

Afonso, Erica Spackman, Melissa A. Scott, Janice C. Pedersen et al. J Virol. 2010; 84(21): 11496-11504. 4. Alexander, D. J. The classification, host range and distribution of avian paramyxoviruses. In J. B. McFerran and M. S. McNulty (eds.). D. J. Alexander. 1986 – Acute virus Infections of Poultry. Martinus Nijhoff, Dordrecht. The Netherlands., pp. 52-66. 5. Lipkind, M. Antigenic relationships between avian paramyxoviruses. Quantitative characteristics based on hemagglutination and neuraminidase inhibition test [text] / M. Lipkind, E. Shihmanter. 1986. - Arch Virol., 89:89-111. 6. Lipkind, M. Isolation of paramyxovirus from pigs in Israel and its antigenic relationships with avian pneumoviruses [text] / M. Lipkind, D. Shoham, E. Shihmanter. 1986. - J Gen Virol., 67:427-439. 7. Doyle, T. M. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus [text] / 1925. - T. M. Doyle. J Comp Pathol Therap., 40:144-169. 8. Beach, J. R. Avian pneumoencephalitis [text] / 1942. - J. R. Beach. Proc Annu Meet US Livestock Sanit Assoc., 46:203-223. 9. Beaudette, F. R. Newcastle disease in New Jersey [text] / F. R. Beaudette, J. J. Black. 1946 - Proc Annu Meet US Livestock Sanit Assoc., 49:49-58. 10. Hitchner, S. B. A virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle disease (avian pneumoencephalitis) [text] / S. B. Hitchner, E. P. Johnson. 1948 - Vet Med., 43:525-530. 11. McFerran, J. B. Newcastle Disease. In D. J. Alexander (ed). J. B. McFerran, R. M. McCracken. 1988 – Kluwer Academic Publishers, Boston, MA., pp. 161-183.

## NEWCASTLE DISEASE: MODERN CLASSIFICATION OF PATHOGEN, DIAGNOSIS AND PREVENTION OF THE DISEASE (LITERATURE REVIEW)

**Stegniy B.T., Muzyka D.V., Tkachenko S.V.**

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

**A. Khartikh Abdull**

*Kharkiv State Zooveterinary Academy*

*The paper contains data on the current epizootic situation in the world in relation to Newcastle disease. Data regarding the classification, diagnosis and prevention of the disease, as well as information concerning the contribution of the scientists from the NSC "IEVM" is presented in the paper.*

УДК 619:616.98:578:636.5

## ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРОЯВЛЕНИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА

**Стегний Б.Т., Музыка Д.В., Стегний А.Б., Рула А.Н., Ткаченко С.В., Усова Л.П., Майорова К.Ф.**

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

Инфекционный ларинготрахеит – вирусное заболевание кур, которое характеризуется респираторными расстройствами (мукоидные трахеиты, синуситы, конъюнктивиты, а в острых эпизоотических случаях – выделение слизи с кровью, затрудненное дыхание, удушье и гибель птицы). Вследствие этого инфекция приводит к серьезным производственным потерям, обусловленным гибелью птицы, а также снижением яйценоскости.

Вирус инфекционного ларинготрахеита относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Alphaherpesvirinae*. Таксономически вирус идентифицируется как *Gallid herpesvirus 1* [1].

Данное заболевание регистрируется в большинстве стран с развитым птицеводством и остается для них серьезной проблемой [2]. В районах с большой концентрацией поголовья домашней птицы (Соединенные Штаты Америки, Европа, Китай, юго-восточная Азия) данное заболевание успешно профилактируется с помощью живых вакцин. Энзоотические вспышки ларинготрахеита в данных странах наблюдают в небольших хозяйствах.

Диагноз на инфекционный ларинготрахеит (ИЛТ) ставится на основании эпизоотологических данных, клинических признаков заболевания, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований (серологические, вирусологические, молекулярно-биологические). При атипичной форме диагноз ставят на основании выделения возбудителя, поскольку сходные клинические симптомы и патологоанатомические признаки регистрируют и при других респираторных заболеваниях [3]. Выделение вируса проводят заражением на хорион-аллантаоисную оболочку эмбрионов кур, уток и индеек. Для выявления антител проводят реакции иммунодиффузии, иммунофлуоресценции, нейтрализации и твердофазного иммуноферментного анализа [4].

Сотрудниками отдела изучения болезней ННЦ «ИЭКВМ» птиц были разработаны вакцины для специфической профилактики данного заболевания, в т. ч. «Вакцина инактивированная культуральная против инфекционного ларинготрахеита кур» (Бабкин В.Ф.) [4].

### **Материалы и методы. Патологический материал.**

Для выделения вируса ИЛТ использовали образцы патологического материала, полученного с птицевладельцев Украины, который поступил в отдел изучения вирусных болезней птиц ННЦ «ИЭКВМ» в 2010 году. Образцы представляли собой фрагменты гортани, трахеи и легких 125-180-суточных кур.

### **Заражение куриных эмбрионов на хорион-аллантаоисную оболочку.**

Вирусологические исследования проводили по общепринятой методике, используя 10-20 % суспензию патологического материала на ФСБ (рН 7,2-7,4). Для выделения вируса использовали 9-12-суточные куриные эмбрионы, полученные от не привитых против ИЛТ кур. Эмбрионы заражали суспензией в объеме 0,2 см<sup>3</sup> на хорион-аллантаоисную оболочку (ХАО) через искусственную воздушную камеру.

**Серологические исследования.** Сыворотки крови кур исследовали на наличие антител к вирусу ИЛТ в иммуноферментном анализе с использованием тест-системы фирмы Synbiotics (Франция); на наличие антител к вирусу гриппа птиц – в иммуноферментном анализе с использованием тест-системы фирмы IDEXX (США).

**Дифференциальная диагностика.** При постановке диагноза исключали ньюкаслскую болезнь, оспу, метапневмовирусную инфекцию птиц, инфекционный бронхит, хронический пастереллез и респираторный микоплазмоз. При проведении патологоанатомического вскрытия обращали внимание на наличие изменений, характерных для инфекционного ларинготрахеита: конъюнктивит, трахеит, кровоизлияния на слизистой оболочке гортани, наличие казеозной пробки в просвете трахеи.

**Молекулярно-биологические исследования.** Исследование образцов суспензии патологического материала на наличие ДНК вируса ИЛТ проводили в ПЦР. Экстракцию нуклеиновых кислот проводили с помощью набора «ДНК-Сорб-Б» производства фирмы АплиСенс (Москва, Российская Федерация). Реакцию амплификации проводили с помощью базовых наборов фирмы АплиСенс и системы праймеров ICP\_1/2. Электрофоретический анализ проводили с помощью набора для электрофореза фирмы АплиСенс (Москва, Российская Федерация). Концентрация агарозы в геле 1 %, напряжение 120 В.

**Результаты исследований.** Применение вакцины на птицепоголовье начиная с 50-суточного возраста является обязательным элементом вакцинопрофилактики в птицеводческих хозяйствах на территории Украины. Однако периодически в разных регионах страны регистрируют вспышки данного заболевания.

В 2009-2010 годах было зарегистрировано несколько случаев заболевания. При обследовании сотрудниками отдела изучения болезней птиц ННЦ «ИЭКВМ» одного из птицеводческих хозяйств восточного региона Украины (птицехозяйство №1) на продуктивной птице, привитой против ИЛТ, были выявлены клинические признаки протекания инфекционного заболевания: угнетение, отказ от корма, фотофобия, затрудненное дыхание с шумами (фото 1), чихание, кашель, а также конъюнктивит, истечение секрета из латерального угла глаза (фото 2).



**Фото 1** – Затрудненное дыхание у птиц с клиническими признаками заболевания ИЛТ



**Фото 2** – Истечение секрета из латерального угла глаза

При проведении патологоанатомического вскрытия клинически больной птицы отмечали конъюнктивит (фото 3), синусит, воспалительные процессы в органах дыхательной системы, казеозную пробку в просвете трахеи (фото 4), катарально-геморрагический экссудат со сгустками крови в просвете трахеи (фото 5). Как подтверждение остроты инфекционного процесса обнаружены кровоизлияния в цекальных железах (фото 6).



**Фото 3** – Конъюнктивит у клинически больной птицы



**Фото 4** – Геморрагическое воспаление на всем протяжении трахеи и казеозная пробка в ее просвете



**Фото 5** – Катарально-геморрагический экссудат со сгустками крови в просвете трахеи



**Фото 6** – Точечные кровоизлияния в цекальных железах

При исследовании сывороток крови в иммуноферментном анализе (ИФА) выявлены антитела к вирусу ИЛТ в титрах от 8 до 11649 (возраст птицы 125 суток) и от 198 до 4226 (возраст птицы 147 суток) (табл. 1).

Подобные клинические признаки на привитых против ИЛТ курах-несушках 180-суточного возраста были отмечены в птицехозяйстве №2. При исследовании сывороток крови кур на наличие антител к вирусу ИЛТ было установлено, что средний титр в ИФА в сыворотках крови кур составил 4617, а через пять суток – 4254 (табл. 2).

Таблица 1 – Титры антител к вирусу ИЛТ в пробах сывороток крови от больной птицы из птицеводства Луганской области (по данным ИФА)

№ п/п	147 суток			125 суток		
	Log <sub>10</sub> T	T	Результат	Log <sub>10</sub> T	T	Результат
1	2	3	4	5	6	7
1	2,59	393	±	1,59	39	-
2	2,45	280	-	1,88	77	-
3	2,82	665	+	0,90	8	-
4	3,12	1325	+	4,07	11649	+
5	2,51	323	-	2,54	349	-
6	2,88	750	+	2,67	467	±
7	2,13	135	-	1,26	18	-
8	2,48	301	-	2,06	114	-
9	3,63	4226	+	3,97	9435	+
10	2,77	582	±	2,35	226	-
11	2,98	962	+	1,88	76	-
12	2,45	280	-	3,32	2101	+
13	2,67	466	±	2,32	210	-
14	2,7	504	±	1,59	39	-
15	2,88	765	+	2,69	499	±
16	2,30	198	-	1,34	22	-
17	2,63	429	±	1,41	26	-
18	2,77	582	±	2,48	303	-
19	2,71	517	±	2,03	108	-
20	2,85	707	+	1,81	65	-
<b>M±m</b>	<b>2,7±0,3</b>	<b>720±872</b>		<b>2,2±0,9</b>	<b>1292±3217</b>	

Таблица 2 – Результаты исследования в ИФА сывороток крови от больной птицы из птицеводства Харьковской области

№ п/п	180 суток		185 суток	
	log <sub>10</sub> T	T	log <sub>10</sub> T	T
1	3,70	5008	3,37	2344
2	3,66	4593	3,46	2884
3	3,66	4584	3,55	3548
4	3,63	4304	3,42	2630
5	3,66	4574	3,82	6606
6	3,64	4352	3,53	3388
7	3,63	4285	3,55	3548
8	3,66	4613	3,49	3090
9	3,66	4574	3,5	3162
10	3,67	4672	3,62	4168
11	3,67	4711	3,77	5888
12	3,68	4740	3,26	1819
13	3,61	4105	3,96	9120
14	3,67	4721	3,36	2290
15	3,66	4584	3,79	6165
16	3,67	4642	3,94	8709
17	3,73	5352	3,62	4168
18	3,68	4819	3,41	2570
19	3,69	4948	3,89	7762
20	3,67	4642	3,47	2951
21	3,66	4623	3,8	6309
22	3,66	4603	3,26	1949
23	3,62	4143	3,28	1905
24	3,66	4545	3,71	5128
25	3,67	4730	-	-
26	3,72	5250	-	-
<b>M±m</b>	<b>3,67±0,02</b>	<b>4617±274</b>	<b>3,58±0,2</b>	<b>4254±2230</b>

Полученные результаты в ИФА свидетельствовали о разнородности титров антител у подозреваемой на заболевание птицы.

С целью установления диагноза проведены вирусологические и молекулярно-биологические исследования. Для этого из внутренних органов клинически больной птицы готовили 10-20 % суспензию, которой заражали куриные эмбрионы.

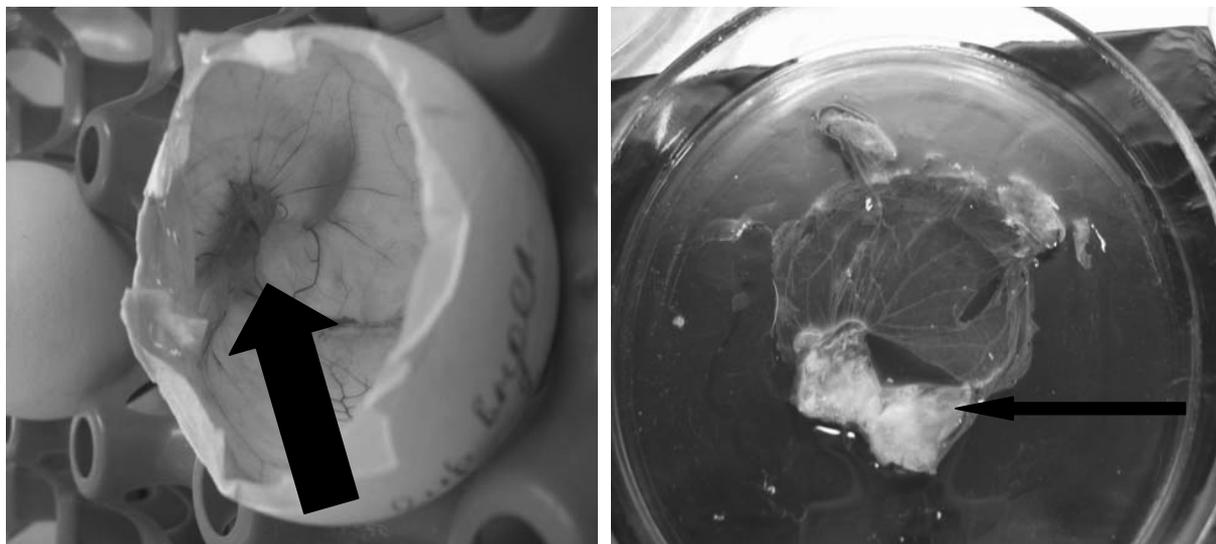
Так, при проведении первого пассажа с использованием материала от птицы из птицеводства №2 на КЭ преобладали очаговые поражения хорион-аллантоисной оболочки (ХАО) в месте инокуляции вируса (фото 7 и 8), а при использовании материала

от птицы из птицеводства №1 преобладали узелковые поражения ХАО (фото 9 и 10). Следует отметить, что эти изменения являются типичными для вируса ИЛТ.

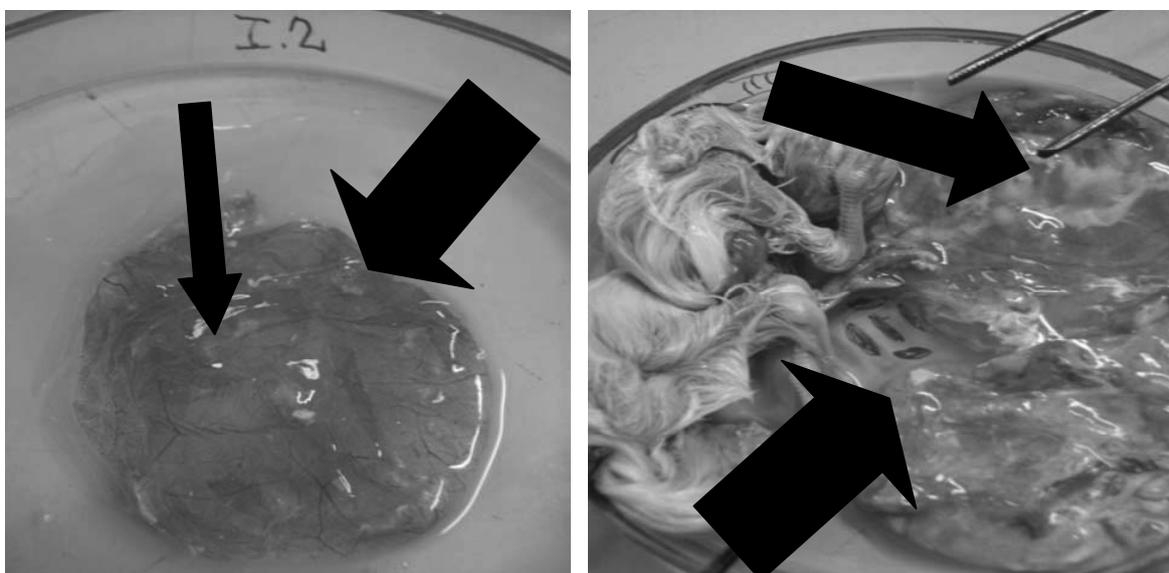
Экстраэмбриональную жидкость индивидуально от каждого эмбриона исследовали на наличие гемагглютинирующей активности. Результаты РГА с 1 % суспензией эритроцитов петуха отрицательные.

Изоляту, выделенному из патологического материала от кур птицеводства №1, присвоили название «ЧП 96-10», а из птицеводства №2 – «Б 02-10».

Для выявления генома вируса ИЛТ исследовали исходную суспензию и суспензию ХАО первого пассажа методом ПЦР. В результате проведения молекулярно-биологических исследований установлено, что образцы содержали генетический материал вируса ИЛТ.



**Фото 7, 8** – Очаговые поражения на всей поверхности ХАО в месте инокуляции суспензии



**Фото 9, 10** – Узелковые поражения на всей поверхности ХАО в месте инокуляции суспензии

Дальнейшие наши исследования направлены на изучение биологических свойств выделенных изолятов, а именно их патогенности, нами проведено заражение безантительных к вирусу ИЛТ цыплят 60-суточного возраста, за которыми вели наблюдение в течение 15 суток. Заражение проводили путем аппликации вирусосодержащего материала на слизистую оболочку гортани. Количество заболевших и погибших регистрировали в протоколах (табл.3, 4).

Из результатов, приведенных в таблицах 3 и 4 видно, что заболевание начиналось в обоих случаях с 10-суток, при этом охватывало 100 % экспериментально инфицированного поголовья. При этом наблюдали общее угнетение, диарею, респираторные шумы. Специфическую гибель птицы наблюдали на 12 и 13 сутки соответственно, которая составляла 40 % в обоих случаях. В конце наблюдения (15 сутки) погибло 80 % птицы, инфицированной изолятом «ЧП 96-10». Изолят «Б 02-10» оказался более вирулентным и вызвал гибель 100 % поголовья опытной птицы при вскрытии выявляли патологические изменения, характерные для вируса ИЛТ.

Таблиця 3 – Динаміка захворюваності та смертності птахів експериментально інфікованої ізолятом «ЧП 96-10»

Клінічне становище експериментальної пташки	Сутки після зараження														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Здорові	15	15	15	15	15	15	15	15	15	–	–	–	–	–	–
Больні	–	–	–	–	–	–	–	–	–	15	15	9	6	6	3
Погиблі	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	3	–	3

Таблиця 4 – Динаміка захворюваності та смертності птахів експериментально інфікованої ізолятом «Б 02-10»

Клінічне становище експериментальної пташки	Сутки після зараження														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Здорові	15	15	15	15	15	15	15	15	15	–	–	–	–	–	–
Больні	–	–	–	–	–	–	–	–	–	15	15	15	9	3	–
Погиблі	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	6	3	–

**Висновки.** В результаті проведеної роботи нами виділено з птицеводчих господарств на території України два ізоляти вірусу ІЛТ. Ізоляту, виділеному з патологічного матеріалу від кур птицеводства №1, присвоєно назву «ЧП 96-10», а з птицеводства №2 – «Б 02-10».

Дальніша робота буде направлена на углибоване вивчення генетичних властивостей виділених ізолятів з метою можливого їх використання як специфічних компонентів нових засобів діагностики та специфічної профілактики ІЛТ.

Список літератури

1. Roizman, B. The family Herpesviridae: General description, taxonomy and classification [Text] / In B. Roizman (ed.). The Herpesviruses, vol. 1. Plenum press, New York, 1982. pp 1-23. 2. Biggs, P.M. The world of poultry disease // Avian Pathol 1982. 11:281-300. 3. Сюрин, В.Н. Діагностика вірусних захворювань тварин: Справочник / В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина // М.: Агропромиздат. – 1991. – 528 с. 4. Adair, V.M. Comparison of serological test for detection of antibodies to infectious laryngotracheitis virus / V.M. Adair, D. Todd, E.R. McKillop, K. Bums // Avian Pathol. – 1985. – P. 14:461-469. 5. Бабкин, Б. Ф. Інфекційний ларинготрахеїт птахів (розробка інактивованих вакцин, методів діагностики та системи протиепізоотических заходів) : автореф. дис.... док. вет. наук [Текст] / В. Ф. Бабкин. – Х., 1996. – 224 с.

FEATURES OF CLINICAL SIGNS AND ISOLATION OF INFECTION LARYNGOTRACHEITIS VIRUS

Stegniy B.T., Muzyka D.V., Stegnyy A.B., Rula A.N., Tkachenko S.V., Usova L.P., Mayorova K.F.

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

An information concerning isolation of epizootic isolates of infectious laryngotracheitis virus at the poultry farms of Ukraine is presented in the article. The clinical signs of the disease, such as lesions of respiratory tract, were observed in the productive population of poultry. At the study of biological properties of isolates on chicken embryos we detected the typical lesions of chorion- allantois membrane.

УДК 619:616-022.9:616.98:578.831.1

ТРАНСМІСІЙНЕ ІНФІКУВАННЯ ЛЮДЕЙ ХВОРОБОЮ НЬЮКАСЛА ВІД ПТАХІВ

Стегній М.Ю., Ворошилов І.С.

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

Однією з поширеніших в усьому світі та над небезпечних із вірусних захворювань є хвороба Ньюкасла (ND). Вірусна хвороба Ньюкасла (NDV) – (Ньюкаслська хвороба, псевдочума, азіатська чума курей, хвороба Філарет, хвороба Ранікхет) – Newcastle disease (*Pseudopestis avium*, *Avian pneumoencephalitis*) – це особливо небезпечне високонконтагіозне вірусне захворювання птаці родини курячих і характеризується ураженнями центральної нервової системи, респіраторних, вісцеральних органів та високою смертністю. Ця інфекція вражає близько 241 видів птахів з 27 підродин, які вільно живуть поряд з людиною. Хворобою Ньюкасла найчастіше хворіють свійські та дикі птахи ряду курячих, але спалахи інфекції відмічають серед індиків, цесарок, перепілок, куріпок, фазанів, павичів, голубів, горобців, ворон, тетеруків, шпаків, страусів, папуг, чапель, сорок, філінів, орланів та у більш ніж 30 видів інших птахів. У людини вірус може викликати пригнічення, серозні кон'юнктивіти та риніти. Вірус добре репродукується на 9-11 добових курячих ембріонах та на культурі клітин.

Збудником хвороби Ньюкасла (ND) є РНК – вмісний вірус, який належить до родини *Paramyxoviridae*, підродини *Paramyxovirinae*, роду *Rubulavirus*. У родину виходять дві підродини: *Paramyxovirinae* та *Pneumovirinae*. Підродина *Paramyxovirinae* складається з трьох родів: *Paramyxovirus*, *Morbillivirus*, *Rubulavirus*. Рід *Paramyxovirus* включає параміксовіруси птахів (9 типів) і віруси парагрипу (4 типи). Усі представники володіють нейрамінідазною активністю. Типовий представник роду – вірус парагрипу людини 1. Вірус парагрипу-1 патогенний для людини і мишей; вірус парагрипу-2 – для людини, мавп і собак; вірус парагрипу-3 – для людини, мавп, ВРХ і овець; вірус парагрипу-4 – для людини. Рід *Morbillivirus* (від лат. morbillus – кір) включає вірус кору (прототипний вірус), вірус чуми ВРХ, дрібних жуйних, собак і тюленів. Віруси не володіють нейрамінідазною активністю, мають цитоплазматичні та внутрішньоядерні включення, що містять вірусний рибонуклеопротеїн. Рід *Rubulavirus* включає вірус паротиту, що володіє гемаглютинуючою, нейрамінідазною та гемолітичною активністю. Віріони сферичної або циліндричної форми, вкриті оболонкою. Діагностують 9 серологічних груп параміксовірусів, яким присвоєні відповідні назви від PMV-1 до PMV-9. Усі штами вірусів, які викликають хворобу Ньюкасла птаці (NDA), відносять до групи PMV-1. Найсерйозніші захворювання викликає параміксовірус, який відносять до серогруп PMV-2 та PMV-3. Вірус збудника має гемаглютинуючі властивості щодо еритроцитів птаці, амфібій, рептилій, мишей, мурчаків та людини.