

## Використання методу імуноферментного аналізу для індикації серопозитивних щодо вірусної діареї тварин у господарствах різних областей України

С. В. Бондар, В. Г. Скибіцький

Національний аграрний університет  
Вул. Героїв оборони, 16, Голосієво, Київ, 03022, Україна

*Повідомляються результати обстеження тварин з господарств різних областей України на присутність у сироватках крові антитіл до збудника вірусної діареї.*

**Вступ.** Захворювання телят, пов'язане з вірусом вірусної діареї (ВД), — широко розповсюджене в світі і спричинює появу різних клінічних симптомів, включаючи аборти, порушення репродуктивних функцій тварин, народження недорозвиненого потомства, пневмоентерити, тромбоцитопенію, хворобу слизових та інші.

Збудник захворювання разом з серологічно спорідненими вірусом прикордонної хвороби овець та вірусом класичної чуми свиней належить до роду *Pestivirus* родини *Flaviviridae* [3].

У залежності від прояву інфекційності збудник ВД може бути представлений двома біотипами: нецитопатичним і цитопатичним. Останній відрізняється від нецитопатичного молекулярною організацією геному та спектром білків [4].

Важливу роль в епізотології хвороби відіграють персистентно інфіковані тварини. Персистентна інфекція виникає внаслідок інфікування тварин саме нецитопатичним біотипом вірусу. І хоча, як зазначається в роботі [5], інфекція в багатьох популяціях великої рогатої худоби є ендемічною і відсоток серопозитивних тварин становить 60—85 %, лише 1—2 % поголів'я є персистентно інфікованими.

Саме персистентно інфікована худоба забезпечує постійну циркуляцію збудника в стаді і швидке інфікування неімунних телят. При цьому спостерігається широка серопозитивність великої рога-

тої худоби при відсутності яскравих клінічних ознак, що є характерним проявом ВД у польових умовах. Поряд з цим імуносупресивний вплив інфекції ВД на організм тварини призводить до появи захворювань, обумовлених різними патогенами [2, 8].

Щорічні економічні збитки, обумовлені ВД інфекцією в поєднанні з іншими патогенами, за даними дослідників Королівського ветеринарного і сільськогосподарського університету [7] в Данії та Великобританії, становлять від 20 до 57 млн доларів на 1 млн поголів'я в залежності від вірулентності штамів збудників ВД.

Поряд з цим збудник захворювання є суттєвою перешкодою при вивченні інших вірусів та виготовленні біопрепаратів внаслідок спонтанної контамінації клітинних культур, джерелом якої служать сироватки [6].

У представленому повідомленні викладено результати дослідження сироваток крові великої рогатої худоби з господарств різних областей України, а також сироваток промислового виробництва, що використовуються при культивуванні клітинних культур на присутність у них специфічних антитіл до збудника ВД за допомогою розробленого нами методу імуноферментного аналізу.

**Матеріали і методи. Сироватки крові.** Для дослідження було використано сироватки крові великої рогатої худоби (ВРХ) різних вікових груп (здорових та з ознаками діареї) з різних областей України (Київська, Харківська, Хмельницька,

Таблиця 1  
Результати аналізу сироваток крові великої рогатої худоби з різних областей України та сироваток промислового виробництва

| Область                            | Загальна кількість досліджених тварин (сироваток) | Кількість серопозитивних тварин | Серопозитивні тварини, % |
|------------------------------------|---|---------------------------------|--------------------------|
| Київська                           | 15  | 14                              | 94                       |
| Харківська                         | 51  | 12                              | 24                       |
| Кіровоградська                     | 90  | 72                              | 80                       |
| Хмельницька                        | 15  | 14                              | 94                       |
| Сироватки промислового виробництва | 24  | 24                              | 100                      |

Кіровоградська), а також сироватки промислового виробництва для культивування культур клітин.

*Імуноферментний аналіз.* Для виявлення антитіл до ВД у сироватках крові ВРХ застосовували розроблений нами метод твердофазного непрямого імуноферментного аналізу. Як тверду фазу використовували плашки фірми «Nunk» (Данія), як індикаторні антитіла — пероксидазний антивидовий кон'югат, отриманий мета-періодатним методом [9]. В діагностичній тест-системі як антиген було використано один із досліджуваних нами штамів збудника ВД, отриманий на культурі клітин нирки теляти (НТ) [1]. Результати вимірювали на фотометрі Multiskan MS («Labsystems», Фінляндія) при довжині хвилі 492 нм.

**Результати та обговорення.** При дослідженні сироваток крові ВРХ з господарств різних областей

України (Київська, Харківська, Кіровоградська, Хмельницька) специфічні щодо ВД антитіла було виявлено в усіх обстежених господарствах. Серопозитивність коливалася в межах від 24 до 98 % (табл. 1).

Оскільки на ВД з напівгострим перебігом хворіють, в основному, телята до 6-місячного віку і найтяжчі ускладнення спостерігаються у новонароджених телят [5], нами були відібрані і обстежені саме ці групи тварин. Так, у Кіровоградській області серопозитивними до ВД виявилися 80 % новонароджених телят з високим титром антитіл — 1:1024—1:2048.

Подібна картина спостерігалася і при обстеженні телят 2—6-місячного віку в господарствах Хмельницької області, де антитіла в сироватках крові були виявлені у 94 % тварин з титром 1:512—1:1024. У господарствах Харківської області було виявлено 24 % серопозитивних до ВД тварин, у яких рівень антитіл у крові відповідав титру 1:128.

Для обстеження в господарстві «Селищанське» Баришівського району Київської області було відібрано групу тварин різної вікової категорії (2—3-річні корови, 6—8-місячні бички та новонароджені телята), в якій серопозитивними до ВД виявилися 94 % тварин. Рівень антитіл до ВД у сироватці крові становив 1:512—1:1024 як у корів, так і в новонароджених телят.

Порівнюючи результати досліджень сироваток крові тварин різних вікових груп (табл. 2), слід зауважити, що найвищий титр антитіл до ВД був виявлений у новонароджених телят — 1:1024—1:2048. У групах телят від 2- до 8-місячного віку рівень антитіл до антигенів збудника коливався в межах 1:128—1:1024, при цьому показник серопозитивності тварин у цих групах становив біля 80 %.

Серед тварин старшого віку (2—3-річні коро-

Таблиця 2  
Титр антитіл до збудника вірусної діареї великої рогатої худоби в крові тварин різних вікових груп

| Вікові групи тварин  | Кількість серопозитивних тварин | Титр антитіл до збудника в крові обстежених тварин | Серопозитивні тварини, % |
|----------------------|---------------------------------|--|--------------------------|
| Новонароджені телята | 77                              | 1:1024—1:2048                                      | 81,1                     |
| 2—6-місячні телята   | 26                              | 1:512—1:1024                                       | 81,3                     |
| 6—8-місячні телята   | 5                               | 1:128—1:512  | 83                       |
| 2—3-річні корови     | 4                               | 1:64—1:128   | 10                       |

ви) лише 10 % були серопозитивними щодо ВД з рівнем антитіл у крові 1:64—1:128.

Значний рівень антитіл до збудника і високий відсоток ураженості поголів'я свідчать про постійну циркуляцію збудника в стадах досліджуваних тварин і орієнтує вчених на подальше вивчення патології, обумовленої цим вірусом.

При дослідженні сироваток промислового виробництва для культивування культур клітин (виробництва Конопського м'ясокомбінату, Україна) специфічні антитіла до збудника (у титрах 1:128—1:256) були виявлені у 100 % досліджуваних проб, що аргументує необхідність контролю цих сироваток на присутність ВД-контамінації та антитіл до збудника в разі використання їх при вирощуванні клітин *in vitro*.

С. В. Бондарь, В. Г. Скибицкий

Использование метода иммуноферментного анализа для индикации сероположительных к вирусной диарее животных в хозяйствах разных областей Украины

Резюме

Сообщаются результаты обследования животных из хозяйств разных областей Украины на присутствие в сыворотках крови антител к возбудителю вирусной диареи.

S. V. Bondar, V. G. Skibitsky

Usage of the method of immunoenzyme assay for detection of viral diarrhoea seropositive animals at farms of different regions of Ukraine

Summary

The results of investigation of animals from farms of different regions of Ukraine are reported. The information is given concerning

the presence of antibodies to the viral diarrhoea agente in blood serum.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондар С. В., Скибицкий В. Г., Тацуца С. Г., Тивончук Т. П. Дослідження збудника вірусної диареї великої рогатої худоби, репродукованого в перещеплюваній клітинній культурі НТ // *Наук. Вісн. Нац. Аграр. Ун-ту.*—1998.—**11**.—С. 59—63.
2. Adler H., Jungi Th. W., Pfister H., Strasser M., Sileghem M., Peterhans E. Cytokine regulation by virus infection: bovine viral diarrhoea virus, a Flavivirus, downregulates production of tumor necrosis factor alpha in macrophages *in vitro* // *J. Virol.*—1996.—**4**.—Р. 2650—2653.
3. Collett M. S., Moennig V., Horzinek M. C. Recent advances in pestivirus research // *J. Gen. Virol.*—1989.—**70**.—Р. 253—266.
4. Donis R. O., Dubovi E. J. Differences in virus-induced polypeptides in cells infected by cytopathic and noncytopathic biotypes of bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus // *Virology.*—1987.—**158**.—Р. 168—173.
5. Houe H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus // *Vet. Clin. North Amer. Food Anim. Pract.*—1995.—**11**. N 3.—Р. 521—547.
6. Harasawa R., Mizusawa H. Detection of pestiviruses from mammalian cell cultures by the polymerase chain reaction // *Symposium SBB0202: Abstrs book.*—Tokyo, 1996.—AK0111.
7. Kobrak A., Weber E. L. [Bovine diarrhoea virus: an update] // *Rev. Argent Microbiol.*—1997.—**29**, N 1.—Р. 47—61.
8. Lopez O. J., Osorio F. A., Kelling C. L., Donis R. O. Presence of bovine viral diarrhoea virus in lymphoid cell populations of persistently infected cattle // *J. Gen. Virol.*—1993.—**74**.—Р. 925—929.
9. Nakane P. K., Kawaoi A. Peroxidase-labelled antibody: a new method of conjugations // *J. Histochem. Cytochem.*—1978.—**22**.—Р. 1084—1091.

УДК 619:576.807.7

Надійшла до редакції 01.09.99