

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. // Птаківництво: 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 onemocneni housat (Derzsyho chorobe) [Text] / J. Snoflak, H. Vachova // Veterinarstvi. – 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. Kozdruri, 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 GEES (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

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

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

<sup>2</sup>Национальный 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 куриных 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 ЦНИИЗ РосПотребНадзора (Российская Федерация) методом аффинной суспензионной сорбции.

Реакцию амплификации генов гексона вируса СЕЛО проводили при помощи базовых наборов К 6-1 производства ФГУН ЦНИИЗ РосПотребНадзора (Российская Федерация) и праймерных систем А 1-4 (индикация аденовирусов), 47/43 (индикация вируса СЕЛО) производства ФГУ ВНИИЗЖ (Российская Федерация). Специфический фрагмент родового 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 агарозы 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).

### Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Анализ продуктов химического секвенирования после очистки продуктов с помощью Seq DNA Purification Kit (AbiPrism Ltd, USA) был проведен на ДНК-анализаторе ABI 3100 (AbiPrism Ltd, USA).

Расшифровка хроматограмм, множественное выравнивание и построение филогенетического дерева по последовательностям гена F было проведено с помощью программ FASTA on-line и MEGA v 3.0.

**Результаты исследований.** Эпизоотическая ситуация в птицеводстве № 1 изучалась в связи с возникновением заболевания неизвестной этиологии, которое сопровождалось повышенным отходом молодняка. Клинически заболевание проявлялось у 10 % цыплят, и сопровождалась угнетением, отказом от корма и воды, у некоторых особей отмечали расстройства нервной системы и поражение респираторных органов. Смертность при этом не превышала 5 %. При патологоанатомическом вскрытии у павшей птицы отмечали поражение печени (изменение цвета до охряного с небольшими очагами некроза) (рис. 1).

У некоторых цыплят отмечали поражение воздухоносных мешков в виде серозного аэросаккулита и легких в виде пневмонии. При серологических исследованиях сыворотки крови, отобранной от больных цыплят, в реакции иммунодиффузии (РИД) средний титр антител со штаммом Celo составил  $3,7 \log_2$ . Для уточнения диагноза были проведены вирусологические исследования участков пораженной печени.



Рис. 1 Патологические изменения у птицы, инфицированной аденовирусом кур первого серотипа Landgut'07.

Было проведено 3 последовательных пассажа в куриных эмбрионах. Предварительную идентификацию проводили в реакциях иммунодиффузии и гемагглютинации. Экстраэмбриональная жидкость (ЭЭЖ) третьего пассажа реагировала с положительной к штамму Celo сывороткой в РИД в титре  $2 \log_2$ , а гомогенат печени инфицированных эмбрионов – в титре  $3 \log_2$ . Результаты реакции гемагглютинации (РГА) были отрицательными. Результаты исследования контрольных КЭ в РИД и РГА также были отрицательными (табл. 1).

Вирус вызывал гибель эмбрионов на 4 сутки после заражения. Погибшие эмбрионы имели меньший вес по сравнению с контрольными, на лапках эмбриона отмечали точечные кровоизлияния.

Эпизоотическая ситуация в птицеводстве № 2 изучалась в связи с повышенным отходом молодняка после его транспортировки. У большинства птицы отмечали расстройства со стороны респираторной системы: чихание и выделение из носовых раковин слизистого экссудата.

Заболеваемость птицы составила более 50 %, однако смертность была невысокой – до 3 %. При патологоанатомическом вскрытии наблюдали скопление слизистого экссудата в носовых ходах и наличие кровоизлияний на сердечной сумке у отдельных цыплят (рис. 2). При постановке РИД с сывороткой крови, отобранной от больной птицы, средний титр антител со штаммом Celo составил  $4,6 \log_2$ .

Таблица 1 – Предварительная идентификация выделенного изолята №1

Результаты серологических исследований зараженных КЭ			контроль <sup>3</sup>	
РИД с сывороткой, положительной к штамму Celo <sup>1</sup>	РИД с сывороткой, положительной к штамму Celo <sup>2</sup>	РГА	РИД	РГА
1:4	1:8	отриц.	отриц.	отриц.

**Примечание:** <sup>1</sup> – в качестве антигена – ЭЭЖ куриных эмбрионов; <sup>2</sup> – в качестве антигена – гомогенат печени инфицированных эмбрионов; <sup>3</sup> – контролем служили незараженные КЭ.

Заражение КЭ проводили 10 % суспензией гомогената печени на фосфатно-солевом буфере. Всего провели 3 последовательных слепых пассажа. Патологические изменения и гибель эмбрионов регистрировали на третьем пассаже на третьи сутки. Эмбрионы третьего пассажа имели скрюченный вид и значительно отставали в развитии, их масса была гораздо меньшей по сравнению с контрольными. Предварительную идентификацию проводили в реакциях иммунодиффузии и гемагглютинации. ЭЭЖ, отобранная от эмбрионов третьего пассажа, реагировала с положительной к штамму Celo сывороткой в РИД в титре  $3 \log_2$ . ЭЭЖ контрольных КЭ не реагировала в РИД и РГА (табл. 2).

Таблица 2 – Предварительная идентификация выделенного изолята №2

Результаты серологических исследований зараженных КЭ			контроль <sup>3</sup>	
РИД с сывороткой, положительной к штамму Celo <sup>1</sup>	РИД с сывороткой, положительной к штамму Celo <sup>2</sup>	РГА	РИД	РГА
1:8	н/и	отриц.	отриц.	отриц.

**Примечание:** н/и – не исследовали; <sup>1</sup> – в качестве антигена – ЭЭЖ куриных эмбрионов; <sup>2</sup> – в качестве антигена – гомогенат печени инфицированных эмбрионов; <sup>3</sup> – контролем служили незараженные КЭ.



Из дендрограммы следует, что выделенные изоляты входят в состав российской генетической группы. Обнаружение на территории Украины изолятов аденовируса кур первого серотипа, имеющих высокий процент гомологии с изолятами, выявленными на территории Российской Федерации, можно объяснить приобретением новых высокопродуктивных пород кур из-за границы и способностью вируса персистировать у птицы без каких-либо клинических признаков достаточно длительное время.

#### Выводы.

1. В 2006-2007 годах от кур из птицеводств двух областей Украины выделено 2 изолята: Langut'07 и Zarya'06. По результатам серологических и молекулярных исследований они отнесены к аденовирусам.

2. По результатам филогенетических исследований установлено родство изолятов аденовирусов кур с российской генотиповой группой вирусов типа Celo.

#### Список литературы:

1. Yates, V.J. Observation on a chicken embryo lethal orphan (CELO) virus [Text] / V.J. Yates, D.Y. Fry // Am J vet Res. 1957. – 18: – P. 657-660.
2. Бакулин, В.А. Патоморфогенез и дифференциальная диагностика болезни Гамборо, аденовирусной инфекции и других иммунодепрессивных болезней птиц [Текст] / В.А. Бакулин // Архив ветеринарных наук. Прил. к Т. 1 (48). – Санкт Петербург, Ломоносов, – 1998. – 322 с.
3. Фомина, Н.В. Аденовирусная инфекция животных [Текст] / Н.В. Фомина // М., «Колос», – 1995. – т.2, – 193 с.
4. Shane, S.M.. Hydropericardium-hepatitis syndrome (Angara disease) [Text] / S.M. Shane, M.S. Jaffery // In: Disease of poultry. 10<sup>th</sup> edition. Edited by B.W. Calnek. Iowa State University Press. Ames., Iowa, USA. – 1997. – P. 1019-1022.
5. Bains, B.S. Inclusion body hepatitis of chickens [Text] / B.S. Bains, A.R.A. Watson // N. Z. Vet. J. – 1977. – Vol. 25. – P. 352.
6. Green, A.F. Detection of four serotypes of avian adenovirus in New Zealand [Text] / A.F. Green, J.K. Clarke // Avian Dis. – 1976. – V. 20. – No. 2. – P. 236-241.
7. Hussain, B. Avian adenoviruses and reoviruses isolated from diseased chickens [Text] / B. Hussain, P.B. Spradbrow // Aust. Vet. J. – 1981. – V. 57. – No. 9. – P. 436-437.
8. Reece, R.L. An unusual case of inclusion body hepatitis in a cockerel [Text] / R.L. Reece, D.C. Grix, D.A. Barr // Avian Dis. – 1986. – V. 30. – No. 1. – P. 224-227.
9. Wells, R.J.H. Epidemic adenovirus inclusion body hepatitis of the chicken in Australia [Text] / R.J.H. Wells, H.A. Westbury, K.E. Harrigan, et al. // Australian Vet. J. – 1977. – V. 53. – No. 12. – P. 586-590.

#### MOLECULAR-AND-BIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF FOWL ADENOVIRUSES OF FIRST SEROTYPE ISOLATED ON THE TERRITORY OF UKRAINE

<sup>1</sup>Tkachenko S.V., <sup>1</sup>Stegniy B.T., <sup>1</sup>Gerilovich A.P., <sup>1</sup>Muzyka D.V., <sup>2</sup>Smetanka K.

<sup>1</sup>National Scientific Center Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkiv

<sup>2</sup>National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland

At the time of outbreaks of infectious diseases of unknown etiology in 2006-2007 years on poultry farms of Kharkov and Donetsk Regions from the fragments of internals has been discharged two isolates of virus of hen's adenovirus infection denoted accordingly Zarya'06 and Landgut'07. By the carrying out molecular-and-genetic investigations has been proved its belonging to Russian genogroup of Celo type viruses.

УДК 619:616.98:578.8:579.882.11:636.2

#### ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕНЕЗА И РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ СМЕШАННЫХ ИНФЕКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (ИНФЕКЦИОННЫЙ РИНОТРАХЕИТ, ВИРУСНАЯ ДИАРЕЯ, ХЛАМИДИОЗ)

Чечёткина Н.П., Павленко М.П., Соловьев С.Т., Явников Н.В., Данилова И.С., Осипова А.Г., Рибас О.В.

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

С начала 90-х годов XX столетия в Украине отмечали обострение эпизоотической ситуации по смешанным заболеваниям крупного рогатого скота (КРС) вирус-бактериальной этиологии. Наиболее значимые из них – инфекционный ринотрахеит (ИРТ), вирусная диарея (ВД) и хламидиоз. Этому способствовали такие факторы: недостаточное количество отечественных диагностикумов, средств специфической профилактики, лечебных препаратов и резкое изменение форм хозяйственной деятельности.

Респираторные, желудочно-кишечные, керато-конъюнктивальные и генитальные вирус-бактериальные заболевания КРС регистрируются во всех странах с развитым животноводством. Многие исследователи отводят первоочередную этиологическую роль в возникновении миксинфекций вирусам ИРТ и ВД. Авторы считают что, причиной возникновения 90 % пневмоний и заболеваний желудочно-кишечного тракта телят до 6 месячного возраста являются возбудители ИРТ и ВД, которые формируют в акроорганизме оптимальные условия жизнедеятельности бактерий, осложняющих течение вирусных заболеваний [1, 2].

Возбудителем ИРТ является герпесвирус 1-го типа КРС, относящихся к семейству *Herpesviridae* рода *Varicellovirys*. Возбудитель ВД относится к семейству *Flaviviridae* рода *Pestivirus*. Роль этих вирусов в патогенезе респираторных, генитальных и других форм заболеваний сводится к иммуносупрессии, а также прямому воздействию на клетки эпителия дыхательного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов животных. Одновременное присутствие этих вирусов в органах и тканях КРС, выявляемое при проведении диагностических исследований, свидетельствует о возможном синергическом действии этих возбудителей.

Возбудители хламидийных инфекций относятся к семейству *Chlamydiaceae*, которое включает 2 рода (*Chlamydia*, *Chlamydophila*). Наибольшее эпизоотическое значение для животноводства представляют *Chlamydophila pecorum* и *Chlamydophila abortus*. При проведении дифференциальных исследований для постановки диагноза на хламидиоз следует учитывать тот факт, что для некоторых возбудителей хламидиоза свойственен определённый тканевой тропизм, но отсутствует чёткая хозяиноспецифичность. Хламидии – облигатные внутриклеточные микроорганизмы, которые относятся к бактериям. Ряд авторов считает, что 80 % случаев хламидиозных инфекций протекают бессимптомно, но при декомпенсации иммунологических функций, заболевание может переходить в острую форму с глубокими системными поражениями многих органов и тканей [3].

Таким образом, учитывая тяжёлые последствия развития смешанной инфекции в животноводческом хозяйстве, необходимо более ранняя постановка диагноза, начинающаяся с проведения эпизоотологического обследования, при котором учитываются данные эмбриональной смертности, наличие аборт и мертворожденных телят, заболеваемость и смертность новорожденных телят. Особенное внимание уделяется биологическому, санитарному и вирус-бактериальному контролю замороженной спермы и проведение диспансеризации быков-производителей. Постановка окончательного диагноза осуществляется после проведения комплекса лабораторных исследований.