

4. Позднякова Л.І., Поздняков С.В. Аналіз та оцінка біологічних загроз в Україні / Актуальні інфекційні захворювання. Особливості клініки, діагностики, лікування та профілактики в сучасних умовах // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, Київ, 24-25 листопада 2016 р. – Київ, 2016. – С. 99-102.
5. Позднякова Л.І., Поздняков С.В., Закусило В.М., Сазонова О.Е. Використання методів оцінки ризиків для прогнозування та мінімізації наслідків можливих біоагроз, пов'язаних з джерелами життєзабезпечення на регіональному рівні / Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист // Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої щорічним «Читанням» пам'яті академіка Л.В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського Національної академії медичних наук України», Київ, 12-13 жовтня 2016 року. – Київ, 2016. – С. 103-105.

ON IMPROVEMENT STRATEGY OF COUNTERING BIOLOGICAL THREATS IN UKRAINE

Pozdnyakova L. I., Pozdnyakov S. V.

SI «Mechnikov Antiplague Ukrainian Scientific Research Institute» of the Ministry of Health of Ukraine, Odesa, Ukraine

The growing threat for biosecurity, risks of BPA use for terrorist purposes in the world today requires the development and implementation of risk assessment methodologies and potential Biothreats evaluation to develop measures to minimize the effects of biosocial emergencies taking into account regional differences. An important role for humane and veterinary medicine play an outbreaks of infectious diseases and natural foci status of especially dangerous infections, species composition of EDI carriers and vectors. An information-analytical study of literature data and the development of international counter biological threats measures are the challenges of our time. We discuss a systematic approach to solving the theory and practice of biosecurity, both national and international level. The general list of internal and external biological threats was elaborated. The necessity of systematic analysis based on determining the spectrum of existing and potential biorisks and biothreats at territorial level and of ranking administrative areas of the risks of natural, technological, sanitary and epidemic nature are important. It is necessary to create a common information system and related software for the collection, storage, statistical analysis of scientific, statistical information, with the ability to transport data into the GIS system for comprehensive information about focused regions. Conducted testing conceptual approach for the assessment of regional biological risks for the Odessa region. Further studies on risk analysis and Biothreats region will allow to transport this approach to other regions.

Keywords: *biosecurity, risk assessment, system analysis, GIS technologies, pathogens*

УДК 619:616.98:578.831.11:616-084

БИОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ІЗОЛЯТУ ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ НХ/КУРКА/ХАРКІВ/66/2007

Рула О. М., Музика Д. В., Герілович А. П., Стегній А. Б., Ткаченко С. В.

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: AlexRula75@gmail.com*

У статті представлені результати вивчення біологічних властивостей ізоляту ньюкаслської хвороби НХ/курка/Харків/66/2007 ізолюваного від клінічно-хворої курки з присадибного господарства м. Харкова. За результатами досліджень встановлено, що виділений ізолят вірусу НХ належить до велогенної форми прояву хвороби, яка викликає загибель інфікованої птиці та наявність респіраторних або нервових ознак. Патогенність вірусу визначена на добових курчатах за інтрацеребральним індексом (1,56) і середнім часом загибелі курячих ембріонів (114 год). При контрольному інфікуванні птиці перші клінічні ознаки хвороби (пригнічення, ціаноз шкіри голови та кінцівок, нервово-паралітичні розлади-тремор) були виявлені на 96 годину. За результатами секвенування даного вірусу було встановлено його належність до VII генотипу.

Ключові слова: *вірус, ізолят, ньюкаслська хвороба, сільськогосподарська птиця, клінічні ознаки, курячі ембріони, молекулярно-біологічні дослідження*

Ньюкаслська хвороба (НХ) широко розповсюджена у багатьох країнах Європи, Азії, Африки та Америки. Це захворювання викликають параміксовіруси птиць типу I (APMV – 1) роду *Avulavirus*, які належать до підродино *Paramyxovirinae*, сімейства *Paramyxoviridae* [1].

Вже з початку 2017 року зареєстровано спалахи ньюкаслської хвороби у 5 країнах (Румунія, Болгарія, Намібія, Швеція, Ізраїль) та знищено понад 330 тис. сільськогосподарської птиці. Що стосується України, то вона вважалася вільною від ньюкаслської хвороби з 1992 року до 2006 року. Останній офіційно зареєстрований випадок захворювання було встановлено в січні 2006 року

на одній з птахофабрик Харківської області. Після проведеного комплексу протиепізоотичних заходів з червня 2007 року територія України за даними Державного комітету ветеринарної медицини та Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) вільна від ньюкаслської хвороби [2].

Резервуаром збудника є перелітні дикі та синантропні птахи, а також домашні качки, гуси. До НХ сприйнятливі багато видів дикої та домашньої птиці, але із числа останніх в більшості випадків уражаються кури. Також особливе місце як резервуар займають свійські голуби.

Перебіг хвороби та клінічний прояв залежить від багатьох факторів, із яких найбільше значення мають патогенність штаму збудника та резистентність до нього птиці. При ураженні птиці високовірулентними штамами відхід птиці може сягати до 100 %. Але і менш патогенні штами можуть викликати важкий перебіг хвороби за рахунок секундарної інфекції.

Внаслідок величезних економічних збитків, які наносить НХ птахівництву, МЕБ віднесло хворобу до групи найбільш небезпечних [3, 4, 5, 6].

Згідно з МЕБ штами вірусу НХ на основі клінічних ознак, що спостерігались у інфікованих курчат, згруповані у 5 патотипів [7]:

1. Вісцеротропно-велогенний – високопатогенна форма, при якій частіше спостерігаються геморагічні ураження кишечника;
2. Нейротропно-велогенний: форма, яка викликає високий рівень смертності, в більшості випадків, після респіраторних або нервових ознак;
3. Мезогенний: форма, представлена респіраторними ознаками, інколи нервовими ознаками, але рівень смертності низький;
4. Лентогенний або респіраторний: форма, представлена слабкою чи субклінічною респіраторною інфекцією;
5. Безсимптомний кишковий: форма, яка складається з субклінічної кишкової інфекції.

У зв'язку з епізоотичною та економічною значимістю важливим є моніторинг та пошук епізоотичних штамів, всебічне вивчення їх біологічних властивостей для подальшого використання у якості контрольних штамів НХ, а також в наукових і виробничих лабораторіях для конструювання нових вакцин та діагностиків.

Мета роботи: вивчити біологічні властивості польового вірусу НХ (НХ/курка/Харків/66/2007) ізольованого від курки, встановити його патогенність на курчатах та ембріонах, гемаглютинуючу властивість по відношенню до еритроцитів свавців та птиці, молекулярно-біологічну належність до відповідного генотипу.

Матеріали та методи. У дослідженнях використовували ізолят НХ/курка/Харків/66/2007, який був ізольований співробітниками відділу хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» від птиці з присадибного господарства м. Харкова. Ідентифікацію проводили за допомогою РЗГА з використанням референтних антигенів та сироваток крові Інституту зоопрофілактики (м. Падуя, Італія) згідно рекомендацій МЕБ [2]. Патогенність вірусу визначали за інтрацеребральним індексом патогенності, середнім часом загибелі курячих ембріонів, інфікованих мінімальною летальною дозою за загальноприйнятими методиками [2, 8]. Дорослих курей, які були серонегативні до НХ, інфікували екстраембріональною рідиною курячих ембріонів (КЕ) (10^{-1}) внутрішньом'язово (група №1) та інтраназально (група № 2) у дозі в $0,2 \text{ см}^3$. Після інфікування птиці проводили реізоляцію вірусу на КЕ 9–11-добового віку, що розвиваються.

Молекулярно-біологічні дослідження проводили шляхом ізоляції сумарної РНК з використанням комерційного набору для екстракції нуклеїнових кислот «Рибосорб» АмпліСенс (Російська Федерація). Реакцію ампліфікації проводили за допомогою базових наборів АмпліСенс (Російська Федерація) та двох систем праймерів: AV_1/3 та NDV_F/R.

З метою секвенування кДНК отримані продукти ОТ-ПЛР очищали за допомогою набору реактивів «Wizard™ PCR Preps DNA Purification Kit» («Promega», США). Нуклеотидну послідовність фрагменту гену визначали шляхом прямого секвенування ампліфікованих фрагментів за допомогою набору «fmol DNA Sequencing System» («Promega», США). Аналіз нуклеотидних та відповідних їм амінокислотних послідовностей проводили за допомогою пакету програм BioEdit. Філогенетичні дослідження проводили на тих же вибірках методом Neighbor-joining з використанням програми MEGA 5. Для порівняння використовували нуклеотидні послідовності вірусу ньюкаслської хвороби, які опубліковані в базі даних GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Гемаглютинуючу властивість вірусу вивчали в реакції гемаглютинації (РГА) з використанням алантоїсної рідини ізоляту та 1,0 % зависі як еритроцитів свійських тварин і птиці, так і диких птахів на фізіологічному розчині (рН 7,2). Рівень антитіл в сироватці крові визначали в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) за методикою, рекомендованою МЕБ [2].

Результати досліджень. До відділу хвороб птиці з приватного сектору м. Харкова була доставлена курка 4-місячного віку з нервовими розладами (судоми кінцівок, тремтіння голови та ін.), також відмічена діарея. При розтині вимушено забитої птиці виявлені патологоанатомічні зміни, які можуть бути характерними для НХ: набряк та ін'єкція судин головного мозку, крововиливи на переході з залозистого шлунку в м'язовий, крововиливи на цикальних залозах, збільшення селезінки, холіцистит, ентерит тонкого кишечника. Для проведення молекулярно-біологічних, серологічних та вірусологічних досліджень відібрані кров, внутрішні органи (селезінка, печінка, нирки, легені, трахея), кишечник та головний мозок.

При дослідженні у РЗГА крові даної птиці з референтним антигеном НХ отримана позитивна реакція з титром антитіл 1:64.

При інфікуванні КЕ 9-добового віку ($n=5$), що розвиваються, 10 % суспензія селезінки+мозок (проба I) відмічена загибель їх на 96 годину, а 10 % суспензією кишечника (проба II) – на 72 годину. При розтині КЕ відмічена гіперемія ембріонів, а титр гемаглютининів становив у пробі I від 1:8 до 1:128, у пробі II від 1:32 до 1:256.

Для ПЛР використано 10 % суспензію внутрішніх органів та 10 % суспензія головного мозку, а також екстраембріональна рідина (ЕЕР) КЕ I пасаж (проба I та II). У результаті встановлено, що в усіх (чотирьох) досліджених зразках був присутній генетичний матеріал вірусу ньюкаслської хвороби.

Також дослідженнями на КЕ встановлено титр біологічної активності вірусу за летальністю – $8,5 \text{ Іг ЕЛД}_{50/0,2 \text{ см}^3}$ та середній час загибелі – 114 год.

Розділ 1. Проблеми біобезпеки та біозахисту. Емерджентні інфекції

Також виділений ізолят володів гемаглютинуючими властивостями по відношенню до еритроцитів як свійських тварин і птиці, так і диких (таблиця 1).

Таблиця 1 – Гемаглютинуючі властивості вірусу НХ по відношенню до еритроцитів тварин і птиці

Титр в РГА						
1:0	1:2	1:4	1:64	1:128	1:256	1:512
коза, вівця	корова, кінь	павич	огар, гуска, курка-несучка	цесарка, пірникоза мала, гуска білолоба, гуска сіра, мускусна качка, сірий журавель, качка, гуска	чернь червонодзьоба, казарка, крижень, півень,	індик

З таблиці видно, що даний ізолят володіє високими гемаглютинуючими властивостями по відношенню до свійської (до 1:512) і дикої птиці (1:256) та незначною до ссавців (1:2).

Визначення інтрацеребрального індексу проводили на добових курчатах (28 год). Результати наведені у таблиці 2. Через 48 год після інфікування було відмічено перші клінічні ознаки захворювання у всіх курчат. Частина курчат (4 особини) були з ознаками пригнічення, сиділи на одному місці з закритими очима. Інша частина курчат (6 особини) не реагували на зовнішні подразники, знаходились у лежачому стані, відмічали судоми з витягуванням кінцівок, голови та шиї (опістотонус).

Таблиця 2 – Визначення інтрацеребрального індексу

Клінічний стан курчат (n=10)	Доба спостереження (годин)								Сума
	1 (24)	2 (48)	3 (72)	4 (96)	5 (120)	6 (144)	7 (168)	8 (192)	
	кількість курчат з специфічними ознаками								
Нормальний клінічний стан	10	0	0	0	0	0	0	0	10x0=0
Клінічні ознаки хвороби	0	10	5	0	0	0	0	0	15x1=15
Пало	0	0	5	10	10	10	10	10	55x2=110
	Всього								125/80
	ІЦІП								1,56

На 72 год відхід курчат становив 50 %, а на 96 годину загинула решта курчат.

Після обрахунку результатів ІЦІП вірусу НХ/курка/Харків/66/2007 становив 1,56, що вказує на високу патогенність даного вірусу.

При контрольному інфікуванні курей 3-х місячного віку перші клінічні ознаки хвороби відмічені на 96 год після інфікування (табл. 3). У першій групі одне курча було в коматозному стані, у інших (чотири особини) відмічено пригнічення, ціаноз шкіри голови та її набряк, настовбурченність пір'я, відмова від корму, спрага та нервово-паралетичні розлади (тремор). Типова картина спостерігалась і у групі № 2. Слід зазначити, що клінічні ознаки супроводжувались діареєю білувато-зеленого кольору лише у групі № 1, а у групі № 2 діарею спостерігали на 120 годину після контрольного інфікування.

Впродовж всього періоду спостереження (120 год) лише у групі № 1 відмічено загибель однієї птиці. Також одна особина була з ознаками розладу функції органів дихання – ковтаючи рухи та нервові розлади (тремор), у інших (3 птиці) спостерігали опістотонус (закидання голови, витягування шиї, кінцівок, затискання пальців кінцівок). У птиці з ознаками хвороби із ротової порожнини виділявся тягучий слиз. У птиці групи № 2 відмічено загальні ознаки хвороби, які характеризувалися пригніченням, діареєю, настовбурченістю пір'я, нервовими розладами (тремор).

Від дослідної птиці 3-х місячного віку на 96 год після інфікування відбирали кров для серологічних досліджень. Титри антитіл у обох групах птиці значно коливались (від 1:2 до 1:32) або зовсім були відсутні (50/50), що свідчило про блискавичність протікання інфекції.

Таблиця 3 – Дані щодо експериментального інфікування курей 100-добового віку внутрішньом'язовим та інтраназальним методами

Клінічний стан	Доба (годин) спостереження та кількість курей з специфічними ознаками хвороби				
	1 (24)	2 (48)	3 (72)	4 (96)	5 (120)
інфіковані внутрішньом'язово (n=5)					
Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
Клінічні ознаки хвороби	0	0	0	5	4
Пало	0	0	0	0	1
інфіковані інтраназально (n=5)					
Нормальний клінічний стан	5	5	5	0	0
Клінічні ознаки хвороби	0	0	0	5	5
Пало	0	0	0	0	0

При розтині загиблених та вимушено забитих піддослідних курей були відмічені наступні патологоанатомічні зміни, а саме:

- група № 1 – тіло блідо-рожевого кольору з мармуровим відтінком. Крововиливи у підшкірній клітчатці, пір'яні фолікули збільшені. Судини кишечника кровонаповненні, селезінка та бурса збільшені, холецистит. Відмічені незначні крововиливи в цекальних залозах, нирки кровонаповненні та набряклі. Печінка кровонаповнена темно-вишневого кольору. Відмічена ін'єкція судин головного мозку.
- група № 2 – тіло блідо-рожевого кольору, селезінка збільшена та мармурового кольору, кровонаповненні судини кишечника, збільшені нирки, крововиливи на цикальних залозах.

Для реізоляції вірусу від дослідної птиці (кури, курчата) було відібрано мозок. З отриманого біологічного матеріалу готували 10 % суспензію якою інфікували КЕ 9-добового віку, що розвиваються. Загибель ембріонів була відмічена на 72 годину після інфікування. При розтині інфікованих КЕ 10 % суспензією головного мозку добогих курчат гемаглютинуюча активність в ЕЕР становила від 1:64 до 1:512, а при використанні патматеріалу від дорослої птиці від 1:32 до 1:128.

При проведенні секвенування отриманого ізоляту НХ/курка/Харків/66/2007 встановлені філогенетичні зв'язки його з вірусами, які циркулюють у Туреччині та Ізраїлі (II клас, VII генотип) [9].

Висновки. 1. За проведеною експертизою за допомогою ПЛР встановлено, що ізолят, який був отриманий від курки з приватного сектору м. Харкова містить генетичний матеріал вірусу ньюкаслської хвороби, а за результатами секвенування віднесено до II класу, VII генотипу.

2. Титр біологічної активності виділеного ізоляту НХ за летальністю для КЕ становить 8,5 Іг ЕЛД_{50/0,2 см³}, а середній час загибелі КЕ – 114 год.

3. При проведенні РЗГА з використанням референтного антигену вірусу НХ та сироватки крові хворої курки реакція була позитивна, що підтверджує належність ізоляту параміксовірусів птиці типу I (APMV – 1).

4. Ізолят володіє гемаглютинуючими властивостями по відношенню до еритроцитів до свійської (до 1:512) і дикої птиці (1:256) та незначну до ссавців (1:2).

5. При експериментальному контрольному зараженні вірусним матеріалом НХ/курка/66/2007 курей-несучок перші клінічні ознаки хвороби відмічаються на 96 год після інфікування внутрішньом'язовим та інтраназальним методами.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані підтверджують необхідність проведення постійного моніторингу НХ з метою своєчасного виявлення високопатогенних варіантів вірусів, які можуть представляти загрозу птахівництву.

Список літератури

1. Alexander, D.J. Newcastle disease and other avian Paramyxoviridae infections [Text]. In: Diseases of Poultry, Tenth Edition/ D.J. Alexander, B.W. Calnek, H.J. Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald, Y.M. Saif, eds.// Iowa State University Press, Iowa, -1997- USA.- P. 541 – 570;
2. OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електр. ресурс] / Спосіб доступу: <http://www.oie.int>.– Заголовок з екрану;
3. Alexander, D.J. Avian paramyxoviruses. Proc 34 th West Poult Dis Conf, 1985, v.28, 121—125.
4. Alexander D.J. Historical aspects. Newcastle Disease [Text]. Boston: Kluwer Acad Publ – 1988.
5. Hanson, R.P. Newcastle disease. Isolation and Identification of Avian Pathogens [Text]. Amer Ass Avian Pathologists. Kennett Square – 1980.-P. 63-66;
6. Lancaster, J.E. Newcastle disease [Text]. Virus Disease of Food Animals. – 1981. - v.11. – P. 433—465;
7. Beard, C.W. Newcastle disease [Text]. In: Diseases of Poultry, Eighth Edition // C.W. Beard, R.P. Hanson, M.S. Hofstad, H.J. Barnes, B.W. Calnek, W.M. Reid, H.W. Yoder // Iowa State Univirsity Press, Ames, Iowa, USA. - 1981. – P. 452 – 470.

8. Сюрин, В.Н. Диагностика вирусных болезней животных [Текст]: справочник / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина// – М.: Агропромиздпт, 1991. – 528 с.
9. Kiril M. Dimitrov. Repeated isolation of virulent Newcastle disease viruses of sub-genotype VIId from backyard chickens in Bulgaria and Ukraine between 2002 and 2013. Arch Virol. DOI 10.1007/s00705-016-3033-2.

**THE STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES ISOLATE
NEWCASTLE DISEASE VIRUS NH / CHICKEN / KHARKIV / 66/2007**

Rula O. M., Muzyka D. V., Gerilovych A. P., Stegnyy A. B., Tkachenko S. V.

National Scientific Center Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkiv, Ukraine

This article describes the results of the conducted examination of the biological properties of Newcastle disease ND/chicken/Kharkiv/66/2007 virus isolate, obtained from sick chicken from subsistence farm in Kharkiv. The studies have shown that this ND virus isolate can cause neurotropic velogenic (NVND) form of the disease characterized by the death of infected birds in the presence of respiratory or nervous symptoms. Pathogenicity of the virus was determined on day-old chicks by intracerebral pathogenicity index (1.56) and the mean death time of chicken embryos (114 hours). The first clinical symptoms (depression, blue skin on a head and limbs, nerve disorders, tremor) on birds, after control ingress of infection, appeared in 96 hours. The sequencing results for the virus have shown that it belongs to VII genotype.

Keywords: virus isolate, Newcastle disease, poultry, clinical features, distribution, chicken embryos, molecular biological research

УДК: 619:579.887.111:616.596

**ВИКОРИСТАННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ
У СИСТЕМІ БОРОТЬБИ З ІНФЕКЦІЙНОЮ АГАЛАКТИЄЮ ОВЕЦЬ ТА КІЗ**

Стегній Б. Т., Богач Д. М., Майборода О. В.

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

Богач М. В.

*Одеська дослідна станція Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Одеса, Україна*

У статті наведено особливості епізоотологічного процесу, основні клінічні симптоми і патологоанатомічні зміни, а також засоби боротьби з агалактією овець з урахуванням рекомендацій МЕБ і вимог чинного ветеринарного законодавства України. Описано серологічні реакції, які застосовувались для проведення скринінгових і бактеріологічних досліджень для ізоляції та ідентифікації збудника захворювання. Наведені результати застосування вакцини для профілактики інфекційної агалакції овець і кіз.

Ключові слова: інфекційна агалактія овець і кіз, епізоотологічний моніторинг, інактивовані вакцини

Інфекційна агалактія овець широко поширена у країнах із розвиненим вівчарством (Туреччина, Іспанія, Італія та ін.). Збудник *Mycoplasma agalactiae* може циркулювати у групі сприйнятливих тварин декілька років, при цьому хвороба буде перебігати у субклінічній формі, але за умов ураження більш ніж 70 % поголів'я виникає спалах клінічних проявів хвороби (пік його припадає на сезон окотів). При цьому більш сприйнятливими є лактуючі тварини та молодняк [1-3].

Економічні збитки складаються з вартості загиблих і вимушено забитих тварин (летальність іноді досягає 44,5 %), зниження (до 75 %) молочної продуктивності, втрат від абортів (кількість яких досягає 15–20 %), витрат на проведення карантинних та оздоровчих заходів [4].

Мікоплазмонозис може тривати 4–7 місяців. Виділення мікоплазм у зовнішнє середовище відбувається з молоком та іншими біологічними рідинами. Основні шляхи передачі мікоплазм – аліментарний або контактний [7, 9].

Дослідження щодо епізоотологічного моніторингу, розробки вітчизняної вакцини та визначення ефективних схем її використання для профілактики даної інфекції є актуальними.

Мета роботи. Узагальнення інформації щодо діагностичних і профілактичних заходів із урахуванням вимог МЕБ та діючого ветеринарного законодавства України. Застосування розробленої «Вакцини інактивованої проти інфекційної агалакції овець і кіз» в умовах господарства.