

НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БЕГАС ВАСИЛЬ ЛЕОНІДОВИЧ

УДК:619:616.98:636.1

УДОСКОНАЛЕННЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОФІЛАКТИКИ РИНОПНЕВМОНІЇ КОНЕЙ

16.00.08 – епізоотологія та інфекційні хвороби

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2007

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державному вищому навчальному закладі „Державний агроєкологічний університет” Міністерства аграрної політики України, м. Житомир

Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор
Галатюк Олександр Євстафійович, Державний вищий навчальний заклад „Державний агроєкологічний університет”, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Литвин Володимир Петрович, Національний аграрний університет, професор кафедри епізоотології

кандидат ветеринарних наук, професор
Ярчук Броніслав Миронович, Білоцерківський державний аграрний університет, завідувач кафедри епізоотології та інфекційних хвороб

Провідна установа – Інститут ветеринарної медицини Української академії аграрних наук, лабораторія вірусології та діагностики, м. Київ

Захист дисертації відбудеться “20” червня 2007 р. о “12⁰⁰” годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Героїв Оборони 15, навчальний корпус 3, аудиторія 65

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, м. Київ – 41, вул. Героїв Оборони 13, навчальний корпус 4, кім. 28

Автореферат розісланий “17” травня 2007 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради _____ Міськевич С.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Ринопневмонія коней (РПК) – це вірусна інфекція коней, яка може проявлятися ураженням органів дихання, абортами, пневмонією новонароджених лошат чи мієлоенцефалітами (Allen G.P., Bryans J.T., 1989; Crabb B.S., Studdert M.J. 1995; Telford E.A. et al., 1998; Frey H.R., 2003). Раніше захворювання було описане за різними назвами: вірусний аборт кобил, статева екзантема коней, катаральна інфлюенца, герпес, ринотрахеїт коней (Сюрин В.Н. и др., 1998).

РПК завдає значних економічних збитків конярству, які складаються з втрати відтворювальної здатності конематок, вибраковки цінних племінних тварин, затрат на проведення ветеринарно-санітарних заходів (Юров К.П., 1988).

В природних умовах вірус уражає коней, ослів і мулів незалежно від статі, породи та віку. Чистокровні коні більш сприйнятливі до збудника, ніж напівкровні і місцеві породи (Юров К.П., 1988; Lawrence G.L. et al., 1994).

РПК, виникнувши в конярському господарстві, набуває характеру стаціонарної інфекції. Гострий перебіг інфекції чергується з періодами прихованого атипового прояву хвороби, що значно ускладнює постановку діагнозу (Юров К.П., 1988).

У системі заходів боротьби з РПК важливе значення має надійна діагностика хвороби. Нині діагностика РПК включає клінічно-епізоотологічне обстеження поголів'я тварин, виділення та ідентифікацію вірусу на культурі клітин, виявлення антитіл серологічними методами (Юров К.П., 1988; Crabb B.S. et al., 1995; Osterrieder N., 1996; Цибанов С.Ж., Цибанова И.Я., 2000). Проте запропоновані раніше серологічні методи діагностики мають суттєві недоліки та вимагають подальшого удосконалення. Це стосується також засобів і методів профілактики хвороби.

В останні роки на основі досягнень молекулярної біології вчені інтенсивно розробляють нові методи діагностики РПК. Для ідентифікації герпесвірусів тварин широко застосовують високочутливі молекулярно-генетичні методи (полімеразну ланцюгову реакцію, молекулярну гібридизацію та ін.) (Забегина Е.Ф., 1989; Lawrence G.L. et al., 1994; Telford E.A. et al., 1998). Проте вони використовуються лише в спеціалізованих референс-лабораторіях і недоступні для використання в масових дослідженнях. Для більшості діагностичних вірусологічних лабораторій, що досліджують велику кількість матеріалу, основним діагностичним тестом залишається виділення вірусу за допомогою клітинної культури з наступною серологічною ідентифікацією.

В Україні засоби діагностики герпесвірусних інфекцій (ГВІ) не виробляються, моніторинг щодо ринопневмонії не проводиться. У той же час серопозитивність в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) щодо РПК в племінних господарствах України становить 58–100% (Галатюк О.Є., 2000).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології Державного вищого навчального закладу „Державний агроекологічний університет” “Розповсюдження, діагностика і профілактика заразних хвороб коней”, номер державної реєстрації 0103U000360, та “Розповсюдження діагностика і профілактика інфекційних хвороб коней”, номер державної реєстрації 0106U002998. Робота є фрагментом досліджень галузевої науково-технічної програми на 2001–2005 роки “Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя в Україні” – “Моніторинг епізоотичної ситуації бактеріальних інфекцій та паразитозів у коней”, шифр 07.03.

Мета та завдання досліджень. Метою роботи було удосконалення методів діагностики та профілактики ринопневмонії коней. Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- вивчити поширеність ринопневмонії коней та рівень інфікованості різних вікових і породних груп в племінних конефермах Житомирської області;
- розробити реакцію дифузійної преципітації (РДП) та мікрометод реакції нейтралізації (РН) для ретроспективної діагностики ринопневмонії коней;
- вивчити показники імунобіологічної реактивності організму коней, інфікованих вірусом ринопневмонії, з метою виявлення додаткових маркерів для діагностики хвороби;
- удосконалити існуючі методи профілактики ринопневмонії коней.

Об'єкт досліджень: ринопневмонія коней, методи діагностики та профілактики ринопневмонії коней.

Предмет досліджень: клінічно здорові та хворі на ринопневмонію коні, герпесвірус коней першого типу.

Методи досліджень: епізоотологічні (епізоотологічне обстеження господарств), гематологічні (визначення кількості еритроцитів, лейкоцитів та вмісту гемоглобіну), вірусологічні (культивування вірусів на культурі клітин, визначення їх активності і властивостей, постановка РГА), серологічні (дослідження в РЗГА, РДП, РН), біохімічні (вміст загального білку, фракцій білку, загального кальцію, неорганічного фосфору, каротину в сироватці крові), імунологічні (вміст нормальних та ізоантитіл, імунних комплексів, імуноглобулінів у сироватці крові), статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше встановлено широке розповсюдження ринопневмонії в кінних господарствах, ураженість різних вікових та породних груп коней збудником ринопневмонії. Показано, що інфікованість вірусом ринопневмонії в племінних конефермах Житомирщини та інших племінних господарствах становить 72 – 100%. Виявлено показники імунобіологічної реактивності коней (рівень загального білку, імуноглобулінів,

абсолютної кількості лімфоцитів, титрів специфічних антитіл в РЗГА), які можна використовувати під час прижиттєвої діагностики хвороби. Вперше в Україні розроблені реакція нейтралізації та дифузійної преципітації для діагностики ринопневмонії коней. Проведена оцінка діагностичної ефективності РЗГА, РДП та мікрометоду РН в порівнянні з ІФА (тест-система іспанського виробництва) при ринопневмонії коней та встановлена доцільність їх використання. Апробована можливість використання комбіферону в комплексі з енрофлоксом для лікування та профілактики респіраторної форми ринопневмонії у лошат. Вперше вивчено вплив мікосорбу та біо-мосу на прихований перебіг ринопневмонії у жеребних кобил та розвиток отриманих від них лошат.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені РДП та мікрометод РН, які розширюють спектр методів лабораторної діагностики ринопневмонії коней, дозволяють ширше проводити моніторинг поширеності ринопневмонії коней на території України. Розроблена методика отримання гіперімунної (діагностичної) сироватки проти збудника ринопневмонії коней і доведена доцільність її використання при постановці реакції нейтралізації.

Апробовані препарати комбіферон, біо-мос і мікосорб впроваджені в комплекс лікувально-профілактичних заходів в Нагірянській філії ЗАТ НВП “Райз-Агро” (Ягільницький кінний завод). Матеріали досліджень використані при розробці проекту “Інструкції з профілактики та оздоровлення коней від ринопневмонії”.

Результати досліджень використовуються під час проведення занять зі студентами та на курсах підвищення кваліфікації при вивченні ринопневмонії коней на кафедрі мікробіології, вірусології та епізоотології Державного вищого навчального закладу „Державний агроекологічний університет” (м. Житомир), кафедрі епізоотології та інфекційних хвороб тварин Білоцерківського державного аграрного університету, кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Національного аграрного університету та також в ДГП “Науково-дослідному ветеринарному інституті” республіки Казахстан (м. Алмати).

Особистий внесок здобувача. Експериментальні дослідження, аналіз отриманих даних та їх узагальнення, оформлення роботи автор здійснив самостійно.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертації доповідались і обговорювались на:

- щорічних засіданнях вченої ради факультету ветеринарної медицини Державного вищого навчального закладу „Державний агроекологічний університет” зі звітами аспірантів та пошукачів (2003–2006 рр.);
- Міжнародній науково-практичній конференції “Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції”, м. Одеса, 2004;
- Міжнародній науково-практичній конференції: “Ветеринарна медицина 2005 – сучасний стан та актуальні проблеми забезпечення ветеринарного благополуччя”, м. Ялта, 2005;

- науково-практичній конференції, присвяченій 75-річчю Новогалещинської біофабрики “Проблеми епізоотології, імунології та біотехнології у ветеринарній медицині”, м. Полтава, 2006;
- Міжнародній науково-практичній конференції “Наукові та практичні аспекти ветеринарної медицини в Україні”, присвяченій 75-річчю заснування ветеринарного факультету, м. Біла Церква, 2006;
- п’ятій державній науково-практичній конференції “Аграрна наука – виробництву”, м. Біла Церква, 2006.

Публікації. Основні результати досліджень дисертаційної роботи викладені в 6 друкованих працях, з них 3 статті опубліковані у фахових виданнях, згідно переліку ВАК України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 138 сторінках комп’ютерного друку й складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних літературних джерел. Робота включає 8 додатків, ілюстрована 33 таблицями, 22 рисунками. Список використаної літератури включає 220 найменувань, в тому числі 164 – з далекого зарубіжжя.

ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Наукові дослідження виконували протягом 2003–2006 рр. в науковій лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології факультету ветеринарної медицини Державного вищого навчального закладу „Державний агроєкологічний університет” та на базі ЗАТ НВП “Райз-Агро” (Ягільницький кінний завод), с. Нагірянкa Чортківського району Тернопільської області. Були досліджені також коні племінних ферм Житомирської області. Імуноферментний аналіз проб сироватки крові коней до ГВК-1 був проведений у відділі імунологічних і моніторингових досліджень Центральної Державної лабораторії ветеринарної медицини. Всього було досліджено 855 проб сироватки крові коней.

У дослідях був використаний герпесвірус коней першого типу, культуральний (вакцинний) штам “СВ-69” та “Буковина”. Штам “Буковина” виділений Галатюком О.Є. 4.07.94 р. з вагінальних змивів кобили “Буковина” на перещеплюваній культурі клітин трахеї теляти в лабораторії Інституту епізоотології Української академії аграрних наук.

Були використані наступні культури клітин: перещеплювана культура фібробластів шкіри коня (отримана з Варшавського державного аграрного університету, люб’язно надана зав. кафедрою вірусології професором Марчіном Банбурою); перещеплювана культура клітин трахеї

теляти (отримана з Обласної державної лабораторії ветеринарної медицини м. Житомира, яка була надана завідуючою вірусологічним відділом Васянович М.О.).

Постановку реакції гемаглютинації (РГА), реакцію гемадсорбції (РГАд) та реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) здійснювали з еритроцитами коня у відповідності з “Інструкцією по діагностиці ринопневмонії коней” (Антонов Б.И., 1987). Лейкоцитарну формулу визначали шляхом підрахунку формених елементів білої крові у мазках, пофарбованих за Романовським-Гімза. Диференціацію клітин крові проводили, керуючись гематологічним атласом (Никитин В.Н., 1956). Підрахунок еритроцитів і лейкоцитів здійснювали за допомогою камери Горяєва. Показник гематокриту визначали методом Тодорова. Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом. Кольоровий показник і середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті визначали шляхом підрахунку за відповідними формулами (Левченко В.І. та ін., 2002). Загальний білок визначали за допомогою рефрактометра. Загальний кальцій і загальний фосфор визначали фотоколориметричним методом (Левченко В.І. та ін., 2002). Вміст каротину визначали екстрагуванням петролейним ефіром і вимірюванням оптичної щільності зразків за допомогою ФЕК-у (Левченко В.І. та ін., 2002). Вміст імуноглобулінів визначали фотометрично, використовуючи 18% розчин натрію сульфату (Левченко В.І. та ін., 2002). Імунні комплекси визначали за Ю.А. Грєневичем і співавторами (1996). Рівень ізоантитіл і нормальних антитіл визначали згідно рекомендацій В.О. Бусола і співавторів (1996). Статистичну обробку результатів досліджень проводили за загальноприйнятими методами з використанням програми “Microsoft Excel 2003”.

ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Моніторинг поширення ринопневмонії в різних категоріях кінних господарств. При проведенні серологічних досліджень сироватки крові коней з племінних ферм Житомирської області було встановлено, що в племінних кінних господарствах Попільнянського, Любарського, Черняхівського та Ружинського районів кількість тварин, серопозитивних в РЗГА щодо ринопневмонії, становить 72–100%. При дослідженні коней ООО “Ягуар”, м. Донецьк, у всіх тварин були наявні різні титри антитіл (Ат) в РЗГА щодо ринопневмонії.

Також була досліджена сироватка крові коней ЗАТ НВП “Райз-Агро”, с. Нагірянкa Чортківського району Тернопільської області. Результати досліджень представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Структура серопозитивних у РЗГА коней щодо ринопневмонії у ЗАТ НВП “Райз-Агро” (2004 – 2006 рр.)

№	Титри Ат в	Кількість серопозитивних коней
---	------------	--------------------------------

	РЗГА, log ₂	2004 р.		2005 р.		2006 р.	
		голів	%	голів	%	голів	%
1.	-	5	3,16	27	27,55	18	10,40
2.	1–3	7	4,43	26	26,53	27	15,61
3.	4–6	67	42,41	38	38,78	102	58,96
4.	7–8	54	34,18	5	5,10	17	9,83
5.	9–10	25	15,82	2	2,04	9	5,20
6.	Всього	158	100	98	100	173	100

З даних таблиці видно, що інфікованість коней ринопневмонією знаходиться на високому рівні. Необхідно відзначити, що імунологічна структура стада змінюється динамічно. Якщо в 2004 році серонегативних тварин було 3,16%, то в 2005 році їх стало 27,55%, а в 2006 році кількість серонегативних тварин знизилась до 10,4%. У даному господарстві щороку відмічається народження нежиттездатних лошат та аборти в окремих молодих кобил на 8–11 міс. жеребності.

Отримані дані свідчать про динамічну зміну кількості інфікованих тварин герпесвірусом коней першого типу та значне поширення ринопневмонії серед поголів'я племінних ферм і кінного заводу.

Показники напруженості інфекційного процесу у лошат, хворих на ринопневмонію.

При виникненні респіраторних хвороб у лошат в одному з кінних господарств було піддано дослідженню 10 парних проб сироваток крові в РЗГА. Результати показали, що майже в 50% досліджених тварин титри специфічних антитіл до вірусу ринопневмонії при повторному дослідженні підвищились у чотири і більше разів, що свідчить про гострий респіраторний прояв ринопневмонії серед лошат. Захворювання розпочалося серед невакцинованих лошат, а потім почали відмічати клінічні ознаки хвороби й у частини вакцинованих. Клінічні ознаки хвороби – кон'юнктивіти, риніти, пневмонії супроводжувалися високою температурою – 39,5 – 41°C, титри антитіл в РЗГА у хворих лошат та тих, що одужали, зростали до рівнів 5 – 8 log₂.

Проведення досліджень парних проб сироваток крові у лошат, хворих на респіраторні хвороби, дає можливість диференціювати ринопневмонію від інших хвороб, які супроводжуються ураженням верхніх дихальних шляхів.

Ураження коней різних вікових та породних груп вірусом ринопневмонії. Проведення серологічних досліджень сироватки крові від 87 голів різновікових груп коней показали, що найвищі титри антитіл (9–10 log₂) в РЗГА були виявлені у молодняку до 3-х років, кобил віком 3–5 та 13–16 років і жеребців-плідників. В цих групах у значної частини тварин відмічався клінічний прояв хвороби. Протягом 4-х років на базі одного з кінних господарств нами

проводились серологічні дослідження тварин арабської, української верхової, новоолександрівської ваговозної порід. У 2003 році було досліджено 142 гол. коней, у 2004 – 160 гол., у 2005 – 170 гол., у 2006 – 170 голів коней. Отримані дані показали, що протягом чотирьох років рівень інфікованості коней різних порід в господарстві змінюється динамічно – зростає до 100%, знижується до 70%, а потім знову зростає до 100%. Можна припустити, що приблизно у 10–30% коней періодично відмічається відсутність антитіл в РЗГА, що може свідчити про елімінацію вірусу із організму, але через деякий час відбувається реінфекція. В ЗАТ НВП „Райз-Агро” за 2003–2006 рр. інфікованість коней української верхової породи становила 71,61%; арабської – 66,67%; новоолександрівської ваговозної – 63,53%.

Внаслідок аналізу результатів досліджень 578 коней різних порід 9 племінних ферм встановлено, що інфікованість вірусом ринопневмонії була: російської рисистої породи – 90,12%, української верхової – 73,45%, новоолександрівської ваговозної – 68,27%, арабської і тракєненської – 66,67%, що показано на рис. 1.

Отримані дані вказують на те, що у коней різних вікових та породних груп епізоотичний процес розвивається динамічно. При цьому значна кількість поголів'я лишається інфікованою декілька років і при зниженні імунобіологічної реактивності організму можливі рецидиви прояву хвороби у окремих тварин та її масові спалахи серед різновікових груп.

Рис. 1. Рівень інфікованості коней різних порід вірусом ринопневмонії

Показники імунобіологічної реактивності при ринопневмонії коней. З метою виявлення додаткових маркерів діагностики ринопневмонії коней дослідили 55 кобил. Контрольною групою були клінічно здорові кобили, серологічно негативні в РЗГА щодо збудника РПК. Встановлено, що в усіх кобил, інфікованих герпесвірусом першого типу, незалежно від рівня антитіл в РЗГА, відмічається тенденція до зниження рівня абсолютної кількості лімфоцитів, загального білку, імуноглобулінів, імунних комплексів, титрів нормальних антитіл. У кобил з титрами специфічних Ат 4–6 \log_2 в РЗГА відносно серонегативних встановлено достовірне ($p < 0,05$) підвищення кількості еритроцитів, а у тварин з титрами специфічних Ат 7–10 \log_2 спостерігалася тенденція до зниження їх рівня. Встановлено, що у кобил з титрами специфічних Ат 7–10 \log_2 відмічається тенденція до зниження кількості еозинофілів, малих, середніх та великих лімфоцитів з одночасним підвищенням кількості паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів.

Розробка та використання реакції нейтралізації

Культивування герпесвірусу коней першого типу штамів “СВ-69” та “Буковина”.

Нами була проведена адаптація штамів герпесвірусу коней першого типу до перещеплюваної культури клітин трахеї теляти. На моношар клітин, сформований на 90–100%, вносили вірус штаму “СВ-69” або “Буковина” в кількості 20 см^3 з інфекційною активністю 10^5 ТЦД_{50/см³ на матрац, об’ємом $1,5 \text{ дм}^3$ (з розрахунку 1–2 віріони на 10 клітин). Інкубування припиняли при руйнуванні 90–100% моношару клітин. Після проведення трьох пасажів ЦПД проявлялася на 2–3 добу інкубації. Відмічено, що активність вірусу поступово зростала від 4 до 32 гемаглютинуючих одиниць в РГА.}

Визначення інфекційної активності вірусу. Титр вірусу обраховували за методом Кербера та виражали в тканинних цитопатогенних дозах на $1,0 \text{ см}^3$ (ТЦД_{50/см³}). Провівши серію пасажів і титрування вірусів щодо інфекційної активності, було встановлено, що штами “СВ-69” та “Буковина” при культивуванні на перещеплюваній культурі клітин трахеї теляти забезпечують отримання вірусмісної рідини з інфекційним титром $5 \times 10^4 - 5 \times 10^9$ ТЦД_{50/см³}. Вірусний матеріал з такою активністю можна використовувати для виготовлення антигенів, придатних для постановки РЗГА, РН, РДП.

Отримання контрольної позитивної сироватки для постановки РН. З метою отримання позитивної сироватки для постановки РН ми розробили схеми імунізації кролів. Для гіперімунізації кролів були використані штами герпесвірусу першого типу – “СВ-69” та “Буковина” з інфекційною активністю 5×10^6 ТЦД_{50/см³}. При гіперімунізації кролів на 9 добу почали виявляти специфічні антитіла в РЗГА. Їх рівень почав поступово зростати з 5 до $10 \log_2$ на 20-у добу. З 20-ї по 24-у добу титри специфічних антитіл становили $10 \log_2$, а після інтраперитонеального та внутрішньовенного введення зросли до $11 \log_2$. Віруснейтралізуючі антитіла виявлялися раніше. При гіперімунізації штамами “СВ-69” та “Буковина” віруснейтралізуючі антитіла виявляли на 5-ту добу в титрі $1 \log_2$, з 7-ї по 13-ту добу їх титр поступово зростав до $3 - 5 \log_2$. З 15 по 24 добу титри віруснейтралізуючих антитіл становили $8 \log_2$, а після інтраперитонеального та внутрішньовенного введення вони зросли з 25 по 34 добу до $9 \log_2$. Таким чином, була отримана гіперімунна сироватка, яку можна використовувати як контрольну для постановки РЗГА та РН.

Техніка постановки реакції нейтралізації. Постановку РН проводили на культурі клітин трахеї теляти за мікрометодом у 96-лункових мікропланшетах з постійною дозою вірусу 100 ТЦД₅₀. Проби дослідних сироваток крові з двократним розведенням розтитровували від 1:2 до 1:256 на підтримуючому середовищі ГЛА. Ставили також контроль гіперімунної і нормальної сироваток та контроль токсичності дослідних сироваток в розведенні 1:4. Дослід супроводжували контролем інтактної культури клітин. Суміш вірусу з розведеними сироватками інкубували у CO₂-інкубаторі при температурі 37,5°C протягом 60 хвилин. Потім вміст лунок послідовно переносили

до мікропланшету з моношаром культури клітин та інкубували, як вказано вище. Титр нейтралізуючих антитіл визначали як найбільше розведення сироватки, при якому нейтралізувалась цитопатогенна дія вірусу. Проведені дослідження 30 проб сироватки крові в РЗГА та РН показали, що в 78,57% проб результати співпали, коефіцієнт кореляції становить ($r=0,9080$).

Розробка та використання реакції дифузійної преципітації. На першому етапі ми розробили метод отримання антигену для РДП зі штаму “Буковина” ГВК-1. Вірусний матеріал отримували, аналогічно як і для РН. Вірусвмісну рідину піддавали криогенній деструкції. Для видалення клітинного детриту вірусвмісний матеріал центрифугували при 200 g протягом 10 хв. Специфічну контрольну сироватку отримували від гіперімунізованих півнів. Гіперімунізацію здійснювали за такою схемою: вводили 4 рази півням внутрішньовенно 2 см³ вірусвмісного матеріалу з добовим інтервалом, серію введень повторювали через 7 днів двічі. Ще через 7 днів після останнього введення здійснювали відбір крові. Зібрану кров використовували для отримання сироватки.

При приготуванні агару для РДП до 100 см³ 7,5% розчину хлориду натрію додавали 1,5–2 г агару “Діфко” і кип’ятили до повного розчинення, обережно помішуючи. Охолоджений до 50–60°C агар по 12 см³ вносили в чашки Петрі. Після цього пробійником в покритті робили отвори. Гель, що заповнює отвори, видаляли за допомогою піпетки або компресору. Потім обережно над полум’ям спиртівки підігрівали чашки Петрі з агаром для кращої фіксації агару до скла. Проведення комплексу досліджень дозволило визначити оптимальні параметри для постановки РДП. Було встановлено, що для постановки РДП найбільш придатним виявився антиген, концентрований в 60 раз за допомогою діалізу ПЕГ-6000. Постановку реакції необхідно проводити у вологій камері при температурі 24°C протягом 48 годин. За позитивну реакцію вважали утворення смуги преципітату між лунками в агарі (між антигеном і сироваткою), що мала вигляд прямої одинарної чи подвійної лінії. Відсутність ліній вважалась негативним результатом. Проведені нами дослідження 60 проб сироваток крові коней в РЗГА та РДП показали достатньо високу ступінь кореляції ($r=0,8046$). Всі сироватки крові, в яких були виявлені високі титри антитіл у РЗГА (9–10 log₂), були позитивними і в РДП. Реакція дифузійної преципітації менш чутлива за РЗГА і дозволяє виявляти преципітуючі антитіла у сироватках крові коней з рівнем антигемаглютининів не нижчим ніж 8 log₂. Таким чином, РДП доцільно використовувати при клінічному прояві ринопневмонії коней.

Результати порівняльного дослідження сироваток крові коней в РЗГА, РН, РДП та ІФА до ГВК-1. Проведені дослідження 14 проб сироваток крові коней в РЗГА, РН та РДП на ринопневмонію показали, що титри віруснейтралізуючих антитіл корелюють з титрами антитіл, що виявлені в РЗГА. Сироватки крові коней з високими титрами в РН і РЗГА були позитивними в

РДП. Також було проведено дослідження 10 проб сироваток крові в РЗГА, РН, РДП та ІФА. Дослідження на ІФА проводились в Центральній державній лабораторії ветеринарної медицини. Було встановлено, що результати серологічних досліджень в РЗГА співпадають на 90% ($r=0,9752$), а результати в РН – на 66,67% ($r=0,7006$) з результатами ІФА. У сироватках крові тварин з високими титрами антитіл до вірусу ринопневмонії в РЗГА були виявлені преципітуючі антитіла в РДП, які співпадають на 100% ($r=1$) з результатами ІФА.

Таким чином, нами розроблено дві реакції для діагностики ринопневмонії коней – РДП та РН (мікрометод), які дозволяють розширити спектр методів для лабораторної діагностики ринопневмонії коней. Дані діагностичні тести необхідно впроваджувати у виробництво, так як в Україні відсутні власні діагностичні тести, які можна використовувати для діагностики ринопневмонії коней.

Удосконалення лікувально-профілактичних заходів при ринопневмонії коней

Застосування комбіферону для лікування лошат, хворих на гострі респіраторні хвороби. Ми поставили перед собою мету дослідити лікувальну ефективність комбіферону в комплексі з енрофлоксом при лікуванні лошат, хворих на гостру респіраторну форму хвороби. Було сформовано три групи лошат віком 3–5 діб: перша та друга – лошата, в яких відмічалися риніти, кон'юнктивіти та проноси на 2–3 добу після народження (5 та 3 голови відповідно); третя – лошата, клінічно здорові (3 голови). Клінічні, гематологічні, біохімічні дослідження проводились до застосування препаратів та через 1, 2 та 12 місяців. Препарат комбіферон застосовували лошатам першої дослідної групи внутрішньом'язово в лікувальній дозі 2 млн. МО на 50 кг маси тіла 1 раз на добу протягом 7 діб в комплексі з енрофлоксом, який вводили протягом 3-х діб. Лошатам другої дослідної групи застосовували 5%-ний енрофлокс в дозі 0,5 см³ на 10 кг маси тіла один раз на добу протягом 3-х діб. Лошатам контрольної групи препаратів не застосовували. Після проведеного лікування у хворих лошат зникли клінічні симптоми хвороби, але у другій групі через 10–12 діб відмічали ознаки респіраторної хвороби. Через місяць після проведеного лікування показники гематокриту, гемоглобіну, еритроцитів, кольоровий показник, середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті (ВГЕ) були нижчими в дослідних групах відносно контрольної, а кількість лейкоцитів була дещо вищою. Через 2 місяці після проведеного лікування показники кількості еритроцитів, гематокриту, гемоглобіну, лейкоцитів, кольоровий показник та ВГЕ достовірно не відрізнялись. Через місяць після лікування вміст загального білку, альбумінів, каротину, фосфору був нижчим, а вміст імуноглобулінів і кальцію був вищим в дослідних групах у порівнянні з контрольною. Достовірно ($p<0,05$) був нижчим рівень загального білку. Через 2 місяці показники загального білку, альбумінів, імуноглобулінів, каротину, кальцію, фосфору у піддослідних тварин достовірно не відрізнялись в порівнянні з контрольною групою лошат.

Гематологічні та біохімічні показники у піддослідних та контрольній груп тварин через 12 місяців достовірно не відрізнялись між собою. Динаміка середніх значень титрів специфічних антитіл до вірусу ринопневмонії в дослідних і контрольній групах лошаг представлена на рис. 2. З рис. 2 видно, що перед проведенням лікуванням у лошаг дослідних груп були достовірно вищими ($p < 0,01$) титри антитіл в РЗГА до вірусу ринопневмонії відносно контрольної, що свідчить про їх захворювання на дану хворобу. Через місяць після лікування комбіфероном в комплексі з енрофлоксом у лошаг першої дослідної групи вони знизилися вдвічі. Аналогічна тенденція відмічена через 2 місяці в першій та другій дослідних групах. Через рік в 1-й дослідній групі титри специфічних антитіл були достовірно нижчими у порівнянні з титрами специфічних антитіл другої та контрольної груп тварин. Таким чином, застосування комбіферону в комплексі з енрофлоксом показало кращий результат, ніж застосування лише одного енрофлоксу.

Рис. 2. Динаміка титрів антитіл до вірусу ринопневмонії у лошаг контрольної і дослідних груп за результатами постановки РЗГА

Вплив мікосорбу та біо-мосу на прихований перебіг ринопневмонії в жеребних кобил і на розвиток їх лошаг. Для вивчення впливу мікосорбу та біо-мосу на прихований перебіг ринопневмонії у жеребних кобил, особливостей розвитку інфекційного процесу ми сформували 3 групи жеребних кобил: контрольну – 3 тварини, які не отримували препаратів; першу дослідну – 4 тварини, які отримували біо-мос; другу дослідну – 4 тварини, які отримували мікосорб. Біо-мос та мікосорб кобилам задавали один раз на добу по 10 г на голову за місяць до жереблення протягом 20 діб. Кров дослідили перед дачею препаратів, на третю добу після жереблення та через 6 місяців. Одержані результати засвідчили, що у кобил контрольної групи після жереблення знизились рівні еритроцитів, гематокриту, гемоглобіну та, відповідно, зросли кольоровий показник і ВГЕ. У кобил, які отримували біо-мос і мікосорб, на 3-ю добу після жереблення було встановлено достовірно ($p < 0,01$) вищий рівень кількості еритроцитів, підвищення рівнів гематокриту та гемоглобіну. Через 6 місяців гематологічні показники у дослідних та контрольних тварин не відрізнялись між собою. При цьому кольоровий показник і ВГЕ були достовірно ($p < 0,001$) вищими у тварин, які отримували біо-мос. Відразу після жереблення кобил і через 6 міс. відмічено вищі рівні специфічних антитіл до вірусу ринопневмонії у кобил контрольної групи відносно дослідних. Застосування біо-мосу та мікосорбу сприяло підвищенню резистентності організму у жеребних кобил. При цьому відмічено підвищення показників червоної крові та зниження рівнів антитіл до збудника ринопневмонії.

У крові лошат від піддослідних кобил виявлені вищі рівні гематокриту, гемоглобіну, ВГЕ, кольорового показника та достовірно ($p < 0,01-0,001$) вищий рівень каротину. Титри антитіл до вірусу ринопневмонії у лошат дослідних та контрольної груп між собою достовірно не відрізнялись. Протягом 6 місяців лошата першої та другої дослідних груп краще розвивались у порівнянні з контрольною групою.

ВИСНОВКИ

1. На основі комплексних досліджень встановлено широке поширення ринопневмонії в різних категоріях господарств, породних та вікових групах коней. Вивчені імунобіологічні показники організму у здорових та інфікованих вірусом ринопневмонії коней в залежності від рівнів гемаглютининів. Встановлено, що інфікованість коней вірусом ринопневмонії в кінних господарствах становить 72–100%. Розроблені та апробовані нові серологічні методи діагностики, удосконалено способи профілактики та лікування ринопневмонії коней.
2. У сироватці крові молодняку віком до 3-х років, у кобил 3–5, 13–16 років та жеребців-плідників виявлені найвищі титри антитіл щодо вірусу ринопневмонії. У коней з високими титрами антитіл в РЗГА 7–10 \log_2 відмічалась тенденція до зниження показників еритроцитів, гематокриту, лейкоцитів, абсолютної кількості лімфоцитів, рівня загального білку, імуноглобулінів, титрів нормальних антитіл. Клінічні ознаки ринопневмонії коней відмічаються у більшості тварин з високими титрами антитіл (9–10 \log_2 в РЗГА).
3. Результати серологічних досліджень 578 коней різних порід показали, що інфікованість коней української верхової породи становить 73,45 %, російської рисистої – 90,12%, новоолександрівської ваговозної – 68,27 %, арабської і тракененської – 66,67%.
4. Культивування герпесвірусу першого типу (штам “СВ-69” та “Буковина“) на перещеплюваній культурі клітин трахеї теляти забезпечує отримання вірусного матеріалу з інфекційним титром $5 \times 10^4 - 5 \times 10^9$ ТЦД_{50/см³} та з гемаглютинуючою активністю 4 – 32 одиниць. Вірусний матеріал з такою активністю придатний для отримання антигенів – компонентів РЗГА, РН та РДП.
5. Розроблено нову методику отримання гіперімунної сироватки, специфічної до ГВК-1. Гіперімунізація кролів герпесвірусом першого типу з інтервалом 2 доби протягом 17 діб та повторне введення матеріалу на 24 і 25 добу дозволяє отримати гіперімунну сироватку з високим вмістом віруснейтралізуючих антитіл (8–9 \log_2).
6. Розроблені мікрометод РН та РДП, дозволяють розширити спектр методів лабораторної діагностики ринопневмонії коней. Результати постановки цих реакцій корелюють з показниками, отриманими при постановці РЗГА та ІФА, що вказує на їх високу чутливість. Для проведення моніторингових досліджень на ринопневмонію коней, крім РЗГА, необхідно

застосовувати реакцію віруснейтралізації. При наявності клінічних ознак ринопневмонії у коней для підтвердження діагнозу необхідно використовувати РДП.

7. Встановлено, що застосування комбіферону в комплексі з енрофлоксом лошатам, хворим гострою респіраторною формою ринопневмонії, сприяє їх швидшому одужанню в порівнянні з тваринами, які даних препаратів не отримували. В крові підданих лікуванню лошат достовірно ($p < 0,001$) зростає вміст гемоглобіну та середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті.
8. Застосування мікосорбу і біо-мосу жеребним кобилам за місяць до жереблення сприяє зниженню рівня напруженості інфекційного процесу, зумовленого збудником ринопневмонії, підвищенню показників резистентності організму жеребних кобил, покращенню росту та розвитку лошат.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для розширення спектру доступних методів комплексної лабораторної діагностики ринопневмонії пропонується реакція віруснейтралізації (мікрометодом) та реакція дифузійної преципітації.
2. Комбіферон в дозі 2 млн. МО на 50 кг маси тіла 1 раз на добу протягом 7 діб в комплексі з 5%-ним енрофлоксом в дозі 0,5 см³ на 10 кг маси тіла 1 раз на добу протягом 3-х діб необхідно застосовувати для лікування лошат з ознаками гострої респіраторної форми ринопневмонії.
3. З метою підвищення резистентності та зниження напруженості інфекційного процесу, зумовленого ринопневмонією, кобилам за місяць до жереблення, доцільно згодовувати щодоби по 10 г мікосорбу та біо-мосу протягом 20 діб.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Бегас В.Л.** Використання реакції дифузійної преципітації для діагностики ринопневмонії коней // Вісник ДАУ, м. Житомир. – 2006. – №2. – С. 236 – 241.
2. Галатюк О.Є., **Бегас В.Л.** Зміна рівня антитіл до вірусу ринопневмонії у коней в залежності від їх породних та вікових особливостей / Міжвідомчий тематичний науковий збірник „Ветеринарна медицина 85”.– Харків. – 2005. – Т.1. – С.260–263. (дисертантом виконані експериментальні дослідження, аналіз та узагальнення результатів).
3. Галатюк О.Є., **Бегас В.Л.**, Осадца Г.Б., Лохов В.В. Вплив біомосу[®] і мікосорбу[™] на жеребних кобил і на розвиток отриманих від них лошат // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква. – 2006. Вип. 41. – С. 20–26. (дисертантом виконані експериментальні дослідження, аналіз та узагальнення результатів).
4. **Бегас В.Л.**, Галатюк О.Є. Культивування на культурах клітин герпесвірусів коней першого та другого типу // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції „Забезпечення

ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції”. – Одеса.–2004.–Ч.1. – С.124–129.

5. Галатюк О.Є., **Бегас В.Л.**, Скибіцький В.Г., Мартиненко Д.Л. Застосування комбіферону для лікування респіраторних хвороб у лошах // Збірник наукових праць науково-практичної конференції, присвяченій 75-річчю Новогалещинської біофабрики. – Полтава. – 2006. – С. 115–120.
6. **Бегас В.Л.** Гематологический и биохимический статус кобыл, больных ринопневмонией // Материалы Сибирского международного ветеринарного конгресса, Новосибирск. – 2005. – С. 204–205.

Бегас В.Л. Удосконалення діагностики та профілактики ринопневмонії коней. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.08 – епізоотологія та інфекційні хвороби. – Національний аграрний університет, Київ, 2007.

Дисертація присвячена удосконаленню методів діагностики та покращенню методів та засобів профілактики ринопневмонії коней. Вивчено поширення ринопневмонії коней в племінних кінних господарствах в деяких регіонах України. На основі серологічного моніторингу встановлено, що серопозитивність коней в РЗГА становить 72–100%.

Результати досліджень свідчать, що найвищі титри антитіл в РЗГА при ринопневмонії коней виявлені в молодняку віком до 3-х років, у кобил 3–5, 13 – 16 років та в жеребців-плідників. У коней з високими титрами антитіл відмічаються клінічні ознаки ринопневмонії та тенденція до зниження показників імунобіологічної реактивності організму.

Показано, що для культивування герпесвірусу першого типу та отримання антигену придатна перещеплювана культура клітин трахеї теляти, з якої можна отримати вірусний антиген герпесвірусу першого типу з штамів “СВ-69” та “Буковина” з інфекційною активністю $5 \cdot 10^4$ – $5 \cdot 10^9$ ТЦД_{50/см³}, та з гемаглютинуючою активністю 4 – 32 для постановки серологічних реакцій.

Розроблена схема отримання гіперімунної діагностичної сироватки на кролях, придатної для постановки реакції нейтралізації. Встановлено високий коефіцієнт кореляції результатів в реакції нейтралізації ($r = 0,8269$) та дифузійної преципітації з результатами в реакції затримки гемаглютинації та з результатами імуноферментного аналізу при діагностиці ринопневмонії коней.

Удосконалено способи лікування і профілактики ринопневмонії коней на основі застосування комбіферону, мікосорбу, біо-мосу. При застосуванні комбіферону внутрішньом’язово в дозі 2 млн. МО на 50 кг маси тіла 1 раз на добу протягом 7 діб в комплексі з

енрофлосом встановлено позитивний лікувальний ефект у лошат та стабілізацію показників гомеостазу. Застосування мікосорбу та біо-мосу жеребним кобилам за місяць до жереблення сприяє зниженню рівня напруженості інфекційного процесу, зумовленого ринопневмонією, підвищенню показників резистентності у кобил, нормалізує ріст і розвиток лошат.

Ключові слова: герпесвірус першого типу, ринопневмонія, коні, діагностика, профілактика, реакція нейтралізації, реакція дифузійної преципітації, гіперімунна сироватка.

Бегас В.Л. Усовершенствование диагностики и профилактики ринопневмонии лошадей. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.08 – эпизоотология и инфекционные болезни. – Национальный аграрный университет, Киев, 2007.

Диссертация посвящена усовершенствованию методов диагностики и профилактики ринопневмонии лошадей. Изучено распространение ринопневмонии лошадей в хозяйствах разных категорий некоторых регионов Украины. На основании проведенных серологических исследований установлено, что сероположительность лошадей в РТГА составляет 72–100%.

Показано, что высокие титры специфических антител в РТГА относительно ринопневмонии лошадей регистрируются у молодняка возрастом до 3-х лет, у кобыл 3–5, 13–16 лет и у жеребцов-производителей. У лошадей с высокими титрами антител отмечаются клинические признаки ринопневмонии и тенденция к снижению количества эритроцитов, лейкоцитов, показателя гематокрита, абсолютного количества лимфоцитов, уровня общего белка, иммуноглобулинов, титров нормальных антител.

Исследования, проведенные в одном из конных заводов, свидетельствуют, что на протяжении четырех лет уровень инфицирования лошадей разных пород периодически возрастает до 100%. Полученные данные указывают, что приблизительно у 10–30% лошадей периодически отмечается отсутствие антител в сыворотке крови. Это может свидетельствовать об элиминации вируса из организма и указывать на то, что спустя некоторое время происходит реинфекция.

Проведенный анализ результатов исследований 578 сывороток крови лошадей разных пород из 9 племенных ферм показал, что инфицированность вирусом ринопневмонии была: русской рысистой породы – 90,12%, украинской верховой – 73,45%, новоалександровской тяжеловозной – 68,27%, арабской и тракененской – 66,67%.

Проведена адаптация герпесвируса первого типа к перевиваемой культуре клеток трахеи теленка. Использование данной культуры дает возможность получать вирусный антиген герпесвируса первого типа штаммов “СВ-69” и “Буковина” с активностью $5\text{Ч}10^4 - 5\text{Ч}10^9$ ТЦД_{50/см³}

и с гемагглютинирующей активностью 4 – 32 ГАЕ. Такой антиген пригоден для постановки реакции нейтрализации (РН) и реакции диффузионной преципитации (РДП).

Разработаны методики постановки РДП и РН для диагностики ринопневмонии лошадей, которые позволяют расширить спектр методов лабораторной диагностики болезни. РН проводится на 96-луночных плоскодонных микропланшетах с постоянной дозой вируса 100 ТЦД₅₀. Исследуемую сыворотку крови необходимо разводить от 1:2 до 1:256. Также разработана схема, которая позволяет получать от кроликов гипериммунную диагностическую сыворотку для постановки реакции нейтрализации. Для гипериммунизации применяли герпесвирус первого типа с инфекционной активностью 5×10^6 ТЦД_{50/см³}. Гипериммунизация кроликов герпесвирусом первого типа с интервалом 2 суток на протяжении 17 суток и вторичное введение материала на 24 и 25 сутки позволяет получить гипериммунную сыворотку с высоким титром вируснейтрализующих антител ($8-9 \log_2$).

Установлено, что для проведения РДП наиболее пригодным оказался антиген, концентрированный в 60 раз с помощью диализа ПЕГ-6000. Определены оптимальные условия для проведения РДП. При проведении РДП чашки Петри необходимо помещать во влажную камеру при температуре 24°C на протяжении 48 часов. В качестве контрольной положительной сыворотки необходимо использовать гипериммунную сыворотку, полученную при гипериммунизации петухов либо от лошадей-реконвалесцентов. Сравнительные исследования 60 проб сывороток крови в РТГА и РДП показали, что коэффициент корреляции составил 0,8046. Реакция диффузионной преципитации позволяет обнаружить преципитирующие антитела в сыворотках крови лошадей с уровнем антиггемагглютининов не ниже $8 \log_2$.

Установлена высокая корреляция разработанных диагностических реакций (РН и РДП) с реакцией торможения гемагглютинации и иммуноферментным анализом. Коэффициент корреляции результатов в РТГА составил $r=0,9752$, РДП – $r=1$, РН – $r=0,7006$ с результатами в ИФА.

Усовершенствованы способы лечения и профилактики ринопневмонии на основе применения микосорба, био-моса и комбиферона. Введение комбиферона жеребят, больным острой респираторной формой ринопневмонии, внутримышечно в комбинации с 5%-ным энрофлоксом позволяет добиться их выздоровления. В крови переболевших жеребят прослеживается достоверное увеличение уровня гемоглобина и увеличение среднего содержания гемоглобина в одном эритроците.

Выявлено положительное влияние скармливания микосорба и био-моса по 10 гр в сутки в течении 20 суток за месяц до жеребления на уровень напряженности инфекционного процесса при ринопневмонии лошадей. Полученные результаты засвидетельствовали, что у кобыл, которые получали микосорб и био-мос на 3 сутки после жеребления, достоверно ($p < 0,01$) повышался

уровень количества эритроцитов, гематокрита и гемоглобина. У кобыл, которые препаратов не получали, сразу после жеребления и через 6 мес. выявлены более высокие уровни антител к вирусу ринопневмонии. В крови жеребят, рождённых от исследуемых кобыл, обнаружены более высокие уровни гематокрита, гемоглобина в сравнении с контрольной группой жеребят. Применение микосорба и био-моса способствует повышению показателей иммунобиологической реактивности организма кобыл.

Ключевые слова: герпесвирус первого типа, ринопневмония, лошади, диагностика, профилактика, реакция нейтрализации, реакция диффузионной преципитации, гипериммунная сыворотка.

Behas V.L. The Improvement of the diagnostics and prophylaxis of rhinopneumonia of horses. – Manuscript.

The dissertation on winning candidate's degree in veterinary sciences for speciality 16.00.08 – epizootology and infectious diseases. National Agrarian University, Kyiv, 2007.

The dissertation is dedicated to improvement of the diagnostics and preventive methods and means of rhinopneumonia of horses. Spreading of rhinopneumonia of horses in miscellaneous categories of horse farming was studied on the bases of serological tests and it was shown that seropositivity of livestock in HIT presents 72–100%.

It was defined that the highest titres of specific antibodies in HIT concerning rhinopneumonia of horses are found out in saplings under the age of 3 years old, in mares of 3–5 and 13–16 years old. Horses with high titres of antibodies have clinical symptoms of rhinopneumonia and tendency to reduction of the factors of immunobiological reactivity of body.

It was shown that for cultivation of the first type herpesvirus and reception of the antigen, the cellculture of the calf tracheas is suitable, from which it is possible to get the virus antigen of the first type herpesvirus from culture "SV-69" and "Bukovina" with activity $5 \cdot 10^4$ – $5 \cdot 10^9$ ТЦД_{50/sm³}, and with haemagglutination activity 4 – 32 for statement of serological tests.

The scheme of receipt of hyperimmune diagnostic serum using rabbits, that is suitable for statement of the neutralization test, was elaborated. It was defined the high correlation of neutralization test and agar gel immunodiffusion test with haemagglutination inhibition test and ELISA when diagnosing rhinopneumonia of horses.

The ways of the treatment and prophylaxis of rhinopneumonia of horses are advanced on basis of usage of kombiferon, mikosorb, and bio-mos. A positive medical effect foals have and stabilization of homeostasis indices was defined when using kombiferon intramuscularly 2 ml per 50 kgs of body weight dose one time a day during 7 days in complex with enrofloxacin. Use of mikosorb and bio-mos by pregnant mares one month before foal promotes lowering of level of intensity of the infectious process

that is caused by rhinopneumonia and increasing of resistance indices that mares have, and normalizes foals growth and development.

Keywords: first type herpesvirus, rhinopneumonia, horses, diagnostics, prophylaxis, virus neutralization test, agar gel immunodiffusion test, hyperimmune serum.