

МОНІТОРИНГ ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ

Стегній Б.Т., Музика Д.В., Рула О.М., Стегній А.Б., Ткаченко С.В., Майорова К.Ф., Усова Л.П., Полторацький Є.В.

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

Воротилова Н.Г.

Кримська дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ», м. Сімферополь

Інфекційний ларинготрахеїт птиці (ІЛТ) — широко розповсюджена вірусна контагіозна респіраторна хвороба, яка уражає курей різного віку, індичок, куріпок, шпаків, ворон, декоративних, домашніх і диких голубів, качок і гусей. Збудником цього захворювання є ДНК-вмісний вірус родини *Herpesviridae* підродини *Alphaherpesviridae*. Вірус має високий тропізм до клітин слизової оболонки трахеї, ротової та носової порожнин, а також очей. Потрапляючи на слизову оболонку трахеї, високівірулентний вірус викликає первинний запальний процес і підвищує проникність кровоносних судин, унаслідок чого трахея закупорюється кров'яним згустком і птиця гине від задиху.

Пошукові дослідження щодо виділення та вивчення біологічних властивостей вірусу ІЛТ з метою виготовлення вакцин проводило багато вчених: Полякова О.А. [1], Щенніков С.Т., Петровська О.А. [8], Cover M. [9], Чистова З.Я., Сюрін В.Н. [2], Прокоф'єва М.Т., Бабкін В.Ф. [12], Мамчур Б.А. [5], Макогон В.Ф. [3, 4, 7]. Але, не дивлячись на багаточисельні дослідження в цьому напрямку, дане питання не втрачає своєї актуальності й дотепер.

При інфікуванні високівірулентними штамами спостерігається летальність, яка може сягати 70 % і навіть більше. У випадку інфікування менш вірулентним вірусом інфекція ускладнюється секундарною мікрофлорою, у трахею проникає мікрофлора повітря, що призводить до вторинних запалень з утворенням казеозної пробки.

Не зважаючи на те, що в багатьох птахогосподарствах України проводять планову вакцинацію, захворювання набуває стаціонарного характеру та наносить великі економічні збитки птахівництву за рахунок загибелі поголів'я та зниження яєчної та м'ясної продуктивності.

За даними Міжнародного епізоотичного бюро (МЄБ) протягом 2009–2012 років у світі зареєстровано 4 спалахи інфекційного ларинготрахеїту: в Європі – Норвегія та Фінляндія; у Північній Америці – Еквадор і Перу, причому в Перу діагноз на ІЛТ встановлений в 3 регіонах. Дослідженнями російських науковців у період з 1999 по 2004 роки на території Російської Федерації виділено та вивчено біологічні властивості 18 польових ізолятів зазначеного вірусу [12].

ІЛТ реєструють на птахофабриках в усі пори року, але найбільші економічні збитки він спричиняє в періоди різких кліматичних коливань, тобто восени та навесні. Інфіковані птахи складають головне та довготривале джерело вірусу [14]. Птахи, що перехворіли на ІЛТ, не сприйнятливі до інфекції, але довгий час (до 2 років) є вірусоносцями та продовжують виділяти вірус у навколишнє середовище [6, 10, 11, 13]. Тому своєчасна діагностика цього захворювання має вирішальне значення для успішного проведення ветеринарно-санітарних заходів та вакцинопрофілактики.

Метою роботи було проведення епізоотологічного моніторингу щодо інфекційного ларинготрахеїту, виділення та вивчення біологічних властивостей ізолятів.

Матеріали та методи. При дослідженні моніторингу в світі використовували офіційні дані Міжнародного епізоотичного бюро.

Сироватки крові, що були досліджені у відділі з вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ», доставлені з 15 птахофабрик різних форм власності та напрямів продуктивності 9 областей України (АР Крим, Вінницька, Донецька, Луганська, Миколаївська, Харківська, Хмельницька, Херсонська та Черкаська).

Серологічні дослідження проводили методом непрямого ІФА з використанням комерційних наборів фірм «Synbiotics» (Франція), «ВНИИЗЖ» (Російська Федерація) та «Civtest» (Іспанія) згідно з інструкцією щодо застосування наборів.

Інтерпретацію результатів в ІФА робили, виходячи з інструкції до відповідного набору.

Результати досліджень. Серологічний моніторинг щодо ІЛТ на території України проводили в період з 2009 по 2013 роки в господарствах, де проводиться планова вакцинація проти зазначеного збудника. У цей період співробітниками відділу з вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» на наявність антитіл до вірусу ІЛТ досліджено 1544 проби сироваток крові. Слід зазначити, що в усіх птахофабриках, звідки надходили сироватки крові на дослідження, застосовується вакцинація згідно зі схем, прийнятих на окремій з них.

Динаміку рівня антитіл до вірусу ІЛТ досліджували по наступним віковим групам: 25–69 діб, 70–120 діб, 120–270 діб, 270–404 доби та 405–706 діб. Сумарні дані титрів антитіл по віковим групам вакцинованої птиці яєчного напрямку продуктивності представлені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати досліджень в ІФА на наявність антитіл до вірусу ІЛТ у курей яєчного напрямку

| Вікові групи, доба | Кількість досліджених проб | З них позитивних, % |
|--------------------|----------------------------|---------------------|
| 25–69 | 94 | 0 |
| 70–120 | 352 | 61,23 |
| 121–270 | 531 | 55,32 |
| 271–404 | 187 | 81,82 |
| 405–706 | 380 | 78,95 |

При проведенні серологічного дослідження в кожній з вікових груп обчислені середні титри антитіл. Результати наведені в таблиці 2.

Таким чином, рівень антитіл у різних вікових групах курей, за виключенням 25–69-добового віку, суттєво різнився один від одного за величиною.

Через те, що вакцинації підлягає поголів'я з 50-добового віку (згідно схем вакцинацій, прийнятих у кожному окремому господарстві), в групі 25–69 діб не виявилось жодної позитивної проби. З моменту вакцинації з'являються позитивні проби, які в групі 70–120 діб досягають 61,23 % та підвищуються в віковій групі 271–404 доби до 81,82 %, а потім цей показник знижується до 78,95 % у групі 405–706 діб.

Таблиця 2 – Середній титр антитіл у різних вікових групах

| Вікові групи, доба | Середній титр антитіл | Виробник тест-системи |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| 25–69 | 34 ± 8* | «Civtest» |
| 70–120 | 823 ± 477 | «Civtest» |
| | 1781 ± 387 | «ВНИИЗЖ» |
| | 1126 ± 1153 | «Synbiotics» |
| 121–270 | 1207 ± 257 | «ВНИИЗЖ» |
| | 1702 ± 933 | «Synbiotics» |
| 271–404 | 1056 ± 487 | «ВНИИЗЖ» |
| 405–706 | 1539 ± 291 | «ВНИИЗЖ» |

Примітка: * – згідно з листівкою вкладкою до набору, позитивні сироватки вважаються з титром 387 і вище.

Не дивлячись на те, що в птахогосподарствах проводять планову профілактичну вакцинацію проти даного збудника, при неякій вакцинації або в невеликих приватних господарствах, де не завжди дотримуються схем вакцинації, реєструють випадки захворювання на інфекційний ларинготрахеїт. Так, при проведенні огляду поголів'я в птахогосподарствах, підозрілих на захворювання птиці на ІЛТ, ми відмічали клінічні ознаки задухи та хрипи, у момент вдиху птиця витягувала шию.

При проведенні вірусологічних досліджень суспензій патологічного матеріалу, відібраних від клінічно хворих курей з 3 птахофабрик України, виділено 3 ізоляти вірусу ІЛТ (П/Х-09/11, ЧП-11, Б-10). Ідентифікацію проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в Федеральному державному закладі «Федеральний центр охорони тварин» (м. Владимир, Російська Федерація) з використанням референтних штамів зазначеного вірусу. У результаті встановлено наявність ДНК вірусу ІЛТ птиці в усіх трьох досліджуваних пробах.

При культивуванні суспензії патологічного матеріалу на курячих ембріонах переважали осередкові ураження хоріон-алантоїсної оболонки в місці інюкуляції вірусу.

З проведенням подальших пасажів характер патологічних змін мінявся – з'явилися некротичні осередки у вигляді вузликів розміром з просяне зерно.

Характерною для даних ізолятів була відсутність їх гемаглютинуючих активностей, що обумовлено низькою патогенністю виділених ізолятів.

Подальші дослідження були спрямовані на визначення біологічних властивостей одного з ізолятів, виділеного в птахогосподарстві АР Крим (П/Х-09/11). Дослідження проводили шляхом інфікування КЕ розведеннями вірусу ІЛТ від 10^{-1} до 10^{-10} та обраховували за методом Ріда та Менча. В результаті біологічна активність дорівнювала $6,5 \pm 0,81 \lg \text{ЕІД}_{50}/0,2 \text{ см}^3$.

За визначенням патогенності даного ізоляту вірусу ІЛТ, яку проводили на 60-добових курчатах, встановлено, що даний ізолят не патогенний для дослідних курчат (упродовж 15 діб спостереження жодне курча не захворіло). Однак, при розтині вимушено забитої птиці у 30 % спостерігали патологоанатомічні зміни в гортані й трахеї, які характеризувалися гіперемією та наявністю крапчастих крововиливів. Шляхом наступного інфікування КЕ матеріалом від дослідних курчат встановлено наявність патологоанатомічних змін на ХАО ембріонів у вигляді дрібних некротичних осередків (вузликів).

Науковці Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» постійно проводять наукові дослідження з метою контролю розповсюдження даної інфекції. Так, у період 2010–2011 років виділено та охарактеризовано вищенаведені 3 ізоляти. Наразі спеціалістами відділу проводяться виробничі випробування тест-системи «Набір компонентів для виявлення антитіл до вірусу інфекційного ларинготрахеїту імуноферментним методом» власного виробництва.

Висновки. 1. За результатами серологічного моніторингу в 15 птахофабриках 9 областей України встановлено наявність антитіл до вірусу інфекційного ларинготрахеїту серед всього птахопоголів'я, окрім поголів'я віком 25–69 діб.

2. При проведенні вірусологічних досліджень ізольовано 3 штами вірусу ІЛТ, вивчені біологічні властивості одного з них. Його біологічна активність дорівнювала $6,5 \pm 0,81 \lg \text{ЕІД}_{50}/0,2 \text{ см}^3$.

3. Належність виділених ізолятів П/Х-09/11, ЧП-11 та Б-10 до вірусу інфекційного ларинготрахеїту підтверджена проведенням полімеразної ланцюгової реакції з референтними штамми.

Список літератури

- Полякова, О.А. Інфекційний ларинготрахеїт птиці [Текст] / О.А. Полякова // Ветеринарія. – 1951. – № 2. – С. 29–32.
- Прокоф'єва, М.Т. Культивування вірусу інфекційного ларинготрахеїта в розвиваючихся перепелиних і гусиних ембріонах [Текст] / М.Т. Прокоф'єва, Б.А. Мамчур, В.Ф. Бабкін // Матеріали І-ІІ вет. конф. – М., 1970. – Ч. 1. – С. 46–47.
- Макогон, В.Ф. Изучение биологических свойств вируса инфекционного ларинготрахеита птиц в клеточных культурах [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук / В.Ф. Макогон. – Х., 1973. – 20 с.
- Макогон, В.Ф. Производственная проверка окулярного метода вакцинопрофилактики инфекционного ларинготрахеита птиц [Текст] / В.Ф. Макогон, А.И. Доценко // Всесоюз. науч.-практ. конф. : тез. докл. – Сумы, 1989. – С. 198–199.
- Мамчур, Б.А. Изучение инфекционного ларинготрахеита индеек в эксперименте и естественных условиях [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Б.А. Мамчур. – Одесса, 1969. – 20 с.
- Сюрин, В.Н. Инфекционный ларинготрахеит птиц. Вирусные болезни животных [Текст] / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев. – М.: ВПТБ, 1998. – С. 672–683.
- Чистова, З.Я. О вариантах вируса инфекционного ларинготрахеита кур [Текст] / З.Я. Чистова, В.Н. Сюрин // Вопр. вет. вирусологии. – М., 1964. – Т. 1. – С. 413–425.
- Щенников, С.Т. Активная иммунизация кур против инфекционного ларинготрахеита [Текст] / С.Т. Щенников, Е.А. Петровская // Ветеринария. – 1954. – № 3. – С. 42–46.
- Cover, M.S. The biological variation of ILT virus [Text] / M.S. Cover, W.J. Benton // Avian Dis. – 1958. – Vol. 2. – P. 375–383.
- Dufour-Zavala, L. Epizootology of infectious laryngotracheitis and presentation of an industry control program [Text] / L. Dufour-Zavala // Avian Dis. – 2008. – Vol. 52, №1. – P. 1–7.
- Бабкін, В.Ф. Інфекційний ларинготрахеїт птиці (розробка інактивованих вакцин, методів діагностики та системи протиізоотичних заходів) [Текст]: автореф. дис. ... д-ра вет. наук / В.Ф. Бабкін. – Х., 1996. – С. 27–31.
- Батченко, Г.В. Выделение, идентификация и характеристика изолятов вирусов инфекционного бронхита кур и инфекционного ларинготрахеита птиц [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Г.В. Батченко. – Владимир, 2004. – 24 с.
- Bagust, T. J. Avian infectious laryngotracheitis [Text] / T. J. Bagust, R. C. Jones, J. S. Guy Rev. Sci. Tech. 2000; 19 (2); p. 483–92.
- Wang, L.G. Dynamic distribution and tissue tropism of infectious laryngotracheitis virus in experimentally infected chickens [Text] / L. G. Wang, J. Ma, C. Y. Xue, W. Wang et al. Arch Virol. 2013; 158 (3) p. 659–66

MONITORING OF INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS IN UKRAINE AND THE WORLD

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

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

Vorotilova N.G.

Crimean Research Station National Scientific Center «Institute of experimental and Clinical Veterinary Medicine», Simferopol

The proposed paper presents an analysis of the results of serological studies on infectious laryngotracheitis in 15 poultry farms, which are located in 8 regions of Ukraine. It was determined that antibodies to this virus are present in the blood sera of all age groups except the group of 25–44 days 13 ± 7 (kit produced by «Civtest») to 1871 ± 480 (kit produced by «ARRIAH»). During the virological studies there have been isolated three strains of this virus, their biological properties have been studied.

УДК 619:616.98:579

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПУЛЬМОНАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА У ТЕЛЯТ

Стегний Б.Т.

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

Сосницкий А.И.

Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск

Мажорным бактопатогеном респираторного паразитоценоза, индуцирующим первичные бронхопневмонии в первые месяцы жизни телят после энзоотии ОРВИ в стационарных условиях содержания, в большинстве случаев является *P. multocida*. Наиболее распространенными возбудителями, вызывающими ОРВИ является ВПГ-3 и вирус ИРТ. Также широко распространена хламидиозная инфекция, как предшественник-иммуносупрессор пульмональной патологии пастереллезной этиологии [1, 4].

Остаются малоизученными генно-физиологические механизмы экспрессии *M. haemolytica* после транспортного стресса, приводящих к экспоненциальному размножению комменсала, репрессированного иммунобиологическими протективными механизмами слизистого барьера респираторных тканей макроорганизма [2].

Была выдвинута рабочая гипотеза о том, что пульмональный пастереллез эндогенного происхождения в зависимости от особенностей воздействия внешней среды, как экспрессивного фактора специфически стимулирующего экспоненциальное размножения возбудителя в процессе колонизации пульмональных тканей, индуцируется *P. multocida* в стационарных условиях содержания после воздействия биострессов (ВПГ-3, вирус ИРТ, хламидии и др.), а после транспортного стресса резко увеличивается удельная роль в индукции пневмоний гемолитической пастереллы [1–4].

Цель работы: определить этиологию первичной пульмональной патологии эндогенного происхождения факторного типа без эстафетной передачи возбудителя при двух принципиально различных способах неблагоприятного воздействия внешней среды – биостресса и транспортного стресса.

Материалы и методы. Были проведены перманентный серологический мониторинг динамики антителогенеза к Аг вирусов ПГ-3 в РЗГА, ИРТ в РА, хламидий в РСК, К-Аг *P. multocida* в РНГА и исследование резистентности, определение ОФР (ФИ, ФА), ЛАСК, БАСК по общепринятым методикам.

Бактериологическое исследование биоматериала осуществляли рутинными методами. Идентификацию пастерелл проводили согласно определителю Берджи [1997].

Статистическую обработку количественных данных проводили по Платонову А.Е. [2000] и Ашмарину И.П. [1962].

Результаты исследований и обсуждения. В учхозе «Коммунар» Крымского СХИ сформировали рандомизированную группу телят-аналогов в 2-х недельном возрасте из 30 голов и наблюдали до 4-х месячного возраста. Провели комплексный клинико-эпизоотологический мониторинг респираторной патологии в стационарных условиях содержания.

После перевода телят из профилактория в общий телятник началась энзоотия ОРВИ, индуцированная ВПГ-3. Диагноз установили серологически, по 4-х кратному подъему титров к ВПГ-3, с $6,3 \pm 0,01$ до $10,0 \pm 0,03 \log_2$. Показатели неспецифической резистентности снизились. Как осложнение и продолжение парагриппозной инфекции возникла первая волна эндогенных пастереллезных пневмоний, вызванных *P. multocida*, которые протекали остро и были обусловлены преимущественно сероваром А. Через 4–5 недель начался пролонгированный период спорадических заболеваний пульмональной формой пастереллеза, протекающих подостро и хронически, и обусловленных чаще сероваром D. Титры Ат к Аг вируса ИРТ и хламидий стали повышаться до диагностических величин в 4-х месячном возрасте: к вирусу ИРТ титр Ат увеличился до $3,61 \pm 0,09 \log_2$; - к Аг хламидий до $3,17 \pm 0,07 \log_2$. Как следствие биостресса, пульмональные пастереллезы опосредовались в 3–4-х месячном возрасте сероваром D. От больных животных из пневмонийных локусов были выделены чистые культуры патогенной *P. multocida* и депонированы в ГНКИБШМ (г. Киев).

Культуру *P. multocida*, серовар А, штамм № 12 изолировали из секционного материала от теленка, павшего на 12 сутки заболевания (возраст – 53 суток) от злокачественного течения острой некротизирующей катарально-фибринозной пневмонии. Пастереллы выделялись из легких, регионарных лимфоузлов, селезенки, печени.

Культуру *P. multocida*, серовар D, штамм № 3 изолировали из секционного материала от вынужденно убитого 2-месячного теленка, болевшего фибринозно-некротической бронхопневмонией с подострым течением в очень тяжелой форме. Пастереллы выделялись из легких, регионарных лимфоузлов, селезенки, печени.

Культуру *P. multocida*, серовар В, штамм № 31 изолировали из секционного материала от теленка, павшего на 5 сутки заболевания (возраст – 42 суток) от тяжелой формы респираторного синдрома в виде злокачественно протекающего, сверхострого катарально-геморрагического воспаления легких с септическим компонентом в патогенезе пульмонального эндогенного пастереллеза. Пастереллы выделялись из легких, регионарных лимфоузлов, селезенки, печени, крови сердца и костного мозга трубчатой кости.