

УДК: 619: 616.98:578.831:636.596

Кононенко І.О.¹, Пархоменко Л.І.²¹«Біо-Тест-Лабораторія», м. Київ²Луганський національний аграрний університет

ДЕТЕКЦІЯ ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ У ПАПУГ

Детекція параміксовірусу в патологічному матеріалі від папуг із використанням курячих ембріонів та полімеразної ланцюгової реакції, показала наявність типових для розмноження вірусу патологічних змін і наявність генетичного матеріалу вірусу ньюкаслської хвороби.

Ключові слова: параміксовірус, папуги, ембріони курей, полімеразна ланцюгова реакція.

Вступ. Екологічною та епідеміологічною проблемою є циркуляція епізоотичних штамів параміксовірусів серед декоративної птиці. Це обумовлено завозом птиці з-за кордону та відсутністю контролю її на вірусоносійство[2]. Така птиця може бути джерелом особливо небезпечних хвороб, таких як ньюкаслської хвороби (НХ), параміксовірусів (ПМВ) різних серотипів, грипу, синдрому зниження несучості (СЗН), інфекційного енцефаломієліту та анемії, хламідіозу, інфекційного бронхіту та інших. Таким чином, з 8000 описаних видів птиці НХ виявлена у 236 декоративних видів птахів (2,5%). Високий рівень чутливості виявлено у папуг, голубів та страусів [8]. Від імпортованих декоративних птахів, голубів, які знаходяться на карантині, ізолювали збудників ньюкаслської хвороби, грипу та інше [3].

Епізоотичне значення для популяції голубів та папуг із усіх сероваріантів вірусу мають параміксовіруси 1, 2, 3 та 5 – го серотипів [1].

У папуг при інфікуванні параміксовірусом 1-го серотипу частіше виникає нервова форма захворювання у вигляді судом, порушення координації рухів. За гострої форми перебігу захворювання загибель настає за 3 доби, перед загибеллю розвивається атаксія, що супроводжується скручуванням шиї, паралічем крил та кінцівок, судомами. При патологоанатомічному розтині реєструють набряк легень, головного мозку, серозний перикардит [10].

Параміксовірус 3-го серотипу був виділений від папуг із ознаками ураження центральної нервової системи, гострим панкреатитом. Смертність при інфікуванні цим серотипом вірусу становить близько 100% [6].

АРМV–5 серологічно та антигенно відрізняється від інших відомих серотипу параміксовірусу, який викликає захворювання у папуг, що характеризується пригніченням, задихом, проносом, опістотонусом. Експериментальна інфекція, викликана параміксовірусом 1-го серотипу не викликала захворювання у молодих та дорослих курей та голубів, тоді як спричиняла 100% загибель папуг [5].

Параміксовірус 1-го та 2-го серотипів культивуються в алантоїсній порожнині 9-ти добових курячих ембріонів (КЕ) за температури 37⁰С, та викликає їх загибель через 3 - 4 доби [4, 9].

Індикація параміксовірусів серед декоративної птиці за допомогою вірусологічного моніторингу, а також вивчення біологічних властивостей ізолятів вірусів, що належать до різних серологічних груп є необхідним у вирішенні питання епізоотичної стабільності у аматорському птахівництві.

Мета роботи полягала в індикації параміксовірусу в патологічному матеріалі від папуг із приватних господарств Луганської області.

Матеріали і методи. У роботі використувували матеріал, отриманий від хворих та загиблих папуг різного віку з аматорських господарств Луганської області.

Виділення вірусу. З метою ізоляції вірусу НХ із патологічного матеріалу готували суспензію на стерильному фізіологічному розчині (рН 7,2 – 7,4) з додаванням антибіотиків (100 од/мл бензилпеніциліну натрієвої солі, 150 од/мл стрептоміцину сульфату) та використовували для культивування у КЕ.

Інфікували 9-добові КЕ, які отримували від благополучного щодо інфекційних захворювань стада птиці, не вакцинованого проти НХ. Було проведено 3 послідовні пасажі згідно ДСТУ 25587-83 «Метод лабораторної діагностики хвороби Ньюкасла» [11], об'ємі 0,2 мл. Відібраний матеріал зберігали в морозильній шафі за температури мінус 20⁰С.

Ізоляцію сумарних нуклеїнових кислот проводили за допомогою наборів для екстракції РНК «Рибосорб» виробництва фірми АпліСенс, Москва. Зворотню транскрипцію проводили за допомогою набору «Реверса Л» виробництва фірми АпліСенс, Москва, Російська Федерація.

Реакцію ампліфікації проводили у два етапи за допомогою базових наборів виробництва фірми АпліСенс та системи праймерів NDVfus_F/R.

Електрофоретичний аналіз проведений за допомогою набору для електрофорезу виробництва фірми АпліСенс, Москва, Російська Федерація. Концентрація агарози в гелі 1 %, напруга 120 В [12].

Результати досліджень. При проведенні патологоанатомічного розтину трупів папуг різного віку, у яких за життя спостерігали порушення координації рухів, тремор м'язів, викручування шиї, відсутність апетиту, діарея, були виявлені зміни, характерні для НХ. Патологічні зміни у папуг характеризувалися виснаженням, геморагічним запаленням кишкового, наявністю уремічних солей у сечоводах, крововиливами під черепною коробкою та запаленням мозкових оболонок (рис.1).

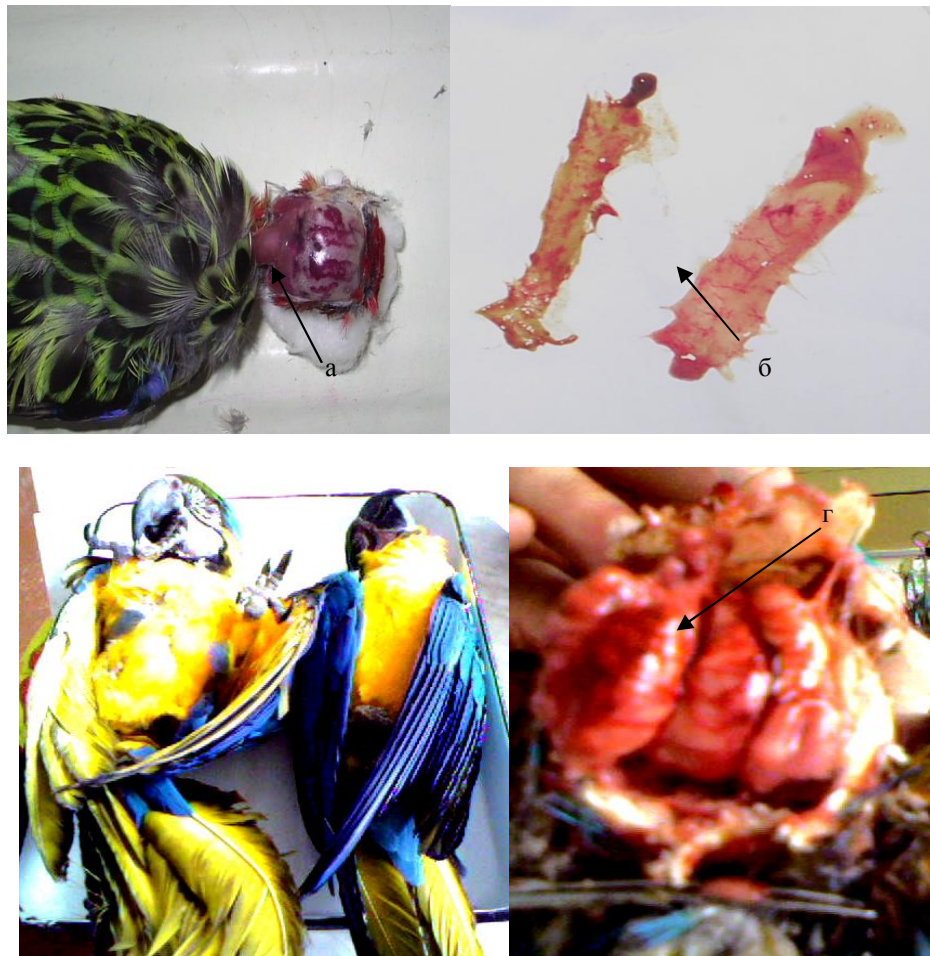


Рис. 1. Патологічні зміни у хвилястих папуг:
а – ураження головного мозку;
б – характерні крововиливи у кишечнику
у синьо - жовтих Ар (Araarauna):
в –загиблі папуги;
г–крововиливи у головному мозку.

Співвідношення патологічних ознак залежно від віку папуг наведені у таблиці 1.

У 100 % випадків реєстрували гіперемію оболонок головного мозку, 12 - палії кишки. У дорослих папуг виявляли геморагічне запалення у товстому відділі кишкового на рівні 100 %, тоді як у пташенят хвилястих папуг ця ознака була виявлена у 50 % досліджених. Наявність уремичних солей у сечоводах була найвищою у пташенят (100 %), на відміну від дорослих папуг (0 - 5 %).

Інфікуванням КЕ патологічним матеріалом від папуг не викликало загибелі, але деякі патологічні зміни в КЕ є характерними для репродукції вірусу ньюкаслської хвороби.

Таблиця 1

Результати патологоанатомічного розтину папуг, n = 5

| Патологічні зміни | Пташенята хвилястих папуг, вік, доба | | Дорослі папуги | | |
|--|--------------------------------------|-----|----------------|--------|--------|
| | 15 | 28 | хвилясті | корели | розели |
| Гіперемія оболонок та розм'якшення головного мозку | - | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Гіперемія залозистого шлунку | - | 100 | 80 | 20 | 20 |
| Геморагічне запалення у 12-палій кишці | - | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Геморагічне запалення у товстому відділі кишковика | 50 | 50 | 100 | 100 | 100 |
| Наявність уратів у сечоводах | 100 | 100 | - | 5 | 5 |
| Виснаження трупів папуг | 50 | 100 | 70 | 50 | 20 |

Примітка: « - » відсутність ознаки

Аналіз патологічних змін в інфікованих КЕ у 3-х пасажах вказує на різний відсоток їх та інтенсивність прояву (таблиця 2).

Найбільш стабільною ознакою впродовж 3-х пасажів був застій крові в судинах хоріоантотрофної оболонки (ХАО), відставання ембріонів у розвитку, збільшення печінки та нирок.

Із збільшенням пасажів у КЕ відмічали появу крововиливів на голові (100 %), тілі зародка (80 %) та потилиці (20 %)

Таблиця 2

Патологічні зміни в курячих зародках, індуковані ізолятом вірусу НХ від папуг (n=10)

| Патологічні зміни в курячих зародках | Відсоток патологічних змін | | |
|--|----------------------------|-----------|-----------|
| | 1 пасаж,% | 2 пасаж,% | 3 пасаж,% |
| Наявність уратів в екстра ембріональній рідині | 80 | 20 | - |
| Застій крові в судинах ХАО | 100 | 100 | 100 |
| Утруднене відділення ХАО від шкаралупи | - | 20 | 60 |
| Відставання ембріону в розвитку | 100 | 100 | 40 |
| Крапчасті крововиливи на голові | - | 100 | 100 |
| Крапчасті крововиливи в області потилиці | - | 20 | 20 |
| Крапчасті крововиливи на тілі | - | 80 | 80 |
| Збільшення печінки | 100 | 100 | 100 |
| Нерівномірний колір печінки | - | 40 | 20 |
| Венозний застій у печінці | 100 | 80 | 80 |
| Збільшення нирок | 80 | 100 | 100 |
| Венозний застій у нирках | 100 | 60 | 100 |
| Нерівномірний колір нирок | 40 | 20 | - |
| Венозний застій у легенях | 60 | - | 40 |

Примітка: « - » відсутність ознаки.

Проведенням полімеразної ланцюгової реакції за для виявлення вірусу ньюкаслської хвороби в патологічному матеріалі від синьо - жовтих Ар підтверджена наявність генетичного матеріалу даного вірусу.

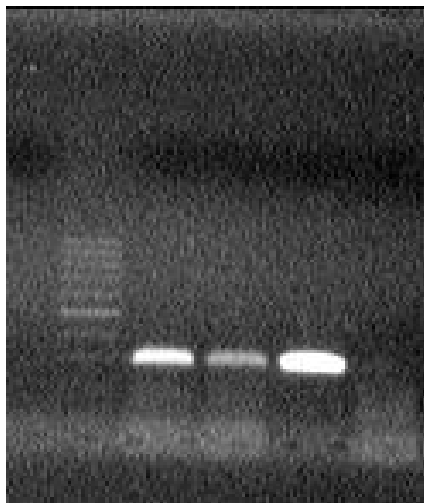


Рис. 2. Результати виявлення генетичного матеріалу вірусу НХ у зразках від папуг Ар.

Висновки.

1. Серед типових для розмноження вірусу ньюкаслської хвороби у KE патологічних змін зареєстровано відставання у розвитку та крововиливи на голові.

2. Індикація вірусу у патологічному матеріалі від папуг із використанням KE та полімеразної ланцюгової реакції підтверджує етіологічне значення вірусу ньюкаслської хвороби у розвитку інфекції та загибелі папуг.

Література

1. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses/D.J. Alexander [et al.]//A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists, USA – 1998. – pp. 156 – 163.
2. Clavijo A. Velogenic Newcastle disease in imported caged birds /A. Clavijo, Y. Robinson // Can Vet J. – 2000. - №41. – V.5. – p. 404 – 406.
3. Gilchrist P. Involvement of free-flying wild birds in the spread of the viruses of avian influenza, Newcastle disease and infectious bursal disease from poultry products to commercial poultry /P. Gilchrist// World's poultry science journal. – 2005. – Vol.61. - № 2 June. – P. 198-214.
4. King D.J. Avian paramyxovirus type 1 from pigeons: isolate characterization and pathogenicity after chicken or embryo passage of selected isolates /D.J.King // Avian Dis. – 1996. – pp. 707 - 714.

5. Samuel A.S. Complete sequence of the genome of avian paramyxovirus type 5 and comparison with other paramyxoviruses/A.S. Samuel// *Virus Res.* – 2009. –Vol. 142.– pp. 10–18.
6. Kumar S. Experimental avian paramyxovirus serotype-3 infection in chickens and turkeys /S. Kumar [et al.]// *Vet. Res.* – 2010. - Vol. 41 (5) – P. 72.
7. Madadgar O. A study of ND virus obtained from exotic caged birds in Tehran between 2009 and 2010 /O. Madadgar// *Avian Pathol.* 42 (1) – 2013. – pp. 27 – 31.
8. Herrera, I. Serological status for *Chlamydia psittaci*, Newcastle disease virus, avian polyoma virus, and Pacheco disease virus in scarlet macaws (*Aramacao*) kept in captivity in Costa Rica/ I Herrera, M.S.R Khan, E.F Kaleta, H. Muller// *Journal of Veterinary Medicine. Series B.* - 2001. - Vol. 48 (10) - pp. 721-726.
9. Zhang G.Z. Isolation, identification, and comparison of four isolates of avian paramyxovirus serotype 2 in China /G.Z. Zhang, J.X. Zhao, H.W. Wang, A.M. Yang// *Avian disease.*- 2006. - Vol. 50.- pp.386 - 390
10. Nerome K. Isolation of a new avian paramyxovirus from budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) /K. Nerome, M. Nakayama, M. Ishida, H. Fukumi// *J. Gen. Virol.*-1978. - Vol. 38, pp. 293 - 301.
11. ДСТУ 25587-83 «Методи лабораторної діагностики хвороби Ньюкасла».
12. Стегній Б.Т. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях/Б.Т. Стегній, А.П. Герілович, О.Ю. Лимарська, В.О. Головка [та ін.]. - Харків, «НТМТ», - 228 с.

Summary

I. Kononenko¹, L. Parkhomenko²

«Bio-Test-Laboratoriya», Kiev, Ukraine¹

Lugansk National agrarian university, Lugansk, Ukraine²

DETECTION OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN PARROTS

Detection of paramyxovirus in the pathological material from parrots using chicken embryos and polymerase chain reaction showed the presence of typical for the reproduction of the virus of pathological changes and the presence of genetic material of the virus Newcastle disease.

Key words: *paramyxovirus, parrots, embryos of chickens, polymerase chain reaction.*

Рецензент – к.вет.н., доцент Калініна О.С.