

**TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF MIXED FORMS OF INFECTIOUS DIARRHEAS OF NEWBORN PIGLETS**

**Spiridonov G.N., Makhmutov A.F.**

FSU "Federal Centre of Toxicological and Radiation Safety of Animals", Kazan

*Hyperimmune serum against rota-, coronavirus gastroenteritis and Escherichia coli diarrhea of pigs is received. Its treatment and prophylactic properties on laboratory animals and newborn piglets are studied. Treatment and prophylactic efficiency of serum is confirmed in the conditions of an economy, permanently-unsuccessful on infectious diarrheas of piglets.*

УДК 619:616.98:579.887.111:636.598

**ПЕРВЫЙ СЛУЧАЙ ВЫЯВЛЕНИЯ MYCOPLASMA SP. 1220 У ГУСЕЙ НА УКРАИНЕ**

**Спрыгин А.В.<sup>1</sup>, Волохов Д.<sup>2</sup>, Андрейчук Д.Б.<sup>1</sup>, Ирза В.Н.<sup>1</sup>, Дрыгин В.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Федеральный центр охраны здоровья животных, г. Владимир

<sup>2</sup>Division of Viral Products, Center for Biologics Evaluation and Research, U.S. Food and Drug Administration, Maryland 20852, USA

Микоплазмы гусей впервые были выделены Kosovac & Djurić (1970). Позднее Stipkovits et al. (1975) экспериментально показали потенциальную этиологическую роль апатогенных *Acholeplasma laidlawii*, *Acholeplasma axanthum* и *Mycoplasma gallinarum* в развитии патологических признаков у гусей и гусиных эмбрионов. Ранее предполагалось, что сальпингит, эмбриональная смертность, а также воспаление фаллоса у гусей может быть обусловлено микотоксинами, присутствующими в кормах. Однако на основе эпизоотологических и экспериментальных исследований Szép et al. (1974) и Pataky (1974) пришли к заключению, что этиология данного заболевания носит инфекционный характер и возможно вызвана микроорганизмами рода *Neisseria* или *Candida*. Сходные клинические признаки у гусей регистрировали в Израиле [Beemer et al., 1973] и СССР – [Nalivaiko, 1983], однако этиология в большинстве случаев не была изучена полностью. Позднее в Венгрии был выделен новый инфекционный агент рода *Mycoplasma*, который был обозначен как *Mycoplasma* sp. 1220, от гусака с признаками воспаления фаллоса [Zs. Varga, 1994]. Подробное изучение биохимических и серологических свойств данной микоплазмы [Zs. Varga, 1997] позволило сделать вывод, что данный микроорганизм представляет собой новый вид микоплазмы гусей, которая впоследствии получила предварительное видовое название *Mycoplasma anserisalpingitis* [персональное сообщение D.V. Volokhov и L. Stipkovits, 2010]. Так как видовое название данному микроорганизму, *Mycoplasma* sp. 1220, еще не присвоено официально, в нашем исследовании мы обозначаем данный вид как *Mycoplasma* sp. 1220.

**Цель работы.** Выявление *Mycoplasma* sp. 1220 у гусей на Украине с признаками воспаления фаллоса и клоаки, а также анализ предложений по улучшению состояния здоровья гусаков перед началом репродуктивного периода.

**Материалы и методы.** В 2010 г. в лабораторию диагностики болезней птиц ФГУ ВНИИЗЖ поступили пробы гортанных (7 шт.) и клоакальных (6 шт.) от гусаков и гусынь с признаками воспаления клоаки и фаллоса из гусеводческого комплекса на Украине. Образцы помещали в криопробирки и хранили при температуре –70 °С. Методом ПЦР тестировали образцы смывов на наличие *M. gallisepticum* и *M. synoviae* согласно ранее описанному методу (Sprugin et al., 2010). Сыворотки крови ранее тестировали на хозяйстве на наличие антител против вирусов гриппа и болезни Ньюкасла.

Выделение суммарной ДНК из образцов проводили набором для выделения ДНК-сорб (АмплиСенс, г. Москва, Россия) согласно инструкции изготовителя. Генетическое обнаружение и идентификацию *Mycoplasma* sp. 1220 в пробах патологического материала проводили методом однораундовой ПЦР с использованием пар праймеров, разработанных авторами, на фрагмент гена бета субъединицы ДНК-зависимой РНК-полимеразы (*groB*), на основании нуклеотидной последовательности данного гена для *Mycoplasma* sp. 1220, изолированной ранее в Венгрии и доступной в базе данных GenBank под номером EU596576.

Анализ продуктов ПЦР проводили в 1 % агарозном геле с бромистым этидием и при наличии продукта ПЦР ожидаемой длины (532 п.н.) результат считали положительным. Все положительные образцы использовали для секвенирования с использованием соответствующих праймеров. Очищенные ПЦР фрагменты вышеуказанных генов секвенировали на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, USA). Полученные последовательности сравнивали с референтными последовательностями *Mycoplasma* sp. 1220 из базы данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы ClustalW, затем проводили построение филогенетических дендрограмм с помощью алгоритма «minimum-evolution» со значением бутстрэп-параметра в 1000 повторов (MEGA 4).

**Результаты исследований.** В 2010 было исследовано 13 смывов от гусей с клиническими признаками воспаления кишечника и фаллоса. Результаты ПЦР выявили наличие генетического материала *Mycoplasma* sp.1220 в 6 клоакальных пробах и в 3 из 7 трахеальных пробах. Микроорганизмы рода *Pasteurella* и *Salmonella*, а также антитела к вирусам гриппа птиц ранее на данном хозяйстве не детектировались. Секвенирование изолята *Mycoplasma* sp. 1220 показало 99 % идентичности с последовательностями из базы данных GenBank. В настоящее время *Mycoplasma* sp. 1220 является малоизученным микроорганизмом, что затрудняет разработку методов борьбы с данной инфекцией. Однако опыт венгерских исследователей показывает, что эта микоплазма является факультативным паразитом, и основную роль в развитии данного заболевания играют стрессорирующие факторы, такие как переуплотнение поголовья, повышенная нагрузка на гусаков, отсутствие водоема на ферме (персональное сообщение Zs.Varga, 2010). Некоторое время назад исследуемое хозяйство в Украине было благополучно по всем заболеваниям. Однако после завоза нового поголовья гусят на птицекомплексе стали выявляться воспаления фаллоса у гусаков и редкие случаи клоацита у гусынь, повышенная неоплодотворяемость эмбрионов и выбраковки самцов из-за воспалительных процессов в половом органе, которые больше не могли выполнять свою репродуктивную функцию. Выживаемость гусят при этом снижалась на 20-25 %. Как выяснилось впоследствии хозяйство, в котором были приобретены гусята, оказалось неблагополучным по инфекционным заболеваниям неустановленной этиологии с аналогичными клиническими признаками. Антибиотикотерапия против нейсерииоза после завоза гусят была неэффективна в данном случае, однако при использовании антибиотиков фторхинолонового ряда для лечения гусей смертность эмбрионов снизилась, повысилась оплодотворяемость и воспалительные процессы частично купировались. В настоящее время в исследуемом хозяйстве практикуют искусственное осеменение, поскольку при естественном спаривании острый воспалительный процесс в фаллосе гусаков развивался за 1-2 дня после того, как их допускали к самкам. К сожалению, в настоящее время отсутствуют какие-либо опубликованные данные о механизмах и путях передачи инфекции вызываемой *Mycoplasma* sp. 1220. Однако, др. L. Stipkovits

из Венгрии, впервые описавший данный вид микоплазмы, считает что передача данного возбудителя может происходить во время спаривания гусей (персональное сообщение). Более того, Dobos-Kovacs et al. (2009) показали, что патогенная микоплазма гусей *Mycoplasma* sp. 1220 является причиной снижения выводимости гусят и воспалительных процессов у гусей.

**Выводы и перспективы дальнейших исследований.** В данном исследовании впервые описывается случай выявления *Mycoplasma* sp. 1220 у гусей в Украине с клиническими признаками воспаления фаллоса и клоаки. Благодаря применению антибиотикотерапии и переходу на искусственное осеменение, заболеваемость среди гусаков удалось снизить, а оплодотворенность яиц и выводимость гусят начала достигать прежнего уровня. Для более подробного изучения данного вида микоплазмы необходимо провести исследование на большем количестве образцов клинического материала, определить вирулентные свойства и антибиотикорезистентность локальных изолятов *Mycoplasma* sp. 1220. Данные исследования позволяют разработать новые подходы к лечению и профилактике этого заболевания у гусей.

*Список литературы*

1. Наливайко, Л. (1983). A disease of the genital organs of geese (caused by species of Neisseria). Veterinaria Moscow 10: 60-61.
2. Beemer, A.M., Kuttin, E.S. and Katz, Z. (1973). Epidemic venereal disease due to *Candida albicans* in geese in Israel. Avian Diseases, 17: 639-64.
3. Dobos-Kovacs Mihály, Varga Zsuzsanna, Czifra, György and Stipkovits, László 'Salpingitis in geese associated with *Mycoplasma* sp. strain 1220. // Avian Pathology. – 2009. – v. 38: 3. – P. 239-243.
4. Kosovac, A., Djuricic, S. (1970). Diseases of the female genital tract of geese and mycoplasmosis. // In Proceedings of the IVth International Congress of the World Veterinary Poultry Association. – Belgrade, Yugoslavia. – P. 429-440.
5. Pataky, M. An infectious inflammatory disease of cloaca and penis in geese (goose gonorrhoea) II. Properties of the causal agent and infection experiments. // Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae. -1974.- v.24. – p. 355-359.
6. Szep, I., Pataky, M. and Nagy, Gy. An infectious inflammatory disease of cloaca and penis in geese (goose gonorrhoea) I. Epizootological, clinical, pathological observations and control. // Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae. – 1974. – v.24. – P. 347-354.
7. Sprygin, A.V., Andreychuk, D.B., Kolotilov, A.N., Volkov, M.S., Runina, I.A., Mudrak, N.S., et al. Development of a duplex real-time Taqman PCR assay with internal control for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in clinical samples from commercial and backyard poultry. // Avian Pathology. – 2010. – v.39. – P. 99-109.
8. Stipkovits, L., El-Ebeedy, A.A., Kisary, J. & Varga, L. *Mycoplasma* infection of geese. I. Incidence of mycoplasmas and acholeplasmas in geese. // Avian Pathology. – 1975. – v. 4. – P. 35-43.
9. Varga, Zs. Study of goose mycoplasma strains. // Candidate's dissertation of Hungarian Academy of Sciences. – 1997. – HAS 1051 Budapest, Hungary.

**DETECTION OF MYCOPLASMA SP. 1220 IN DOMESTIC GEESSE IN UKRAINE**

**Sprygin A.V.<sup>1</sup>, Volokhov D.V.<sup>2</sup>, Andreychuk D.B.<sup>1</sup>, Irza V.N.<sup>1</sup>, Drygin V.V.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Federal Center for Animal Health, Vladimir,

<sup>2</sup>CBER, US FDA, MD 20852, USA

*Specimens as palatine cleft and cloacae swabs from farm-raised geese with clinical presentation of inflammation of phallus and cloacae were obtained for this study. These geese were from a farm with a history of increased infertility and low hatchability that could decrease by 20-25%. In chickens, similar clinical signs could be due to *M. gallisepticum*. The specimens tested were negative for *M. gallisepticum* and *M. synoviae* in a PCR using species-specific primers. Antibiotic therapy against *Neisseria* spp. was unsuccessful. Previously, *Mycoplasma* sp. 1220 was reported to be associated with increased embryo mortality, peritonitis, and salpingitis in geese (Dobos-Kovacs M. et al., 2009). Specific PCR for these specimens using primers targeting the RNA polymerase beta subunit (GenBank: EU596576) of *Mycoplasma* sp. 1220 resulted in positive amplification. The amplicons were directly sequenced (GenBank: HQ534366) and BLAST analysis revealed 99% of sequence similarity to the *rpoB* sequences of *Mycoplasma* sp. 1220 strains isolated from geese in Hungary. This study is the first report of the detection of *Mycoplasma* sp. 1220 in geese in Ukraine.*

УДК 619:578.832.1:636.5

**НАУКОВИЙ СУПРОВІД СИСТЕМИ ЕПІЗООТОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ВИСОКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ В УКРАЇНІ**

**Стегній Б.Т., Бісюк І.Ю.,\* Музика Д.В., \*\*Головко А.М.**

\*Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України, м. Київ,

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

\*\*Державний науково-контрольний інститут біотехнології штамів і мікроорганізмів, м. Київ

Епізоотична ситуація в світі щодо грипу птиці залишається складною. За даними Міжнародного епізоотичного бюро вже на початку 2011 року спалахи високопатогенного грипу птиці (H5N1) зареєстровано в 12 країнах Південно-Східної Азії та Близького Сходу (Бангладеш, Камбоджа, Єгипет, Гонконг, Індонезія, Індія, Ізраїль, Японія, Корея, М'янма, Палестинська Автономія, В'єтнам) серед сільськогосподарської птиці промислових та присадибних господарств, а також диких птахів. Загальна кількість ураженої свійської птиці становить понад 4 млн. голів, збудника грипу виявлено у 76 диких птахів різних видів, переважно водоплавних. Хоча загальна кількість спалахів та країн, де реєструється захворювання на високопатогенний грип птиці зменшилося у порівнянні з минулими роками, та це не привід для оптимістичних прогнозів. У деяких регіонах, перш за все це країни Південно-Східної Азії (Індонезія, Камбоджа, В'єтнам), а також Близького Сходу (Єгипет) сформувалися ендемічні осередки цього збудника, що дуже небезпечно в контексті подальшого поширення збудника. Україна на сьогоднішній день благополучна щодо високопатогенного грипу птиці, в останнє це захворювання було зафіксовано в 2008 року в АР Крим [1, 2, 4, 5].

Епізоотична ситуація, що склалася у світі потребує постійного моніторингу, а також підготовки до можливих ускладнень. В нашій державі ці питання контролює Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України, Державний науково-дослідний інститут лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи з мережею регіональних лабораторій. Науковий супровід даної проблеми забезпечує провідна установа в галузі ветеринарної медицини – Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» з Референс-лабораторією з грипу птиці.

Головним завданням на сьогодні для державної ветеринарної служби та науковців є недопущення заносу збудника високопатогенного грипу птиці на територію України, постійний епізоотологічний моніторинг сільськогосподарських та диких птахів.