

of biologically hazardous substances, for prevention of extraction of biologically dangerous materials, that can cause damage to the health to the people, animals, plants and environment, and also with the purpose of defence of experimental standards.

In the article the basic requirements are reflected on biosafety and biodefence during work in the laboratories of veterinary medicine. Basic principles over and approaches are brought during work with biologically pathogenic agents in the laboratories of experience and scientific organizations virologic and bacteriological directions.

On this basis every laboratory virologic and bacteriological directions must have a corresponding package of guidances and norms on biosafety and biodefence. This documentation must have in itself information about well-known and potential dangers, and also practice and procedures that in the end must remove or take to the minimum risks of some types of danger in a laboratory.

Keywords: biosafety, biodefence, veterinary medicine, laboratory, basic requirements.

УДК 619:616.98-036.22:578.831.11:578.834.11:578.826.1:636.5(477)

ЕПІЗООТОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ ТА СИНДРОМУ ЗНИЖЕННЯ НЕСУЧОСТІ СЕРЕД ПОГОЛІВ'Я СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ ПТАХОГОСПОДАРСТВ ОБЛАСТЕЙ УКРАЇНИ

**Стегній Б.Т., Кошелєв В.В., Музика Д.В., Стегній А.Б., Рула О.М.,
Ткаченко С.В., Колесник О.С., Назарець О.С.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: dmuzyka77@gmail.com*

У статті наведені дані проведення імунологічних досліджень серед поголів'я сільськогосподарської птиці різних вікових груп птахогосподарств України щодо наявності у сироватках крові антитіл до ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості, надано результати аналізу епізоотологічної ситуації щодо можливої циркуляції епізоотичних штамів даних вірусів.

Ключові слова: ньюкаслська хвороба, інфекційний бронхіт курей, синдром зниження несучості, сироватки крові, сільськогосподарська птиця.

У зв'язку з інтенсифікацією виробництва у сфері птахівництва України, за останні роки, почало все більше з'являтися крупних птахокомплексів, з великою кількістю високопродуктивного поголів'я курей. Значна кількість стрес-факторів, що впливає на птицю, є передумовою для розвитку спектру вірусних інфекцій. На сьогоднішній день серед небезпечних вірусних захворювань, особливе місце зайняли збудники ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості, які діючи порізно, або, як правило, в асоціації наносять катастрофічну, з економічної точки зору, шкоду. При цьому збиток стає більш відчутним, коли ці захворювання вражають птицю племінних птахогосподарств.

Хвороба Ньюкасла (лат. *Pseudopestis avium*), псевдочума птахів або азіатська чума птахів – гостре інфекційне вірусне захворювання птахів (головним чином, курей). Характеризується пневмонією, енцефалітом і множинними крапковими геморагічними ураженнями внутрішніх органів. Збудником є РНК вірус з сімейства *Paramyxoviridae*. Уперше описана в Ньюкасл-апон-Тайні (Великобританія) у 1926 році. Вірус становить велику загрозу домашній птиці у зв'язку з її високою чутливістю до нього. Хвороба є ендемічною в багатьох країнах. Контакт людей з інфікованими птахами (наприклад на птахофабриках) може викликати легкий кон'юнктивіт та грипоподібні симптоми, але вірус Ньюкасла не становить жодної небезпеки для здоров'я людини [1].

Інфекційний бронхіт курей – висококонтагіозне захворювання курей різного віку, яке викликається коронавірусом і проявляється респіраторними, нефрозонефритними синдромами та ураженням репродуктивних органів курей, що приводить до зниження несучості (на 30–40 %) та якості яєць [2].

Синдром зниження несучості '76 (СЗН 76) – захворювання, що викликається аденовірусом. Хвороба характеризується зниженням яєчної продуктивності, втратою кольору в коричневих яєць, розм'якшення шкаралупи та порушенням структури білка. Вважається, що резервуаром вірусу початково були качки та гуси. Захворювання в сімдесяти роки завдало багато шкоди птахівництву [3].

Виходячи з вищезазначеного, стає зрозумілим, що дані збудники мають ключове значення для економіки та торгівлі, здатні до широкого транскордонного поширення. Україна потребує постійного проведення епізоотологічного моніторингу збудників ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості з метою попередження та своєчасного реагування у випадку спалахів цих захворювань. Моніторингові дослідження також дозволять отримати новітні дані щодо циркуляції вірусів, розповсюдження та виявлення найбільш проблемних зон на території України.

Мета роботи: провести епізоотологічний моніторинг серед поголів'я сільськогосподарської птиці різних вікових груп птахогосподарств України щодо ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості, з використанням серологічних досліджень визначити наявність титрів антитіл у сироватках крові.

Матеріали та методи. Вивчення епізоотичної ситуації щодо ньюкаслської хвороби проводили в 4 птахогосподарствах 3 областей України. Так, з птахогосподарства № 1 Івано-Франківської області надійшло для дослідження 40 проб сироваток крові від птиці з двох пташників, вік курей становив 255 та 249 діб. З птахогосподарства Чернівецької області з утримання курей-несучок для дослідження з двох пташників надійшло 50 проб сироваток крові, вік курей становив 232 та 236 діб. Досліджено сироватки крові, відібрані від курей-молодок 107-добового віку з птахогосподарства № 2 Івано-Франківської області. Також на наявність антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби досліджували сироватку крові курей з птахогосподарства Харківської області.

Відбір крові, з метою вивчення епізоотичної ситуації щодо інфекційного бронхіту курей, проводили від курей-несучок птахогосподарств трьох областей України: Івано-Франківської, Харківської, Чернівецької та Луганської. Усього досліджено 110 проб крові.

Серологічні дослідження щодо наявності антитіл до синдрому зниження несучості проводили в Івано-Франківській області, у господарстві з утримання курей-несучок, вік птахів складав 255 та 349 діб та курей-молодок 107-добового віку.

Для проведення серологічних досліджень (виявлення антитіл) використовували сироватки крові курей. Відбір крові від птиці проводили з підкрильцевої або з яремної вени [4]. Отримання сироваток, подальшу підготовку здійснювали за загальноприйнятими методиками [5]. Рівень антитіл до ньюкаслської хвороби та синдрому зниження несучості визначали у РЗГА згідно методик МЕБ [6], з використанням референтних сироваток крові до параміксовірусів та аденовірусів виробництва національної та МЕБ Референс-лабораторії з грипу та ньюкаслської хвороби Інституту Зоопротилітики (National, OIE and FAO Reference Laboratory of Avian Influenza and Newcastle Disease Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie) м. Падуя, Італія.

Рівень антитіл до вірусів ІБК та ІЛТ досліджували в ІФА з використанням тест-систем, які розроблені та виготовлені в ННЦ «ІЕКВМ», а також закордонних аналогів – «Sivtest» (Іспанія) та «IDEXX» (США) згідно вимог МЕБ [6].

Вірусологічні дослідження щодо НХ та ІБК проводили на курячих ембріонах (КЕ) 9–10-добового віку, вірусу СЗН – на качиних ембріонах (КачЕ) 9–10-добового віку, отриманих від батьківського стада, благополучного з інфекційних захворювань.

При розтині, екстраембріональну рідину та хоріон-алантоїсні оболонки від кожного ембріону відбирали індивідуально в окремі флакони. Гемаглютинуючу активність вірусу визначали в РГА в полістиролових планшетах з V-подібною формою дна з використанням 1 % суспензії еритроцитів півня згідно рекомендаціям МЕБ [6].

Критерієм відбору вірусмішуючого матеріалу для подальшого пасажування були якість екстраембріональної рідини, час загибелі КЕ та титр гемаглютининів (стосується гемаглютинуючих вірусів).

Інфікування КачЕ здійснювали в алантоїсну порожнину в дозі 0,2 см³. Період інкубування інфікованих ембріонів за температури (37±0,5) °С та відносній вологості 60 % становив 96–120 годин.

Результати досліджень. Вивчення епізоотичної ситуації щодо ньюкаслської хвороби проводили у птахогосподарстві № 1 Івано-Франківської області. Для дослідження надійшло 40 проб сироваток крові від птиці з двох пташників. Дослідженням на наявність антитіл до вірусу НХ у птиці 255-добого віку встановлено їх наявність в розведеннях від 1:256 до 1:32768, при цьому відношення CV становило 12,1, а напруженість імунітету – 100 %. Через 30 діб провели повторне дослідження сироваток крові від курей з того ж пташника. На момент дослідження титри до вірусу НХ коливалися в межах від 10 до 13 log₂, напруженість імунітету становила також 100 %.

У курей віком 349 діб з тієї ж птахофабрики, але іншого пташника, коливання антитіл становили від 1:64 до 1:8192, показник CV – 31,86, а напруженість імунітету – 95 %.

З птахогосподарства Чернівецької області з утримання курей-несучок для дослідження надійшло 50 проб сироваток крові від птиці з двох пташників віком 232 та 236 діб. В обох випадках встановлено 100 % напруженість імунітету. Якщо у молодших курей коливання титрів антитіл становило від 8 до 13 log₂ з перевагою титрів 1:1024 та 1:2048, то у доросліших – від 9 до 13 log₂ з переважною більшістю титрів 1:4096 та 1:8192.

При дослідженні сироваток крові, відібраних від курей-молодок 107-добового віку з птахогосподарства № 2 Івано-Франківської області, встановлено напруженість імунітету на рівні 100 %, при цьому коливання титрів антитіл становили від 6 до 10 log₂.

Також на наявність антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби досліджували сироватку крові курей з птахогосподарства Харківської області. У результаті досліджень встановлено строкатість антитіл від 1:32 до 1:4096, хоча напруженість імунітету становила 100 %. Результати зазначених досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати серологічних досліджень щодо наявності антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби

Ч/ч	Область, де проводились дослідження	Кількість досліджених проб	Результат досліджень
1	Птахогосподарство № 1, пташник № 1 Івано-Франківської області, Кури віком 255 діб	40	Титр АТ 1:256 до 1:32768 (через 30 діб 1:1024 до 1:8192) CV 12,1 напруженість імунітету – 100 %
2	Птахогосподарство № 1, пташник № 2 Івано-Франківської області, Кури віком 349 діб	20	Титр АТ 1:64 до 1:8192 CV 31,86 напруженість імунітету – 95 %

Розділ 1. Проблеми біобезпеки та біозахисту

3	Птахогосподарство № 1 Чернівецької області Кури віком 232–236 дів	50	Титр АТ 1:256 до 1:8192 напруженість імунітету – 100 %
4	Птахогосподарство № 2 Івано-Франківської області, Кури віком 107 дів	20	Титр АТ 1:64 до 1:1024 напруженість імунітету – 100%
5	Птахогосподарство №1 Харківської області, Кури віком 213 дів	20	Титр АТ 1:32 до 1:4096 напруженість імунітету – 100 %

При проведенні вірусологічних досліджень щодо ньюкаслської хвороби зразків відібраного біологічного матеріалу від курей птахогосподарств Чернівецької, Харківської, Івано-Франківської областей не виявили падежу, специфічних змін у інфікованих 9-ти добових курячих ембріонів та аглютинації еритроцитів при постановці РГА з екстраембріональною рідиною на протяжці 3 послідовних пасажів.

Вивчення епізоотичної ситуації щодо інфекційного бронхіту курей проводили у птахогосподарстві Чернівецької області. Для дослідження надійшло 50 проб сироваток крові від птиці з двох пташників. Дослідженням на наявність антитіл до вірусу ІБК у птиці 236-добого віку встановлено їх наявність в титрах від 574 до 15158, при цьому відношення CV становило 48,3, а напруженість імунітету становила 100 %. У курей віком 232 дів з тієї ж птахофабрики титри антитіл коливання від 1149 до 11580, показник CV дорівнював значенню 56,7, а напруженість імунітету досягла 95 %.

Також дослідження на наявність антитіл до вірусу ІБК проводили в сироватках крові курей з птахофабрики Івано-Франківської області. Титри антитіл коливалися від 1968 до 10749, а відношення CV становило 35,8.

З птахогосподарства Харківської області надійшло 20 проб сироваток крові від курей-несучок. При дослідженні в ІФА на наявність антитіл до вірусу ІБК 95 % проб виявилися позитивними, а титри коливалися від 246 до 11826.

У птахогосподарстві Луганської області до вірусу ІБК виявилися позитивними 96 % досліджених проб, при цьому титри антитіл коливалися від 154 до 5722, а відношення CV складало 48,1.

Результати зазначених досліджень наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати серологічних досліджень щодо наявності антитіл до вірусу інфекційного бронхіту курей

Ч/ч	Назва підприємства	Кількість досліджених проб	Результат досліджень
1	Птахогосподарство №1, пташник № 1 Чернівецька область, Кури віком 236 дів	25	Титр АТ від 574 до 15158 CV 48,3 напруженість імунітету – 100 %
2	Птахогосподарство № 1, пташник № 2 Чернівецька область, Кури віком 232 доби	25	Титр АТ від 1149 до 11580 CV 56,7 напруженість імунітету – 95 %
3	Птахогосподарство № 3 Івано-Франківська область, Кури віком 287 дів	20	Титр АТ від 1968 до 10749 CV 35,8 напруженість імунітету – 100 %
4	Птахогосподарство № 2 Харківська область, Пт № 1	10	Титр АТ від 1990 до 11826 CV 55,1 напруженість імунітету – 90 %
5	Птахогосподарство № 2 Харківська область, Пт № 2	10	Титр АТ від 246 до 11735 CV 116,5 напруженість імунітету – 100 %
6	Птахогосподарство № 1 Луганська область Кури віком 60 дів	20	Титр АТ від 154 до 5722 CV 48,1 напруженість імунітету – 96 %

При проведенні вірусологічних досліджень щодо інфекційного бронхіту курей зразків відібраного біологічного матеріалу від курей птахогосподарств Чернівецької, Харківської, Івано-Франківської, Луганської областей не виявили падежу, специфічних змін у інфікованих 9–10-ти добових курячих ембріонів на протяжці 3 послідовних пасажів.

Проведені серологічні дослідження щодо наявності антитіл до синдрому зниження несучості. Так, з птахогосподарства Івано-Франківської області з утримання курей-несучок для дослідження надійшло 40 проб сироваток крові від курей віком 255 та 349 дів. При дослідженні встановлено, що у молодшої птиці титри антитіл коливалися від 0 до 8 \log_2 (напруженість імунітету становила 40 %, а показник CV 130). У курей віком 349 дів коливання титрів відмічали від 3 до 12 \log_2 , напруженість імунітету становила 90 %, а показник CV 33,12. Через 30 дів провели повторне дослідження сироваток крові від курей з того ж пташника. На момент дослідження титри до вірусу СЗН коливалися в межах від 0 до 12 \log_2 , а напруженість імунітету становила 95 %.

При дослідженні сироваток крові, відібраних від курей-молодок 107-добового віку з птахогосподарства Івано-Франківської області встановлено відсутність антитіл. Результати зазначених досліджень наведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Результати серологічних досліджень щодо наявності антитіл до вірусу синдрому зниження несучості

Ч/ч	Назва підприємства	Кількість досліджених проб	Результат досліджень
1	Птахогосподарство № 1, пташник № 1 Івано-Франківська область, Кури віком 255 діб	20	Титр АТ від 1:0 до 1:256 CV 130 напруженість імунітету – 40 %
2	Птахогосподарство № 1, пташник № 2 Івано-Франківська область, Кури віком 349 діб	20	Титр АТ від 1:8 до 1:4096 CV 33,12 напруженість імунітету – 90 % (через 30 діб від 1:0 до 1:4096, напруженість імунітету – 95 %)
3	Птахогосподарство № 2, Івано-Франківська область, Кури-молодки 107 діб	20	АТ відсутні

При проведенні вірусологічних досліджень щодо синдрому зниження несучості зразків відібраного біологічного матеріалу від курей птахогосподарства № 1 Івано-Франківської області не виявлено падежу, специфічних змін у інфікованих 9-ти добових качиних ембріонів та аглютинації еритроцитів при постановці РГА з екстраембріональною рідиною на протязі 3 послідовних пасажів.

Висновки. Встановлено благополуччя птахогосподарств Івано-Франківської, Чернівецької, Харківської областей, щодо ньюкаслської хвороби. Напруженість імунітету до ньюкаслської хвороби була висока – 95–100 %, титри антитіл у сироватках крові коливалися від 5 до 16 log₂.

Проведеними серологічними дослідженнями встановлено благополуччя чотирьох птахогосподарств України з інфекційного бронхіту курей, титри антитіл коливалися від 154 до 15158, напруженість імунітету складала 95–100 %.

Встановлено благополуччя птахогосподарства Івано-Франківської області щодо синдрому зниження несучості, але при дослідженні сироваток крові, відібраних від курей-молодок 107-добового віку встановлено відсутність антитіл.

При проведенні вірусологічних досліджень щодо ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей, синдрому зниження несучості зразків відібраного біологічного матеріалу від курей Чернівецької, Харківської, Івано-Франківської, Луганської областей не виявлено падежу, специфічних змін у інфікованих 9–10-ти добових курячих і качиних ембріонів, аглютинації еритроцитів при постановці РГА з екстраембріональною рідиною на протязі 3 послідовних пасажів.

Список літератури

1. C. B. Nelson, B. S. Pomeroy, Katherine Schroll, W. E. Park, R. J. Lindeman. An Outbreak of Conjunctivitis Due to Newcastle Disease Virus (NDV) Occurring in Poultry Workers (англ.). National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine.
2. Головний державний інспектор ветеринарної медицини України. Наказ «Про затвердження інструкцій про заходи з профілактики та ліквідації інфекційного бронхіту курей, інфекційного ларинготрахеїту птахів, хвороби Марека у курей, Інструкції про заходи боротьби з грипом птиці (Інструкція про заходи з профілактики та ліквідації інфекційного бронхіту курей)», N 78 від 17.10.2001.
3. Egg Drop Syndrome (EDS) bij leghennen vastgesteld, Veterinair, juni 2012, p. 2, Gezondheidsdienst voor Dieren, op issuu.com
4. Болотников, И. А. Гематология птиц [Текст] / И.А.Болотников, Ю.В.Соловьев // – Л.: «Наука», 1980. – 156 с.
5. Коровин, Р. Н. Лабораторная диагностика болезней птиц [Текст]: справочник / Р.Н. Коровин [и др.] – М.: Агропромиздат, 1989. – 256 с.
6. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електр. ресурс] / Спосіб доступу: http://www.oie.int/eng/en_index.htm .– Заголовок з екрану.

EPIZOOTIC MONITORING OF NEWCASTLE DISEASE, INFECTIOUS BRONCHITIS AND EGG DROP SYNDROME AMONG HERD OF POULTRY IN AREAS OF UKRAINE

Stegniy B.T., Koshelev V.V., Muzyka D.V., Stegnyy A.B., Rula O.M., Tkachenko S.V., Kolesnik O.S., Nazarets A.S.
National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv.

Objective. The article presents data of immunological research among total herd of poultry of different ages in farms of Ukraine concerning the availability of antibodies to Newcastle disease, infectious bronchitis chicken and egg drop syndrome in blood sera, results of analysis of epizootic situation concerning the possible circulation of epizootic strains of these viruses have been given.

Materials and methods. Study of epizootic situation of Newcastle disease has been conducted in 4 poultry farms in 3 regions of Ukraine. Thus, 40 samples of blood serum from two poultry houses have been received for research from the farm № 1 in Ivano-Frankivsk region, the age was 255 and 249 days. 50 samples of blood serum from farm specializing on laying hens in Chernivtsi region have been received, the age was 232 and 236 days. Blood sera, which had been taken from 107-day-old chickens from poultry farm № 2 in Ivano-Frankivsk region, were studied. Also the chicken blood serum from poultry farm in Kharkiv region was researched for the availability of antibodies to Newcastle disease virus.

Розділ 1. Проблеми біобезпеки та біозахисту

To study the epizootic situation to infectious bronchitis, blood sampling has been conducted from laying chickens in poultry farms of four regions of Ukraine: Ivano-Frankivsk, Kharkiv, Chernivtsi and Luhansk regions. Totally 110 samples have been researched.

Serological studies for the availability of antibodies to the Egg Drop Syndrome have been conducted in the farm specializing on laying hens in Ivano-Frankivsk region, the age was 255 and 349 days, also 107-day-old young chickens had been studied.

Conclusions. It has been found that poultry farms in Ivano-Frankivsk, Chernivtsi and Kharkiv regions are free from Newcastle disease. The immunity tension to Newcastle disease was high – 95–100 %, antibody titers in blood sera ranged from 5 to 16 log₂.

It has been found by the research that four poultry farms in Ukraine are free from infectious bronchitis, antibody titers ranged from 154 to 15158, immunity tension reached 95–100 %.

It has been found that poultry farm in Ivano-Frankivsk region is free from Egg Drop Syndrome, but an absence of antibodies was found when blood serum samples from young chickens had been researched.

Virological studies of samples collected from hens in Chernivtsi, Kharkiv, Ivano-Frankivsk and Luhansk regions to Newcastle disease, infectious bronchitis, Egg Drop Syndrome didn't show the mortality, specific lesions in infected 9 and 10-day-old chicken and duck embryos, agglutination of red blood cells in agglutination test with extraembryonic fluid during last three passages.

Keywords: Newcastle disease, infectious bronchitis chicken, egg drop syndrome, blood serum, poultry.