

4. Бригадиров Ю.Н. Экспериментально-клиническое изучение и применение химиотерапевтических и биологических препаратов при желудочно-кишечных и респираторных болезнях поросят бактериальной этиологии: автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра вет. наук : спец. 16.00.03/ Ю.Н. Бригадиров // – Воронеж, 2002. – 40 с.
5. Ященко М.Ф. Санітарно-гігієнічні заходи – основа профілактики інфекційних захворювань свиней / М.Ф. Ященко // Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції – Львів, 1997. – С. 250 – 251.
7. Виолин Б.В. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях / Б.В. Виолин, В.Е.Абрамов, В.Ф. Ковалев // Ветеринария. – 2001. – №1. – С. 42-46.
8. Сидоров М.А. Основы профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных животных с симптомами диареи / М.А. Сидоров, В.В. Субботин // Ветеринария. – 2001. – № 4. – С. 3-7.
9. Инфекционные болезни свиней / А.Ф. Ображей, И.К. Авдосьева, В.В. Эверт [и др.]. – К.: Авакдо, 2005. – 160 с.
10. Schiffrin E.J. Immune modulation of blood leukocytes in human by lactis acid bacteria: criteria for strain selection / E.J. Schiffrin, D. Brassart, A.L. Servin // Amm. J.Clin.Nath. –1997. – N 66(2). – P. 515-520.
11. Simon G.L. Intestinal microflora / G.L. Simon, S.L. Gorbach // Med. Clin.North Amer. –1982 – Vo1. 66– P. 55-574.
12. Pohlenz J.F. Sniga-toxigenic scherichia coli-inoculated neonatal piglets develop kidney lesions that are comparable to those in humans with hemolytic-urenic syndrome / J.F. Pohlenz, K.R. Winter, E.A. Dean-Nystrom // Infect. Immun. – 2005. – V.1, N7. – P. 127-128.
13. Санитарно-гигиенические факторы и их роль в профилактике паразитоценозов и повышения резистентности свиней / Н.В. Черный, В.М. Апатенко, А.В. Дорогобид, В.В. Ягмурджи // Материалы III научно-практической конференции Международной ассоциации паразитоценологов. – Витебск: ВГАВМ, 2008. – С. 187-189.
14. Шкиль Н.А. Экология условно-патогенной микрофлоры, циркулирующей в популяции животных / Н.А. Шкиль, Н.Н. Шкиль, М.Н. Шадрина // Сиб. вестник с.-х. науки. – 2003. – №3. – С. 48-50.

*В статье приведены результаты исследований относительно чувствительности микрофлоры, выделенной от свиноголовья разных производственных групп в свиноводческих хозяйствах Сумской области к наиболее используемым антибактериальным препаратам, которые используют для лечения бактериальных болезней. В результате исследований определено препараты, которые были наиболее действенными на патогенную и условно-патогенную микрофлору, в том числе на ассоциации микроорганизмов, которые являются возбудителями бактериозов свиней из симптомокомплексом поражения желудочно-кишечного канала.*

*To the article the results of researches are driven in relation to establishment of sensitiveness of the microflora distinguished from pigs of different productive groups in the pig breeding economies of the Sumy area, to the most widespread antibacterial preparations that is used for treatment of bacterial diseases. As a result of researches preparations that showed maximal effectiveness on a pathogenic and conditionally-pathogenic microflora are certain, in particular on the associations of microorganisms, that are the causative agents of the most widespread bacteriosis of pigs.*

Дата надходження до редакції: 14.11.2011 р.

Рецензент: к.вет.н., професор Г.А.Зон

УДК 619:616.98:578.083.2

**Г.І. Гарагуля.,** к.вет.н., доцент, Сумський НАУ

**В.В. Гаркава,** Сумський НАУ

**Д.М. Шенкер,** Харківська державна зооветеринарна академія

### **НАКОПИЧЕННЯ ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ В ЕМБРІОНАХ КУРЕЙ ТА ПЕРЕПЕЛІВ**

*Наведені результати культивування вірусу ньюкаслської хвороби в ембріонах курей і перепелів. Кількість вірусу за інфекційною дією (ЕЛД<sub>50</sub>) вища при культивуванні в ембріонах курей, а гемаглютинуючий титр вірусу – вищий в ембріонах перепелів.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** В практиці роботи вірусологічних лабораторій ембріони птиці використовуються дуже широко, в тому числі у навчальних лабораторіях.

Доступність, простота роботи та безпечність ембріонів птиці робить їх незамінною тест-системою при вивченні вірусології в умовах вищих навчальних закладів. Для проведення навчальних до-

**Вісник Сумського національного аграрного університету**

слідницьких робіт часто використовують вірус ньюкаслської хвороби, який має ряд важливих властивостей: він апатогенний для людини, легко культивується в організмі курчат або ембріонів птиці, має гемаглютинуючі властивості. Це дозволяє використовувати реакцію гемаглютинації для титрування отриманого вірусу.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми.** Вірус ньюкаслської хвороби (НХ) – РНК-геномний вірус родини Paramyxoviridae, роду Paramyxovirus. Вакцинні лентогенні штами зумовлюють легку форму хвороби та викликають загибель ембріонів курей (КЕ). Вірус НХ аглютинуює еритроцити амфібій, рептилій, птахів, людини, мишей та мурчаків за температури 18-22°C [1, 4].

Збудник ньюкаслської хвороби легко культивується на ембріонах різних видів птахів (курей, індиків, перепелів) при будь-якому способі зараження. Метод культивування вірусу НХ в ембріонах птахів використовують для отримання антигенів, вивчення противірусних хіміопрепаратів, антибіотиків та ін. Завдяки розмноженню у високих титрах в курячих ембріонах вірус НХ широко використовується як лабораторна модель. При культивуванні вірусу НХ відмічали ранню появу та поступове зростання гемаглютинінів та виділення їх в алантоїсну рідину недовзі після утворення [2-3, 5-7].

Ф. А. Ніязов відзначив зручність використання 9-11-денних КЕ для культивування вірусу НХ. Розмноження вірусу НХ підтверджували встановленням титру гемаглютинінів в реакції гемаглютинації (РГА) з екстраембріональною рідиною, що коливався від 1:640 до 1:1280 [3]. Смолянінов В.К. (2000) для виділення вірусу проводив зараження 9-11-денних ембріонів з подальшою постановкою реакцій гемаглютинації та затримки гемаглютинації. При постановці РГА в ембріональній алантоїсній рідині загинули ембріони виявляли гемаглютиніни в титрах 1:32-1:512 [5].

Як відомо, для виділення вірусів і одержання вірусомісного матеріалу використовують ембріони курей, оскільки більшість вірусів достатньо активно репродукуються в них з проявом видимих деструктивних змін органів і зародкових оболонок. Разом з тим, ембріони курей досить часто бувають контаміновані мікоплазмами та іншими збудниками інфекційних хвороб птиці. До того ж, в останні роки значно зросла вартість інкубаційних яєць. У такому випадку ембріони перепелів, які за літературними даними, рідше можуть бути вірусоносіями багатьох інфекцій ряду курячих, мають очевидну перевагу [2].

**Мета роботи.** Основною метою нашої роботи є накопичення вакцинного штаму вірусу ньюкаслської хвороби при культивуванні його в ембріонах курей та перепелів, визначення і порівняння кількості за його гемаглютинуючими та інфекційними властивостями.

**Матеріали і методи.** Зараження ембріонів проводили вірус-вакциною проти ньюкаслської хвороби – «Ньюкаслвак Ла-Сота», яка містить вірус НХ отриманий на СПФ-ембріонах курей штам «Ла-Сота» ДК-124 > 10<sup>6</sup> ЕІД 50, вироблену НВП «Біо-Тест Лабораторія» (м. Київ). Титрування вірусу проводили за гемаглютинуючою активністю в гемаглютинуючих одиницях (ГАО) та за інфекційною дією в ЕЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Для культивування вірусу НХ в ембріонах курей (КЕ) проводили їх зараження в 11-добовому віці, ембріони перепелів (ПЕ) заражали у 8-добовому віці в алантоїсну порожнину загальноприйнятим методом стерильними інсуліновими шприцями в дозах відповідно 0,1 та 0,05 см<sup>3</sup>. Через 2 доби проводили розтин ембріонів, відбір алантоїсної рідини та тіл ембріонів.

Реакцію гемаглютинації (РГА) ставили за загальноприйнятою методикою. Використовували послідовні двократні розведення зразків алантоїсної рідини і 0,5%-ову завись еритроцитів півня.

Інфекційну дію вірусу визначали в ЕЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Готували 10-кратні розведення алантоїсної рідини, отриманої із заражених КЕ та ПЕ. Кожним розведенням вірусу заражали по 10 ембріонів курей, враховували кількість загинулих і розраховували титр вірусу за Рідом і Менчем.

#### **Результати власних досліджень.**

Вакцинний штам La Sota вірусу ньюкаслської хвороби при зараженні як перепелиних, так і курячих ембріонів спричинював їх загибель через 36-72 години. Під час розтину виявляли крапкові крововиливи на шкірі голови і тулуба ембріонів, а також дрібні крововиливи в хоріоалантоїсній оболонці.

Для дослідження відбирали алантоїсну рідину та тіла ембріонів. З тканин ембріонів готували завись 1:5, центрифугували її і використовували надосадову рідину. РГА ставили з алантоїсною рідиною та центрифугатом.

Гемаглютинуючий титр вірусу в алантоїсній рідині КЕ коливався в межах від 1:512 до 1:4098, середній титр становив 10,8±0,65 log<sub>2</sub>, а титр гемаглютинінів в тканині ембріонів курей виявився значно нижчим – від 1:2 до 1:4 (середній титр 1,67±0,39 log<sub>2</sub>). Отже, у алантоїсній рідині КЕ накопичується у 6,5 разів більше вірусу ніж у тканинах курячого ембріону. За культивування вірусу НХ в ембріонах перепелів отримані схожі результати: в алантоїсній рідині титр гемаглютинінів коливався в межах від 1:2048 до 1:4098 (середній титр 11,67±0,39 log<sub>2</sub>), а в тканинах ембріонів – від 1:16 до 1:32 (середній титр 4,33±0,39 log<sub>2</sub>), що у 2,7 разів менше.

Кількість вірусу НХ при культивуванні в ембріонах курей і перепелів відрізняється, причому в ПЕ накопичується більше вірусу: в тканинах ембріонів у 2,6 разів, а в алантоїсній рідині – у 1,1 рази більше, ніж в ембріонах курей.

При титруванні вірусу за інфекційною дією (в ЕЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>) кількість вірусу в ембріонах курей та

перепелів також відрізнялася: в алантоїсній рідині КЕ вірусу накопичувалося у 1,3 раз більше, ніж в ПЕ.

Результати титрування вірусу НХ різними способами наведені в таблиці.

Таблиця

Титри вірусу НХ в алантоїсній рідині ембріонів курей та перепелів в реакції гемаглютинації та за інфекційною дією ( $M \pm m$ )

| Одиниці вимірювання титру вірусу        | Алантоїсна рідина |                    |
|-----------------------------------------|-------------------|--------------------|
|                                         | Ембріони курей    | Ембріони перепелів |
| ЕЛД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> , lg | 9,5±0,14          | 7,25±0,11          |
| ГАО, log <sub>2</sub>                   | 10,80±0,65        | 11,67±0,39         |

З таблиці видно, що титрування вірусу різними методами дає різні результати. Гемаглютинуюча активність вірусу НХ вища при культивуванні в ембріонах перепелів, а інфекційна активність – при культивуванні в ембріонах курей. Це можна пояснити формуванням більшої кількості дефектних інтерферуючих часточок вірусу у ембріонах перепелів і, відповідно, накопиченням більшої кількості повноцінного вірусу в ембріонах курей.

Отже, при виборі системи для культивування вірусу НХ необхідно орієнтуватися на мету дослідження. Якщо отриманий вірус необхідний для постановки РГА, то більш ефективною системою є ембріони перепелів. При необхідності отримання максимальної кількості повноцінного вірусу

краще використовувати ембріони курей.

**Висновки.** 1. Алантоїсна рідина заражених ембріонів курей та перепелів містить більше вірусу, ніж тканини ембріонів у 6,5 та 2,7 разів відповідно.

2. Гемаглютинуючий титр вірусу НХ в алантоїсній рідині ембріонів курей виявився вищим у 1,1 рази, ніж в алантоїсній рідині ембріонів перепелів (відповідно 10,8±0,65 log<sub>2</sub> та 11,67±0,39 log<sub>2</sub>).

3. Інфекційний титр вірусу НХ в алантоїсній рідині ембріонів курей виявився нижчим у 1,3 рази, ніж в алантоїсній рідині ембріонів перепелів (відповідно 7,25±0,11 lg ЕЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> та 9,5±0,14 lg ЕЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>).

#### Література

1. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьёв, Н.В. Фомина. – М., 1998.- С. 278-293
  2. Гарагуля Г.І. Особливості культивування вірусів тварин на культурі фібробластів ембріонів перепелів // Вісник Сумського нац.аграр.ун-ту: науково метод.журнал Сер. Вет.медицина. Випуск 1-2(15-16). - Суми, 2006.- С. 42-45
  3. Ниязов Ф.А. Двойное инфицирование куриных эмбрионов вирусами Ньюкаслской болезни и оспы птиц // Болезни птиц: Сборник трудов. Вып. 9 (20). - Ленинград.:Колос, 1973.-С.34-36
  4. Образцов В.П. О диагностическом и иммунологическом значении реакции гемагглютинации и ее задержки при азиатской чуме птиц: Автореф. дис.... канд. вет. наук ; ХВИ.- Х., 1954.- 11с.
  5. Смолянинов В.К. Изучение иммунной реакции организма кур при введении авирулентного (вакцинного) и вирулентного (эпизоотического) штаммов вируса псевдочумы птиц (болезни Ньюкасла): Автореф. дис....канд. вет. наук // ХЗВИ.- Х., 1972.- 18с.
  6. Сюрин В.Н. Псевдочума птиц (Ньюкаслская болезнь).- М.: Госсельхозиздат, 1963.- С. 32-76
- Приведены результаты культивирования вируса ньюкаслской болезни в эмбрионах кур и перепелов. Количество вируса по инфекционному действию (ЭЛД<sub>50</sub>) больше при культивировании в эмбрионах кур, а гемагглютинирующая активность – выше в эмбрионах перепелов*

*Describes the results of a study of cultivation of Newcastle diseases virus in the chicken and quail embryos. Research has shown that Newcastle diseases virus was contain in different quantity. Hatagglutination titre is higher in the quail embryos, and ELD<sub>50</sub> – in chicken embryos*

Дата надходження до редакції: 18.11.2011 р.

Рецензент: д.вет.н., професор В.Ю.Кассіч