлено, що мінімальною летальною дозою, яка викликала загибель 100 % інфікованих КЕ є розведення 10⁻⁷. Виходячи з цього проведено розрахунок СЧЗ КЕ. Для вірусу НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 він становив 60 годин. Згідно існуючої класифікації цей вірус був віднесений до везикулярних вірусів ньюкаслської хвороби.

Крім того, належність вірусу до патогенних або непатогенних визначали за інтрацеребральним індексом патогенності (ІЦІП). Визначення ІЦІП проводили за методикою рекомендованою МЕБ. Результати спостереження за добовими курчатами наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Визначення ІЦІП ізоляту НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007

Клінічний стан курчат	стан	Доба спостереження								Сума балів
		1	2	3	4	5	6	7	8	
		Кількість курчат з специфічними ознаками, гол								
Нормальний клінічний стан		10	1	1	0	0	0	0	0	12x0=0
Хворі		0	3	3	1	0	0	0	0	7x1=7
Загиблі		0	6	6	9	10	10	10	10	61x2=122
Всього										129/80
ІЦІП										1,61

За інфікованими добовими курчатами було встановлено спостереження. Перебіг інфекції у курчат був гострий: вже через 48 годин загинуло 60 % курчат інфікованих у добовому віці, у 30 % – проявлялися клінічні ознаки у вигляді тремтіння, важкого дихання та тільки 10 % курчат не мали ніяких відхилень від нормального фізіологічного стану. Протягом наступних 72 годин у хворих курчат проявилися паралічі кінцівок. Через 120 годин після інфікування всі інфіковані курчата загинули. Після обрахунку результатів ІЦІП вірусу НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 становив 1,61.

Крім того, було проведено інфікування дорослих курей 100 добового віку, які не мали антитіл проти вірусу ньюкаслської хвороби. Метою досліду було визначити патогенність цього вірусу для дорослих курей. Інфікування проводили внутрішньом'язово та інтраназально в дозі 0,2 мл екстраембріональною рідиною вільною від бактеріальної та грибової контамінації в розведенні 1:10. Після інфікування за курчатами встановили спостереження. Результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати спостереження за курами інфікованими вірусом НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007

Спосіб інфікування	Клінічний стан курчат	Доба спостереження				
		1	2	3	4	5
		Кількість курчат зі специфічними ознаками, голів				
Внутрішньом'язово n=5	Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
	Хворі	0	0	0	4	1
	Загиблі	0	0	0	1	4
Інтраназально n=5	Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
	Хворі	0	0	0	5	4
	Загиблі	0	0	0	0	1

У дорослих курей інфікованих інтраназально та внутрішньом'язово вірусом НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 перші клінічні ознаки та загибель були виявлені через 96 годин після інфікування. Найбільш характерними клінічними ознаками були пригнічення, нервові явища (тремор, хитання голови), набряк, синюшність голови, діарея. Протягом 48 годин від моменту появи перших клінічних ознак 25–60 % курей загинули. При розтині загиблих та вимушено забитих хворих курей були виявлені типові патологоанатомічні зміни, характерні для ньюкаслської хвороби: чітко виражені крововиливи на сосочках залозистого шлунку та наявність «пояска» на межі з м'язовим шлунком, потовщення стінок залозистого шлунку, різке збільшення з ознаками дифтеритичного запалення залоз, розташованих у місці біфуркації сліпих кишок. Крім того, геморагічні враження виявлялися на слизовій оболонці прямого кишечника у вигляді плямистих крововиливів.

Наступним етапом було проведення досліджень вірусу ньюкаслської хвороби ЛГ-85, який було ізолювано від хворих курей одного з птахівничих господарств Луганської області в 1985 році. Для досліджень було використано матрову розплодку вірусу з гемаглютинуючою активністю 1:512, яка зберігалася в колекції відділу вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ». Інфекційний титр вірусу становив 8,12 Іг ЕІД50/0,2 мл. Цей вірус також викликав загибель КЕ. Летальний титр становив 8,66 Іг ЕІД50/0,2 мл. Також нашим завданням було визначити середній час загибелі КЕ, інфікованих мінімальною летальною дозою. Встановлено, що мінімальною летальною дозою, яка викликала загибель 100 % інфікованих КЕ, є розведення 10^{-8} . Виходячи з цього, після обрахунку середній час загибелі КЕ, інфікованих мінімальною летальною дозою, для вірусу НХ штам ЛГ-85 становив 90 годин. Патогенність вірусу була визначена також за інтрацеребральним індексом патогенності на добових курчатах. Результати спостереження за курчатами та обрахунку ІЦІП наведені в таблиці 3.

Таблиця 3 – Визначення ІЦІП ізоляту ЛГ-85

Клінічний стан курчат	Доба спостереження								Сума балів
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	Кількість курчат з специфічними ознаками, гол								
Нормальний клінічний стан	10	4	4	3	3	3	3	3	33x0=0
Хворі	0	0	0	1	1	1	1	1	5x1=5
Загиблі	0	6	6	6	6	6	6	6	42x2=84
Всього									129/80
ІЦІП									1,11

При спостереженні за курчатами, інфікованими вірусом НХ штам ЛГ-85 у добовому віці, через 48 годин була зареєстрована загибель 60 % курчат. Інші 40 % курчат залишалися клінічно здоровими. При подальшому спостереженні тільки у 10 % курчат з'явилися клінічні ознаки, які проявлялися малорухливістю, відмовою від корму. Протягом наступних 72 годин була зареєстрована загибель тільки курчат з клінічними проявами, усі інші залишалися клінічно здоровими протягом усього періоду спостережень. Після завершення дослідів було обраховано ІПІП, який становив 1,11 для вірусу «ЛГ-85».

Було також проведено інтраназальне та внутрішньом'язове інфікування дорослих курей 100 добового віку, які не мали антитілу проти вірусу ньюкаслської хвороби. Після інфікування за курчатами встановили спостереження. Результати наведені в таблиці 4.

Таблиця 4 – Результати спостереження за курами інфікованими вірусом ЛГ-85

Спосіб інфікування	Клінічний стан курей	Доба спостереження				
		1	2	3	4	5
		Кількість курчат зі специфічними ознаками, голів				
Внутрішньом'язово n=5	Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
	Хворі	0	0	0	5	5
	Загіблі	0	0	0	0	0
Інтраназально n=5	Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
	Хворі	0	0	0	5	5
	Загіблі	0	0	0	0	0

Клінічні прояви інфекції у курей не залежно від способу інфікування були виявлені тільки через 96 годин після введення вірусу. Клінічні ознаки проявлялися пригніченістю птиці, відмовою від корму та води, скуйовдженістю пір'я. Необхідно зазначити, що протягом усього періоду спостереження загибелі курей встановлено не було. При розтині вимушено забитої птиці були виявлені такі патологоанатомічні зміни: крововиливи та запалення залоз у місці біфуркації сліпих відростків, різке збільшення розмірів селезінки, яка мала бліде плямисте забарвлення.

Висновки. За результатами проведених досліджень вивчені біологічні властивості (інфекційний, летальний титр та патогенність) для двох епізоотичних вірусів ньюкаслської хвороби, що були ізольовані від хворих курей в Івано-Франківській та Луганській областях в 2007 та 1985 роках. Встановлено, що ці віруси незначним чином відрізняються один від одного за активністю та патогенністю. Вірус НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 добре культивується в курячих ембріонах і накопичується в титрах 7–7,78 lg ЕІД_{50/0,2 мл} та 8,0 lg ЕЛД_{50/0,2мл}. Титр гемаглютининів становить 1:128-1:1024. За результатами визначення патогенності (інтрацеребральний індекс патогенності становить 1,61, середній час загибелі курячих ембріонів інфікованих мінімальною летальною дозою – 60 годин), вірус належить до високопатогенних велогенних. Вірус викликає класичну форму ньюкаслської хвороби з клінічними ознаками та патологоанатомічними змінами у дорослих курей інфікованих інтраназально та внутрішньом'язово.

Вірус ньюкаслської хвороби штам ЛГ-85 також добре культивується в курячих ембріонах і накопичується в титрах 8,12 lg ЕІД_{50/0,2 мл} та 8,66 lg ЕЛД_{50/0,2 мл}. Титр гемаглютининів становить 1:512. За результатами визначення патогенності (інтрацеребральний індекс патогенності становить 1,11, середній час загибелі курячих ембріонів інфікованих мінімальною летальною дозою – 90 годин), вірус належить до мезогенних вірусів. Вірус викликає класичну форму ньюкаслської хвороби з клінічними ознаками та патологоанатомічними змінами у дорослих курей інфікованих інтраназально та внутрішньом'язово.

Таким чином, за біологічними властивостями вірус НХ/курка/Івано-Франківськ/58/2007 є перспективним та може бути використаний в якості контрольного епізоотичного штаму при вивченні імуногенності вакцин проти ньюкаслської хвороби, а вірус ЛГ-85 можна використовувати як вакцинний штам для виробництва виключно інактивованих вакцин.

Список літератури

1. Alexander D.J. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections [Text]: Diseases of Poultry / Ed.B.W. Calnek et al. - 10-th Ed. - Iowa: Iowa Stat University Press. - 1997. - P. 541-569.
2. Alexander D.J. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections [Text] / D.J. Alexander // Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. - 2000. - Vol. 19, № 2. - P.443-456.
3. Spradbrow P.B. Geographical distribution [Text]: Newcastle disease / Ed. D.J.Alexander.- Boston: Kluwer Academic Publishers. - 1988. - P.247-255
4. OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електр. пєсурп] / Спосіб доступу: <http://www.oie.int>.- Заголовок з екрану

COMPARATIVE STUDIES THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF EPIZOOTIC VELOGENIC AND MESOGENIC STRAINS OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATED IN UKRAINE

Stegniy A.B.

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

Newcastle disease – is one of the most dangerous viral diseases of farm and wild birds in the world. It is widely distributed in most countries with a developed poultry.

Purpose. To study and compare the biological properties of two Newcastle disease virus that are isolated from chickens in different regions and in different years.

Materials and methods. We used Newcastle disease virus strains NDV/hens/Ivano-Frankovsk/58/2007 and LG-85 in studies. Pathological agent was propagated in 9–11 daily SPF chicken embryos. Pathogenicity

of viruses was determined by the intracerebral pathogenicity index, the average time of death of chicken embryos infected with minimum lethal dose by conventional methods of OIE [4]. Adult chickens were infected intranasally and intramuscularly at a dose of 0.2 ml extraembryon liquid free from bacterial and fungal contamination in a dilution of 1:10.

Results. It was established that infectious titer of NDV/hens/Ivano-Frankovsk/58/2007 virus ranged from 7 lg EID₅₀/0.2 ml to 7,78 lg EID₅₀/0.2 ml. The virus has caused the death of embryos, titer of biological activity for mortality for CE was 8,0 lg ELD₅₀/0.2 ml. For virus NDV/hens/Ivano-Frankovsk/58/2007 average time of CE death was 60 hours. Intracerebral pathogenicity index was 1.61. When intranasally and intramuscularly infection of 100 daily adult hens who had not antibodies against Newcastle disease virus, first clinical signs and death were found after 96 hours after infection.

Infectious titer of LG-85 virus was 8,12 lg EID₅₀/0.2 ml, lethal – 8,66 lg ELD₅₀/0.2 ml. Average time of CE death infected with minimum lethal dose was 90 hours, and intracerebral pathogenicity index – 1.11. When infected of adult chickens with virus clinical signs of infection in chickens regardless of the way of infection were detected only in 96 hours after virus administration.

Conclusions. By the results of research there were found no significant differences between the biological properties of epizootic ND viruses that are isolated at different times and in different places.

Keywords: virus, Newcastle disease, clinical signs

УДК 619:616.98:578.825.1:616-085.371:636.5

СУЧАСНИЙ СТАН НАУКОВОГО СУПРОВОДУ ХВОРОБИ МАРЕКА (Огляд літератури)

Стегній Б.Т., Стегній М.Ю., Состін Д.Д.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: stegniy@vet.kharkov.ua

У статті наводяться дані літератури щодо проблеми хвороби Марека, етіології, патогенезу, клінічної картини, патологоанатомічних змін та профілактики захворювання.

На сьогодні однією з важливих проблем птахівництва є хвороба Марека, не тільки через її непередбачуваність, але і тому, що дієві вакцини, які використовувалися в минулому стають малоефективними у сучасний час і це може привести до того, що в майбутньому збитки від цієї хвороби можуть бути катастрофічними.

Економічні збитки від захворювання коливаються від 10 % до 60 %, залежно від форми прояву хвороби. Крім того, необхідно враховувати і витрати на ветеринарно-санітарні заходи щодо ліквідації захворювання та збитки за рахунок зниження продуктивності.

Вакцинація птиці є одним із важливіших методів боротьби з хворобою Марека. Зараз є багато комерційних вакцин проти цього захворювання, виготовлених із різних штамів вірусу хвороби Марека, які готують у вигляді моно-, бі- і полівалентних культуральних вакцин.

Найбільш поширеними вакцинами проти хвороби Марека є: моновалентна ліофілізована, бівалентна культуральна рідка кріоконсервована за температури -196 °С та полівалентна культуральна рідка кріоконсервована за температури -196 °С вакцини, виготовлені із атенуйованих штамів першого серотипу вірусу хвороби Марека, з природньоослаблених неонконенних штамів другого серотипу та зі штамів гетерологічного вірусу герпесу індиків.

На ринку України можна зустріти велику кількість вакцин проти цього захворювання (Nobillis Rismavac, TAD Marec vac forte, Cryomarex Rispons + HVT, «Авівак Марек-3», «Авівак Марек-1+3», «Авівак Марек-1+2+3»), проте всі вони закордонні. Тому розробка вітчизняних вакцин, з актуальних в Україні штамів є важливою проблемою.

Ключові слова: хвороба Марека, серотип, етіологія, патогенез, профілактика.

Хвороба Марека є глобальною проблемою не тільки через її непередбачуваність, навіть при передовій стратегії імунізації, але і тому, що ефективні вакцини, які були у недавньому минулому, можуть бути малоефективними у сучасний час, а це може привести до того, що в майбутньому збитки від цієї хвороби будуть катастрофічними [1].

Хвороба Марека (лат. – Morbus Marec; англ. – Marek's Disease; нейролімфатоз птахів, параліч птахів, інфекційний нейролімфатоз птахів, ензоотичний нейроенцефаломієліт птахів, ХМ) – висококонтагіозна вірусна хвороба курей та індиків, що проявляється у двох формах: класичній (ураження периферичної та центральної нервової систем) і гострій (лейкотичні ознаки та раптова масова загибель птиці). До застосування вакцинопрофілактики хвороба Марека завдавала значних економічних збитків птахівництву, які проявлялися загибеллю й вимушеним забоєм птиці, зниженням її продуктивності та якості продукції [2, 3, 4, 5, 6].