

Розділ 6

ЕПІЗООТОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ, МІКОЛОГІЯ, ІМУНОЛОГІЯ

УДК: 636.5: 619:616.988

ВИВЧЕННЯ АСОЦІЙОВАНОГО ПЕРЕБІГУ МЕТАПНЕВМОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ

Івлева О.В., аспірант, sauce1908@gmail.com

Наливайко Л.І., д.вет.н.

Луганський національний аграрний університет

Анотація. У статті наведені дані епізоотологічного моніторингу, який був проведений у індиків кросу «Біг-6» віком 170 днів та курчат яєчного напрямку кросу «Хайсек білий» 7-денного віку у двох приватних господарствах Харківської області, при якому було встановлено асоціативний перебіг метапневмовірусної інфекції з патогенною бактеріальною мікрофлорою (*E. coli* та стафілокок). Наявність метапневмовірусу у хворих індиків було підтверджено серологічними дослідженнями - імуноферментним аналізом (ІФА) та індикацію його РНК-геному у патологічному матеріалі курчат за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Ключові слова: індики, курчата, епізоотологічні, серологічні та вірусологічні дослідження, метапневмовірусна інфекція, колібактеріальна інфекція, клінічні ознаки.

Актуальність проблеми. Економічні реформи в Україні не обійшли стороною птахівництво у фермерсько-присадибних господарствах, у яких зараз виробляється більше 80 % птахівничої продукції. Висока ступінь концентрації поголів'я призводить до збільшення забрудненості мікроорганізмами виробничих приміщень та території навколо них, примножує потенціальну небезпеку багатьох інфекцій за рахунок умовно-патогенної мікрофлори. Створюються потенційні умови для розвитку одночасно бактерійних та вірусних захворювань, при яких змінюються динаміка чутливості за віком, клінічні ознаки і характер патоморфологічних змін. Також рівень епізоотичного благополуччя залежить від санітарної культури птахівничих підприємств. Підготовка зони, ферми до приймання нової партії птиці повинна здійснюватися згідно ветеринарно-санітарним вимогам [1, 2].

Але, на жаль, власники присадибних і фермерських господарств в багатьох випадках не додержуються ветеринарно-санітарних вимог, особливо це стосується схеми вакцинації проти гострих інфекційних захворювань, чим ускладнюють епізоотичну ситуацію в тому чи іншому регіоні [3, 4].

Останнім часом, згідно даним літератури, особливу небезпеку для птиці становлять реовірусна та метапневмовірусна інфекції, мікоплазмоз, колібактеріоз як самостійно, так і в асоціації. Перебіг останніх частіше спостерігають у вигляді вторинної інфекції, що призводить до ускладнень симптоматики захворювань [5 - 7].

При постановці діагнозу враховують епізоотичну ситуацію, клінічні ознаки хвороби, патологоанатомічні зміни і результати лабораторних досліджень. Оскільки клінічні і патологоанатомічні ознаки метапневмовірусної інфекції (МПВІ) птиці неспецифічні, основна роль в постановці діагнозу належить лабораторним методам, розробка і вдосконалення яких є актуальним напрямком досліджень [8].

Метою досліджень було проведення епізоотологічного моніторингу у птахівничих господарствах різних форм власності щодо вивчення захворювань з використанням молекулярно-біологічних (ПЛР), серологічних (ІФА), бактеріологічних та вірусологічних методів дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Епізоотологічний моніторинг щодо вірусних та бактеріальних захворювань проводили в племінних приватних птахівничих господарствах серед індиків кросу «Біг-6» віком від 1 до 170 днів, курчат кросу «Хайсекс білий» 6-7 добового віку в різних

регіонів Харківської області за допомогою ІФА-методу з використанням діагностичного набору Bio-Chek (Нідерланди) та ПЛР.

Вірусологічні і бактеріологічні дослідження з метою ізоляції збудників захворювання з патологічного матеріалу проводили у відділі забезпечення якості кормів та ветеринарного благополуччя Державної дослідної станції птахівництва (ДДСП) НААН України.

Ізоляцію вірусів проводили на 9-10-денних курячих ембріонах, вільних від специфічних антитіл до МПВІ, та перепелиних 6-7-денних ембріонах, за загальноприйнятою методикою [2,4,8].

Бактеріологічні дослідження проводили згідно загальноприйнятих методик з використанням МПБ, МПА, соляного агару, Ендо, Мюллера, агару Хотінгера [2, 9].

Серологічні та молекулярно-генетичні (ПЛР) дослідження проводили в ННЦ «ІЕКВМ» (м. Харків).

Результати дослідження. В одному регіоні Харківської обл. у приватному птахогосподарстві при клінічному огляді індиків кросу «Біг-6» віком 170 днів було виявлено клінічно хвору птицю, у якій спостерігали: пригнічення, сонливість, набряк голови, міжщелепного простору та підочних синусів, тяжке дихання і витікання слизи із дзьоба. Кількість загиблих індиків склала 1,7 % або від загальної кількості 600 голів.

При розтині загиблої птиці встановлено накопичення фібрину на слизовій трахеї, збільшення, кровонаповнення і дряблість печінки, селезінки та нирок; двосторонню пневмонію з наявністю фібрину, геморагічний ентерит.

Бактеріологічними дослідженнями з легень ізольовано *E.coli* (сер. O115), не чутливу до антибіотиків.

Методом ІФА було досліджено 25 проб сироваток крові і виявлено 100 % позитивно реагуючих на МПВІ з титрами антитіл від 3000 і вище.

У другому регіоні Харківської обл. спостерігали загибель курчат віком 6-7 діб кросу «Хайсек білий», завезених у приватне господарство з Угорщини. У загиблої птиці при патологоанатомічному розтині спостерігали некротичні зміни у печінці, збільшення жовчного міхура, катарально-геморагічний ентерит, збільшення і кровонаповнення селезінки.

Бактеріологічними дослідженнями від курчат ізольовано *E.coli* (сер. O78) та стафілокок.

Чутливість ізольованих культур вивчали за допомогою комерційних паперових дисків просочених медикаментозними препаратами. Всього було використано 14 дисків (гентаміцин, окситетрациклін, флорон, фторфенікол, колістин, енрофлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, тіамулін, тілмікозін, тилозин, лінкоміцин, доксициклін, амоксицилін). Встановлено, що ізольовані культури були малочутливі до флорону (зона лізису 15 мм), до інших препаратів культури були не чутливі.

Для проведення вірусологічних досліджень суспензією органів, відібраних від курчат (печінка, легені, серце, нирки) були інфіковані 9-денні курячі ембріони, вільні від специфічних антитіл до вірусних інфекцій, у хоріоалантоїсна оболонка (ХАО) за загально-прийнятою методикою, у яких після 7-денного інкубування за допомогою ПЛР було індиковано РНК-геном МПВІ.

Для ізоляції МПВІ проведено 2 пасажі на 7-денних перепелиних ембріонах. Під час репродукції вірусу вивчали зміни у ембріонів і на ХАО. Встановлено гіперемію тулуба ембріонів, крововиливи на потилиці; серце наповнене кров'ю або мало білий колір, печінка збільшена і мала білий або червоний колір, ін'єкцію кровонесних судин ХАО (рис. 1, 2).

Для вивчення біологічних властивостей ізоляту були використані фібробласти перепелиних 7-денних ембріонів (ФЕП). Інфекційний титр вірусу становив $2,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/\text{см}^3$.

Дослідження в даному напрямку продовжуються.

Таким чином, на підставі проведеного епізоотологічного моніторингу можна зробити попередній висновок, що в приватних птахогосподарствах різних регіонів Харківської області серед індиків та курчат різного віку має місце поширення метапневмовірусної інфекції в асоціації з коліінфекцією та коковою флорою, про що свідчить наявність антитіл до збудника МПВІ у діагностичних титрах, його ізоляція від хворої птиці та індикація геному вірусу методом ПЛР.

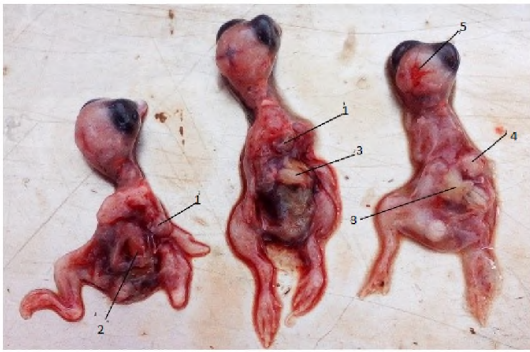


Рис. 1. Патологоанатомічні зміни в перепелиних ембріонах:

1. гіперемія серця; 2. кровонаповнення печінки; 3. анемічність печінки;
4. анемічність серця; 5. крововиливи на потилиці

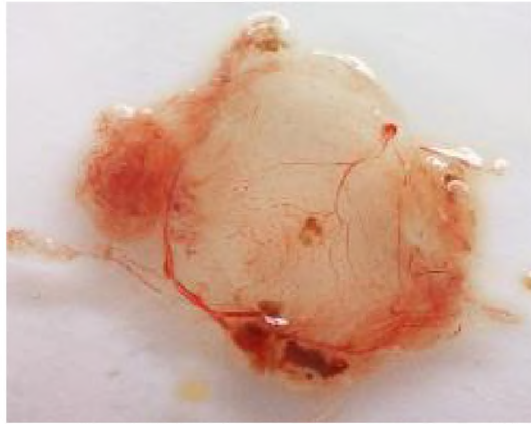


Рис.2. Ін'єкція кровоносних судин ХАО

Висновки

1. У приватних птахогосподарствах виявлено 100 % позитивно реагуючих до МПВІ індиків 170-денного віку. У індиків та курчат тижневого віку встановлено перебіг асоційованої інфекції: МПВІ на фоні колібактеріозу і стафілококу.
2. У патологічному матеріалі клінічно хворих курчат методом ПЛР індиковано РНК-геном пневмовірусу, який відноситься до роду *Pneumovirus*.
3. При культивуванні на ембріонах виявлено їх характерні для МПВІ патогноманічні зміни, що свідчить про наявність метапневмовірусу у біологічному матеріалі.

Література

1. Апатенко В.М. Ассоциированные инфекции птиц [Текст] / В.М. Апатенко // Проблемы зооинженерной и ветеринарной медицины. – Харьков. – 2002. – С. 85–89.
2. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / М.О. Биргер, -3-е изд., -М., Медицина.-1982.- 464 с.
3. Борисова И.А. Пневмовирусная инфекция птиц /И.А. Борисова, С.К. Старов // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. - Владимир, 2006. - Т.4. - С. 281-296.
4. Головки А.Н. Способы и методы культивирования вирусов [Текст] / А.Н. Головки, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрыпник, Б.Г. Стегний, В.В. Герман, Л.В. Олейник, М.В. Бабкин // кн. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине, 2007. – Х. «НТМТ». – С. 173–192.
5. Наливайко Л.І. та ін. Серологічний моніторинг метапневмовірусної інфекції за допомогою РНГА в птахогосподарствах України /Л.І. Наливайко, І.К. Авдос'єва, Д.В. Рябека // Сучасне птахівництво, 2013.-№ 5 (126).- С. 9-11.
6. Наливайко Л.І. та ін. Контроль метапневмовірусної інфекції птиці за допомогою серологічних методів діагностики /Л.І. Наливайко, О.В. Циновий, О.А. Шомін, С.В. Рябінін // ж. ІТ НААН, Наук.-тем. збірник «Птахівництво».- № 69.- 2013.- С.230-235.
7. Пругло В.В. Течение реовирусного теносиновита в ассоциации с кокковыми инфекциями [Текст]: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. вет. наук : спец. 16.00.03– вет. микроб., вирус, эпизоот., микол. с микотокс. и иммунол. / В.В. Пругло – СПб, 2005. – 21с.
8. Сюрин В.Н. Культивирование вирусов в куриных эмбрионах / В.Н.Сюрин, Р.В.Белоусова, Н.В.Фомина // Ветеринарная вирусология, М. «Колос».-1984.- С.107-111.
9. Panigrahy, V. Experimental and serologic observations on avian pneumovirus (APV/ turkey /Colorado/97) infection in turkey /B.Panigrahy, D.A. Senne, J.C.Pedersen // Avian Dis.-2000.-V.44.- P.17-22.

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИРОВАННОГО ТЕЧЕНИЯ МЕТАПНЕВМОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Ивлева О.В., аспирант sauce1908@gmail.com,
Наливайко Л.И., д.вет.н.

Аннотация. В статье приведены данные эпизоотологического мониторинга, который был проведен у индюков кросса «Биг-6» в возрасте 170 суток и цыплят яичного направления кросса

«Хайсек белый» 7-дневного возраста в двух частных хозяйствах Харьковской области, при котором было установлено ассоциативный ход метапневмовирусной инфекции с патогенной бактериальной микрофлорой (*E. coli* и стафилококк). Наличие метапневмовируса у больных индеек было подтверждено серологическими исследованиями - иммуноферментным анализом (ИФА) и индикацией его РНК-гена в патологическом материале цыплят с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Ключевые слова: индюки, цыплята, эпизоотологические, серологические и вирусологические исследования, метапневмовирусная инфекция, коллибактериальная инфекция, клинические признаки.

STUDY OF ASSOCIATED CURRENT OF AVIAN METAPNEUMOVIRUS INFECTION IN POULTRY

Ivleva O. V., post-graduate student sauce1908@gmail.com

Nalyvaiko L. I., Doctor of veterinary science

Lugansk NAU, Kharkiv

Summary. The economic reforms in Ukraine have not passed by the poultry breeding on the personal plots and farms, where nowadays more than 80% of the poultry production is manufactured. The high concentration level of the bird population results in microbial contamination raising both in manufacture premises and in the territory around them, extends the potential hazard as to lots of infections due to opportunistic microflora. The potential conditions for the development simultaneously the bacterial and viral diseases evolve from this, besides the sensitivity dynamics on age, clinical signs and character as to pathologic -morphologic changes can vary.

According to the data of the scientific publications, newly the particular threat for poultry pose the reoviral and metapneumovirus infections, mycoplasmosis, and colibacteriosis both singly and in association. The behavior of the latter is often observed as a secondary infection, resulting in the complications of diseases symptoms.

In the locations of Kharkiv region on the private poultry-farms during the clinical examination of poultry the sick birds were detected. In the turkey cross "Big 6" of 170 days age, we detected depression, drowse, head edema, intermaxillary area and suborbital sinuses, heavy breathing and running mucilage from the beak. Autopsy of dead birds stated fibrin gathering on the trachea mucous lining, enlarged liver, spleen and kidney mass, their hyperemia and flabbiness. Besides, it stated bilateral pneumonia with presence of fibrin and hemorrhagic enteritis. Analogical changes were detected in chicks of 6-7 days age cross "White Highsex", which were brought to the private farm from Hungary.

During bacteriological study *E. coli* (cep. O78) and staphylococcus were isolated from chicks.

25 samples of the turkey blood serum were studied with ELISA method and 100% of positive reaction as to metapneumovirus infection with antibodies titre from 3000 and more were detected.

The sensitivity of isolated cultures was studied with the use of commercial paper discs sodden with medical preparations. 14 discs were used (gentamicin, oxytetracycline, floron, florfenicol, colistin, enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, tiamulin, tilmikozin, tylosin, lincomycin, doxycycline, amoxicillin). It was stated, that isolated cultures were little sensitive to phlorone (lysis zone 15 mm), and not sensitive to other preparations.

For conducting virology research, 9-days chick embryos were infected with the suspension of chick organs (liver, lungs, heart, kidneys). Embryos were free from specific antibodies to viral infections on standard methods CAM, where after 7-days incubation with PCR the RNA genome of metapneumovirus was indicated.

For MPV isolation 2 passages on the 7-days quail embryos were conducted. During the reproduction of the virus, we studied alterations in the embryos and on the CAM. It was stated hyperemia of the embryos' bodies, hemorrhagia occipitalis, heart hyperemia, liver mass increasing and paling, injection of blood vessels CAM.

For the study of biological properties of the isolate the fibroblasts of the quail 7-days embryos were used. The infectious titre of the virus was 2,5 lg EID₅₀/cm³.

Therefore, based on conducted epizootic monitoring we are able to make preliminary finding: in the private poultry farms of different districts of Kharkiv region, there is metapneumoviral incidence in association with coli infection and coccal flora in turkeys and chicks. This is an evidence of the antibodies presence as to the metapneumovirus infection in the diagnostic titres, its isolation from the sick poultry and virus genome indication with the PCR method.

Key words: turkeys, chickens, epizootic, serological and virological studies, metapneumovirus infection, colibacterial infection, clinical signs.