

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИ ДІАГНОСТИЦІ ПОЛІОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ГУСЕЙ**Білецька Г.В., Грибкова Н.П.***Державна дослідна станція птахівництва НААН, с. Бірки Харківської області,
Україна, e-mail: a-beletska@ya.ru***Вовк С.І.***Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна*

Геморагічний нефрит-ентерит – одна із найбільш небезпечних, але маловивчених хвороб молодняку гусей, яка зустрічається у країнах з інтенсивним веденням гусівництва.

У статті наводяться результати біологічних досліджень, які можна використовувати при діагностиці хвороби: проведення біопроби на гусенятах, інфікування 14-добових ембріонів гусей та культур клітин фібробластів і нирок ембріонів гусей та описуються основні зміни, індуковані поліомавірусом на випробуваних системах.

Ключові слова: гуси, гусенята, геморагічний нефрит-ентерит, поліомавірус, ідентифікація, діагностика.

Серед інфекційних вірусних захворювань гусей геморагічний нефрит-ентерит (Hemorrhagic Nephritis Enteritis of Geese, HNEG) є однією із основних небезпечних хвороб гусей в Європі. Назву захворюванню дали найбільш частіші патологоанатомічні зміни – геморагічний ентерит кишківника та запалення нирок.

Захворювання спричиняється поліомавірусом (Goose Hemorrhagic Polyomavirus, GHPV). Загибель гусенят від цієї хвороби може досягати 70 % і більше. До хвороби чутливий молодняк гусей до 10-тижневого віку. За останні 10–12 років хворобу реєстрували у Франції, Німеччині, Угорщині, Польщі [1, 2, 3, 4, 5]. В останні 3 роки за допомогою молекулярно-генетичних досліджень, які проведені в Державній дослідній станції птахівництва (ДДСП) НААН встановлена циркуляція поліомавірусу в Україні [6].

Проте, в Україні патогенність польових ізолятів цього вірусу не вивчена, що не дає можливості оцінити небезпеку, яку викликає поява поліомавірусу. Для контролю хвороби, яку викликає вірус, необхідно вивчити його біологічні та інфекційні властивості, розробити методи лабораторної діагностики.

Метою досліджень було випробувати різні біологічні системи для репродукції вірусу для подальшого вивчення захворювання та його збудника.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної діагностики ДДСП НААН. Для проведення досліджень використовували біоматеріал, одержаний з 2-х господарств від загинувших гусенят 30-ти та 40-добового віку з симптомокомплексом ентериту. Трупні гусенят надійшли з господарств, які проводили щеплення батьківського стада проти вірусного (парвовірусного) ентериту. Методом ПЛР в пробах органів виявлено геном поліомавірусу.

З органів гусенят (тканини кишківника, печінки і шлунку) готували 20 % суспензію на фізіологічному розчині і обробляли хлороформом за методом Н. Feldman та S.S. Wany [7]. Підготовлений патматеріал контролювали на відсутність контамінації аеробної та анаеробної мікрофлори і використовували для інфікування добових гусенят, 14-добових гусячих ембріонів та культур клітин нирок і фібробластів ембріонів гусей.

Інфікування гусенят проводили внутрішньоочеревинно нерозведеною суспензією в дозі 0.2 см³; ембріонів – на хоріоалантоїсну оболонку нативною суспензією та розведеною до 10⁻² у дозі 0.2 см³. Виділення вірусу в культурі клітин проводили стандартним методом протягом 3–5 сліпих пасажів [7]. Для інфікування використовували 24-годинну культуру фібробластів ембріонів гусей та 48–72-годинну культуру нирок ембріонів гусей.

Результати досліджень. Зараження добових гусенят приводило до їх загибелі через 18–20 діб. Видимих клінічних ознак хвороби не спостерігали, лише за кілька годин до загибелі гусенята переставали рухатись. Патзміни спостерігали у шлунково-кишковому тракті – геморагічний ентерит різного ступеню різних відділів кишківника (рис. 1), відмічали збільшення печінки, яка мала сизувато-матове забарвлення з плямистими крововиливами (рис. 2), спостерігали набряки підшкірної тканини та внутрішніх органів, крововиливи в м'язах та запалення нирок. Аналогічні зміни були описані різними авторами [1, 3] як характерні для прояву геморагічного нефрит-ентериту гусей.

При інфікуванні ембріонів гусей нативною суспензією спостерігали загибель 50 % ембріонів на 3 добу. При зменшенні дози інфікування у 100 разів, загибелі ембріонів не спостерігали, проте при їх розтині на 27 добу інкубації (13 добу після інфікування) спостерігали яскраво виражені патолого-анатомічні зміни, а саме: відкладення сечококсилних солей на різних частинах тіла ембріона, рихлість тільця ембріону, набряки підшкірної клітковини, особливо в області голови, крапкові та плямисті крововиливи на ХАО (рис. 3), гіперемія потиличної частини голови, асцит, зміна структури нирок: гіпертрофія та кровонаповнення, збільшення бурси (рис. 4), набряки суглобів ніг, збільшення прямої кишки.



Рис. 2. Збільшення печінки з крововиливами

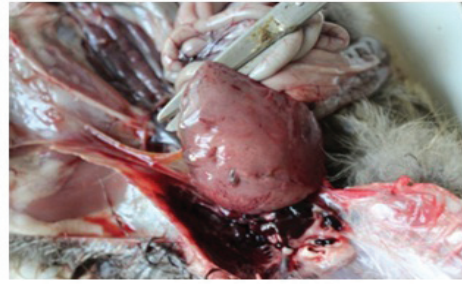


Рис. 1. Крововиливи на слизовій оболонці прямої кишки у 20-доб. гусеняти

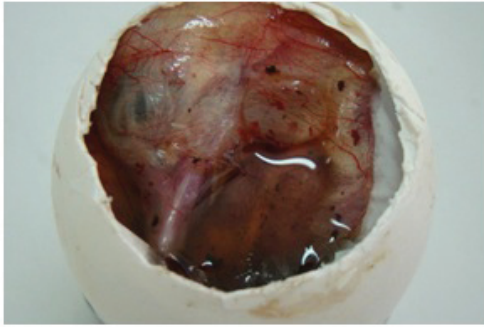


Рис. 3. Крапкові та плямисті крововиливи на ХАО

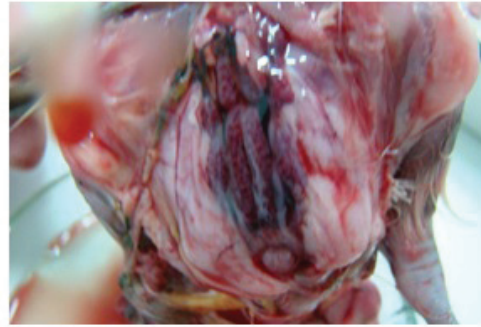


Рис. 4. Запалення нирок та збільшення бурси

Результати досліджень виділення поліомавірусу в культурі клітин показали, що поліомавірус не здатний до репродукції в культурі клітин фібробластів ембріонів гусей. Більш перспективною виявилась культура клітин нирок ембріонів гусей: цитопатичну дію вірусу спостерігали на 3 пасажі вірусу на 5–6 добу. Вона проявлялась у вигляді грануляції та везикуляції цитоплазми, агрегації клітин, які відшаровуються, формування гронаподібних структур, розрушення моношару.

Висновки. Відпрацьовані методи лабораторної діагностики геморагічного нефрит-ентериту гусей.

З використанням лабораторних методів діагностики можна проводити виділення та ідентифікацію польових ізолятів поліомавірусу з подальшим їх вивченням.

Список літератури

1. J. L. Guerin. A novel polyomavirus goose hemorrhagic polyomavirus is the agent of hemorrhagic nephritis enteritis of geese [Text] / J. L. Guerin, J. Gelfi, L. Dubois [et al] // J. of Virol. – 2000. – V.74 (10). – P. 4523 – 4529.
2. V. Palya . Epizootic occurrence of haemorrhagic nephritis enteritis infections of geese [Text] / V. Palya, E. Ivanics, R. Glavits [et al] // Avian Pathol. –2004. – V. 33(2). – P. 244– 250.
3. C. Lacroux. Pathology of spontaneous and experimental infections by Goose haemorrhagic polyomavirus [Text] / C. Lacroux, O. Andreoletti, B. Payre[et al] //Avian Pathol. –2004. – V. 33 (3). – P. 351– 358.
4. Reimar J. Polyomaviruses of birds: etiologic agents of inflammatory diseases in a tumor virus family [Text] / J. Reimar, M. Hermann // J. Virol. – 2007. – V. 81 (21). – P. 11554–11559.
5. Kozdrun W. Viral infections in goose flocks in Poland [Text] / Kozdrun W., Wozniakowski G., E. Samorek-Salamonowicz, H. Czekaj// Polish J. of Veterinary of Sciences.- 2012.-15(3).-P/525-530.
6. Білецька Г.В. Точна диференційна діагностика - запорука успіху в боротьбі з вірусним ентеритом гусей [Текст] / Білецька Г.В., Кулібаба Р.О., Юрко П.С. // Птахівництво: Міжвід. тем. наук. зб.- Харків, 2013.-Вип. 69.-С. 81-82.
7. Антонов Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: Вирусные, риккетсиозные и паразитарные болезни. Справочник [Текст] / Антонов Б.И. Борисова В.В., Каменева Л.П. //М.: Агропромиздат.-1987.- 240 с.

BIOLOGICAL RESEARCH IN THE DIAGNOSIS OF GEESE POLIOMAVIRUS INFECTION

Beletskaya G.V., Gribkova N.P.

State poultry research station NAAN, c. Borky Kharkiv region, Ukraine

Vovk S.I.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov, Ukraine

Haemorrhagic nephritis-enteritis is one of the most dangerous, but poorly understood disease of young geese, which is found in countries with intensive maintenance geese.

The article presents the results of biological studies that can be used in the diagnosis of the disease: the holding of a biosample on gusanito, infection 14-day-old embryos geese and cell cultures of fibroblasts and kidney embryos geese and describes the major changes induced Palamara on tested systems. Using laboratory methods of diagnosis can be performed isolation and identification of field isolates of polyomavirus with their further study.

Keywords: geese, goslings, haemorrhagic nephritis-enteritis, paliomavirus, identification, diagnosis.