

Однак, зразок №1 (ДНК від карели) також виявився негативним. З цим зразком ДНК проведено РЧ-ПЛР, специфічну *S. resorum*, але результат також виявився негативним. Таким чином, незважаючи на клінічні та патологоанатомічні ознаки, характерні для псітакозу, у карели діагноз на хламідіоз спростовано.

Позитивний результат, отриманий з 8 зразками (№2-11) в гніздовому варіанті ПЛР, засвідчив, що *C. psittaci*-специфічна РЧ-ПЛР, запропонована А. Pantchev et al. [5], виявилася неспецифічною з українськими ізолятами. При дослідженні 8 позитивних зразків жоден не був позитивним в цій реакції, хоча внутрішній контроль реакції та позитивний контрольний зразок (референтний штам DC45) були позитивними. Отриманий результат може бути обумовлений варіабельністю послідовності гену *ompA* українських ізолятів *C. psittaci*, тому праймери, використані в РЧ-ПЛР, виявилися неспецифічними. Для підтвердження цього припущення в подальшому буде секвенований відповідний локус гену *ompA*, який був мішенню в РЧ-ПЛР.

Висновки. 1. Діагноз хламідіозу птиці, оснований на клінічних ознаках, підтверджено за допомогою ПЛР у чотирьох з п'яти декоративних голубів, двох з трьох міських голубів, сірої ворони та хвилястого папуги. У всієї птиці хламідіоз зумовлений збудником *Chlamydophila psittaci*.

2. Наявність клінічних ознак, характерних для хламідіозу, не є фактором, що підтверджує діагноз хламідіозу птиці навіть в особливо сприйнятливих видів птиці, якими є папуги.

3. Варіант нової РЧ-ПЛР тест-системи для видової ідентифікації *Chlamydophila psittaci*, запропонований А. Pantchev et al. [5], при дослідженні українських ізолятів виявив серйозні недоліки в специфічності, у зв'язку з чим не може бути використаний для діагностики хламідіозу птиці в Україні.

4. Наявність у міських голубів та сірої ворони, клінічні ознаки хламідіозу у яких були відсутніми, зоонозного збудника *Chlamydophila psittaci* свідчить про його циркуляцію в популяції синантропної птиці м. Полтава, що становить загрозу здоров'ю людей.

Перспективи подальших досліджень. За результатами проведених досліджень актуальним постає питання проведення моніторингу хламідіозу птиці в популяції синантропної птиці міст України та оцінка ризиків захворювання людей псітакозом.

Вимагає вдосконалення ПЛР в реальному часі для видової ідентифікації *C. psittaci* та з'ясування природи негативних реакцій українських ізолятів цього збудника, яка може полягати у варіабельності *C. psittaci*-специфічного локусу гену *ompA*.

Список літератури

1. World organisation for animal health (OIE). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.1. Avian Chlamydiosis. – 2010. – P.431-442.
2. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections / K. Sachse, E. Vretou, M. Livingstone et al. // Vet Microbiol. – 2009. – 135(1-2). – P. 2-21.
3. Detection and differentiation of *Chlamydiae* by nested PCR / K. Sachse, H. Hotzel // Sachse K., Frey J. PCR detection of microbial pathogens: methods and protocols. Methods in molecular biology. – Totowa: Humana Press, 2003. – Vol.216. – P. 123-136.
4. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies / R. Ehrlich, P. Slickers, S. Goellner et al. // Mol. Cell. Probes. – 2006. – 20. – P. 60-63.
5. New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila abortus* from tissue samples / A. Pantchev, R. Sting, R. Bauerfeind, et al. // Vet. J. – 2009. – 181(2). – P. 145-150.
6. Detection of all *Chlamydophila* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays / A. Pantchev, R. Sting, R. Bauerfeind, et al. // Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. – 2010. – 33(6). – P. 473-484.
7. Ксьонз, І. М. Визначення специфічності тест-системи для індикації ДНК представників родини *Chlamydiaceae* у полімеразній ланцюговій реакції / І. М. Ксьонз // Науковий Вісник ЛНУВМБТ ім. С. Г. Гжицького. – 2009. – Том. 11, № 2 (41) Част. 1. – С. 146-149.

SPECIES IDENTIFICATION OF ETIOLOGICAL AGENTS OF CHLAMYDIOSIS IN SYNANTHROPIC AND PET BIRDS BY NESTED AND REAL-TIME PCR

Skrypnik A.V.¹, Ksyonz I.M.², Skrypnik V.G.¹, Deryabin O.M.¹, Sachse K.³

¹ Institute of Veterinary Medicine of NAAS of Ukraine, Kyiv,

² The Poltava Experimental Department of IVM UAAS, Poltava,

³ OIE Reference Laboratory for Chlamydial Infections of Birds and Sheep, National Reference Laboratory for Psittacosis of Germany, Friedrich-Loeffler-Institute, Jena, Germany

Article presents the results of study of pet birds with clinical signs of chlamydiosis as well as synanthropic birds without such signs using real-time PCR and nested PCR. It was shown that both pet and synanthropic birds had zoonotic etiological agent *Chlamydophila psittaci* that suggests the spread of chlamydiosis in the population of synanthropic birds.

УДК 619:616.98:578.822.2:636.5

ВІРУСНИЙ ЕНТЕРИТ ГУСЕЙ (ХВОРОБА ДЕРЖИ)

Стегній Б.Т., Бреславець В.О., Драгуть С.С.

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

Гусівництво – надзвичайно вигідна галузь птахівництва, оскільки від неї отримують цінні продукти при порівняно незначних витратах кормів, зокрема, концентрованих. В останні роки в Україні намітилась тенденція розвитку галузі, проте цьому процесу серед інших причин заважають інфекційні захворювання. Часто реєструють при моноінфекціях або ускладненнях змішані, асоційовані інфекції – аденовірусну, коронавірусну, вірусний ентерит, сальмонельоз, аспергильоз, колібактеріоз, кокцидіоз, пастерельоз, мікоплазмоз.

В усіх континентах світу, де розвинуто гусівництво, найбільш поширеною є висококонтагіозна хвороба гусей та мускусних качок – вірусний ентерит гусей або хвороба Держи (*Enteritis viralis anserculorum*, вірусний ентерит гусенят, вірусна хвороба гусей, язвений некротичний ентерит гусей, чума гусей, грип гусей, інфлюєнца гусей, гепатоентерит, гепатоентерит-асцит). У 1973 році вона була названа на честь угорського професора Держи, який всесторонньо її вивчав.

Хвороба завдає найзначніших збитків розвитку продуктивного гусівництва за рахунок загибелі 1-30-добового молодняка від 30 до 90 % та зниження продуктивності різновікової птиці (зниження живої маси та якості м'яса, високий рівень летальності) та фінансових витрат щодо її ліквідації. При зверхгострому перебігу птиця гине протягом декількох годин без прояву клінічних

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

ознак. Підгострий перебіг у гусенят реєструють у 15-22-добовому віці з ознаками відставання в рості та розвитку. Крім того, встановлюють діарею. У 70-80 % випадків відмічають одужання молодняка. Імунітет у перехворівших гусенят утримується протягом 5-8 місяців, зі збереженням вірусносійства впродовж 3-4 років. Імунізовані гуски передають потомству пасивний імунітет, який захищає молодняк від захворювання тільки перші 3-4 тижні життя.

Шляхи передачі вірусу – аліментарний, аерогенний, контактний, через пошкоджену шкіру, але основний – трансваріальний; виявляють підвищений відхід ембріонів під час інкубації та масову загибель виведених гусенят. Джерело інфекції – дорослі гуси-вірусносії та хворі і загиблі гусенята. Фактори передачі – вода, корма, інші об'єкти довкілля. У природних умовах мускусні та дикі качки хворіють до 8-тижневого, гусенята – до 6-місячного віку.

Розвиток та симптоми хвороби залежать від віку птиці та її імунологічного стану. У 1-7-добових гусенят інкубаційний період триває біля 5 днів, у 8-30-добового молодняка – 10 днів. У каченят з низьким рівнем материнських антитіл хворобу діагностують у віці старше 3 тижнів.

При появі хвороби в господарстві, заражуються гусенята 5-21-добового віку з загибеллю 90-100 %. У разі повторних спалахів або в стаціонарно неблагополучних господарствах, вірусний ентерит діагностують і у двомісячних гусенят. Відхід молодняка протягом чотирьох років вирощування знижується до 20-30 %, потім знову може підвищитися до 50-70 %. У дорослих гусей перебіг хвороби безсимптомний. У крупних господарствах з безперервним циклом виробництва поява хвороби не пов'язана з сезоном року; у невеликих господарствах її реєструють зазвичай у березні-квітні.

Вірусний ентерит характеризується враженням шлунково-кишкового тракту, печінки, серця, підшлункової залози й інших паренхіматозних органів, утрудненням дихання, кон'юнктивітами, порушенням координації руху, прогресуючим схудненням та загибеллю до 100 % молодняка. Проте клінічні симптоми і патологоанатомічні зміни, які залежать від вірулентності, тропізму, інших особливостей циркулюючого в господарстві вірусу, характеру перебігу хвороби, ускладнення її різною мікрофлорою, можуть не чітко проявлятися або відрізнятися.

При розтині загиблих гусенят відмічають катаральний, катарально-геморагічний або фібринозний ентерит; серозний або серозно-фібринозний перитоніт; катаральний риніт, гіперемію й набряк легенів; гіперплазію селезінки; асцит, з накопиченням в черевній порожнині серозної або драгливистої рідини; випадіння пуху.

Збудником хвороби є стійкий у довкіллі парвовірус, який локалізується у внутрішніх органах та в кишковому вмісті, культивується в гусячих ембріонах і первиннотрипсинізованих культурах клітин гусячих фібробластів, викликаючи, відповідно, патологоанатомічні зміни та загибель перших і дегенерацію моносолю останніх. Він містить одноланцюгову лінійну ДНК, яка включає 5106 нуклеотидів, з молекулярною щільністю 1,38 г/см³. Простоорганізований, епітеліотропний вірус роду *Parvovirus* родини *Parvoviridae* діаметром 18-26 нм – один із найдрібніших вірусів птиці; не містить ліпідів, вуглеводів та ферментів; не аглютинуює еритроцити тварин. Присутні у віріонах білкові комплекси індують напруцювання преципітуючих і віруснейтралізуючих антитіл.

Парвовірус стійкий до дії ефіру, хлороформу, дезоксихолату й доцифілсульфату натрію, гідрооксиламіну та 0,25 % розчину фенолу. Формальдегід у концентрації від 0,5 % до 1 % інактивує його протягом 15 хвилин. Вірус не втрачає своєї активності при нагріванні за температури 56 °С протягом 3 годин, за температури 70 °С – впродовж 10 хвилин, а також у кислому середовищі при рН 3,0.

Патогенез хвороби не вивчений. Відомо, що вірус репродукується в епітеліальних клітинах шлунково-кишкового тракту з наступним їх лізисом.

Діагноз ставлять комплексно, з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак хвороби, патологоанатомічних змін і результатів лабораторних досліджень (вірусовиділення та ідентифікація); підтверджують такими молекулярними методами, як ПЛР, RFLP-аналіз. З патматеріалу від загиблих та примусово забитих гусенят вірус виділяють у гусячих ембріонах; титрують на гусячих фібробластах та ідентифікують за допомоги реакцій нейтралізації (РН), непрямой гемаглютинації (РНГА), ІФА [1]. Диференційну діагностику проводять щодо сальмонельозу, колібактеріозу та пастерельозу. У разі встановлення діагнозу на вірусний ентерит вживають заходи згідно інструкції щодо його профілактики та боротьби [2, 3].

Утримання різновікової птиці в одному приміщенні, антисанітарні умови, підвищена вологість, а також порушення технології вирощування, годівлі птиці, вторинні інфекції (колібактеріоз, аденовірусна інфекція, та інші) часто бувають сприятливими або основними причинами захворювання, оскільки організм птиці послаблюється, що сприяє розвитку хвороби [4].

У ряді країн Європи (Росія, Угорщина, Франція, та інші) для активної імунізації розроблені живі та інактивовані вакцини. У птахогосподарствах України широко використовують живі атенуйовані культуральні вірусвакцини із апатогенних для гусячих ембріонів та гусенят штамів [5-13]. Для імунізації гусей батьківського стада застосовують їх дворазово за 40-50 днів до початку яйценоскості з інтервалом 20-25 днів. Імунітет формується на 14-21-й день після другої імунізації. Віруснейтралізуючі антитіла передаються трансваріально. Гусенят, отриманих від невакцинованих гусинь, імунізують у 1-2-добовому віці. Імунітет у них формується через 10-14 днів і зберігається 2-3 місяці.

Ефективні лікувальні та профілактичні якості мають сироватка або цитратна кров, отримані від перехворівших гусенят або гусей-реконвалесцентів, яку вводять 1-5-добовим гусенятам дворазово з інтервалом 2-3 дні. Проте в системі заходів щодо попередження та ліквідації вірусного ентериту в птахогосподарствах поряд з обов'язковим дотриманням усіх ветеринарно-санітарних і зоогігієнічних вимог основна роль відведена вакцинопрофілактиці. Але застосування живих вакцин, як вітчизняних, так й імпортованих виробництва не призвело в Україні до стабілізації епізоотичної ситуації щодо цієї хвороби [14].

У 2010 році в ВНДВІП (Росія, Санкт-Петербург) створена інактивована вакцина, призначена для специфічної профілактики хвороби в стаціонарно неблагополучних гусівничих комплексах та фермерських господарствах. Розроблені як сорбована, так і емульсійна її форми. Обидві мають високу антигенність та імуногенну активність. Однак, емульсійна вакцина за імунологічними показниками та тривалістю імунітету є більш перспективною [15].

Виходячи з вищевикладеного, виникає нагальна необхідність створення вітчизняної інактивованої вакцини, яка б забезпечила порівняно з живими вакцинами підвищення ефективності щодо специфічної профілактики, нешкідливості, антигенної активності, тривалості зберігання та технологічності препарату, як результат цього – підвищення виводимості та збереженості гусенят.

Таким чином, питання вивчення епізоотологічних даних, патогенезу, виявлення збудника вірусного ентериту та особливостей його циркуляції в птахогосподарствах України, ізоляція нових епізоотичних штамів та вивчення їх біологічних, молекулярно-генетичних властивостей, створення ефективних засобів диференційної діагностики та специфічної профілактики

є актуальними. При цьому виникає необхідність не тільки розробити вакцинний препарат, а й підтримувати протягом тривалого часу імунний стан у стаді при певних умовах (кратність, метод введення, доза), не ускладнюючих проведення поствакцинальної діагностики. Вивчення біологічних та молекулярно-генетичних властивостей музейного епізоотичного штаму «В-ІЕКВМ» вірусу ентериту гусей, виділеного у 1998 році з патматеріалу від гусенят, дасть можливість створити інактивовану емульсійну вакцину, яка відповідала б усім необхідним вимогам за показниками згідно її призначення.

Список літератури

1. Коровин, Р.Н. Лабораторная диагностика болезней птиц: Справочник [Текст]// Р.Н. Коровин, В.П. Зеленский, Г.А. Грошева // М.: Агропромиздат, 1989. – 256 с. 2. Інструкція про заходи з профілактики та боротьби з вірусним ентеритом гусей [Текст]. – 2002 – 7 с. 3. Сетевой ресурс [http://newmouse.1gb.ru/gees]. 4. Бессарабов, Б.Ф. Инфекционные болезни животных [Текст]/Б.Ф. Бессарабов, Е.С. Воронин и др.; Под ред. А.А. Сидорчука. – М.: Колос, 2007. – 671 с. 5. Патент Росії № 2118539 від 10.09.1998. 6. Белецкая, А.В. Разработка и испытание вакцины против вирусного энтерита гусей [Текст] / А.В. Белецкая и др.// Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб./ІП УААН. – Харків, 2003. – Вип. 53. – С. 520-525. 7. Суворов, А.В. Усовершенствование диагностики и изучение биологических свойств аттенуированных штаммов парвовируса для обоснования использования одного из них в качестве вакцины против ВЭГ [Текст]: автореф. дис...канд. вет. наук: 16.00.03/А.В. Суворов, ИЭКВМ. – Х., 2002. – 21 с. 8. Трефилов, Б.Б. Разработка и внедрение средств диагностики и специфической профилактики наиболее опасных болезней птиц [Текст]: дис...докт. вет. наук: 16.00.03/Трефилов Б.Б. – С.-Пб., 2000. – 371 с. 9. Фадин, В.С. Иммуногенные свойства гидроокисьюалюминиевой формолвакцины против вирусного энтерита гусей [Текст] / В.С. Фадин // Профилактика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: Сб. науч. трудов. – Омск, 1988. – С. 106-112. 10. Hansen, H.C. Derzy's disease (parvovirusinfection has gas.) [Text] / H.C. Hansen// Dansk Erhvervsfjerkræ / 1979. – H. 8, № 24. – P. 423-425. 11. Snoflak, Jana Vakcina proti virovemu onemoceneni housat (Derzsyho chorobe) [Text] / J. Snoflak, H. Vachova // Veterinarství. – 1982. - R. 32, № 1. – P. 33-35. 12. Трефилов, Б.Б. Вирусный энтерит гусей (диагностика и профилактика) [Текст]/Б.Б. Трефилов, А.О. Михайлов, Н.В. Никитина// Актуал. пробл. вет. мед.: науч.-практич. конгресс 24-25 августа. – С.-Пб., 2007 – С. 211-213. 13. Wozniakowski, G. Derzsy's Disease – Currently Still a Problem (Об актуальности проблемы, ассоциированной с вирусным энтеритом гусей) [Текст] / G. Wozniakowski, W. Kozdrusi, E. Samorek-Salamonowicz, K. Krol // Med. veter. – 2009. – Vol. 65, № 1. – P. 9-11. 14. Белецкая, А.В. Разработка схемы вакцинации гусей против вирусного энтерита с использованием инактивированной вакцины [Текст]/А.В. Белецкая, И.Ю. Безрукавая, П.С. Юрко, А.А. Шомин // Матер. XVI конф. ВНАП. – Сергиев Посад, 2009. – С. 336-337. 15. Михайлов, А.О. Иммунобиологические свойства инактивированной вакцины против вирусного энтерита гусей [Текст]: автореф. дис...канд. вет. наук: 16.00.03/А.О. Михайлов, ВНИВИП. – С.-Пб., 2010. – 22 с.

VIRAL ENTERITIS OF GEESE (DERZY'S DISEASE)

Stegniy B.T., Breslavets V.A., Dragut' S.S.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Epizootological data concerning the viral enteritis of geese are presented in the article. There are studied such problems as necessity of pathogenesis study, determination of circulation of VEG agent and its features in farms of Ukraine of different type with the purpose of creation of methodology of differential diagnosis and specific prophylaxis, development of native inactivated emulsive vaccine.

УДК 619:616.98:578.826.1:636.5

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДЕНОВИРУСОВ КУР ПЕРВОГО СЕРОТИПА, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ

¹Ткаченко С.В., ¹Стегний Б.Т., ¹Герилович А.П., ¹Музыка Д.В., ²Сметанка К.

¹Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

²Национальный ветеринарный исследовательский институт, г. Пулава, Польша

Авиаденовирусы кур – многочисленное, но сравнительно мало изученное семейство *Adenoviridae*. Сообщения об их изоляции поступают из многих стран всех континентов. В настоящее время представители этого семейства объединены в 12 серологических вариантов (FAV 1-12) [8]. Патогенность и этиологическая роль многих серотипов еще полностью не доказана, но известно, что некоторые серотипы являются возбудителями таких болезней, как СЕЛО-инфекция, гепатит с тельцами-включениями и синдром гидроперикардита [2, 3].

СЕЛО-инфекция характеризуется гибелью курных эмбрионов во время инкубации, а также цыплят в первые дни их жизни [1]. Гепатит с тельцами-включениями – инфекционное заболевание молодняка кур, которое характеризуется поражениями печени, почек и высокой смертностью (до 30% и выше). Возбудителем этого заболевания чаще являются аденовирусы серотипов FAV 5 и FAV 8 [5, 6, 7, 9]. Синдром гидроперикардита проявляется у кур разного возраста и характеризуется скоплением жидкости соломенного цвета в сердечной сумке, отеком легких, поражениями печени и почек, а в некоторых случаях – анемией, гангренозным дерматитом и высокой летальностью среди молодняка кур (до 80%) [4]. Это заболевание связывают с аденовирусом серотипа FAV 4.

Цель работы. Целью наших исследований была идентификация полевых изолятов аденовирусов, циркулирующих в птицеводствах Украины.

Материалы и методы. Исследования были проведены в лаборатории эпизоотологии болезней птиц на модели изолятов аденовирусов кур, выделенных в 2006-2007 годах в птицеводствах Украины.

Вирусологические и серологические исследования проводили согласно общепринятым методам.

Изоляцию суммарной ДНК проводили при помощи наборов для экстракции ДНК производства ФГУН ЦНИИЭ РосПотребНадзора (Российская Федерация) методом аффинной суспензионной сорбции.

Реакцию амплификации генов гексона вируса СЕЛО проводили при помощи базовых наборов К 6-1 производства ФГУН ЦНИИЭ РосПотребНадзора (Российская Федерация) и праймерных систем А 1-4 (индикация аденовирусов), 47/43 (индикация вируса СЕЛО) производства ФГУ ВНИИЗЖ (Российская Федерация). Специфический фрагмент родového участка составлял 500 п.н., гексон-ген вируса СЕЛО – 283 п.н. Электрофоретический анализ проводили при помощи набора для электрофореза производства фирмы АплиСенс (Москва, Российская Федерация). Концентрация агаразы в геле составляла 1,5 %, напряжение 120 В.

Наработанные фрагменты были очищены с помощью Rapid Gel Clean (Quiagen Extraction Kit (USA)). После очистки методом спектрофотометрии были вычислены концентрации продуктов реакции.

Для реакции химического секвенирования были использованы растворы продукта с концентрацией ДНК-ампликонов 20-30 мкг/мл.

Секвенирование фрагментов генов аденовирусов СЕЛО проводили методом химического секвенирования с использованием гомологичных праймеров и набора Big Dye Terminator (AbiPrism Ltd, USA).