УДК 619:616.98
doi: 10.36359/scivp.2020-21-1.02

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ПРОФІЛАКТИКИ РЕОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПТИЦІ

І. К. Авдосьєва, канд. вет. наук,
І. Я. Коцюмбас, д-р вет. наук, проф., академік НААН,
О. Б. Басараб, старший науковий співробітник,
В. В. Регенчук, завідувач сектору,
І. Л. Мельничук, старший науковий співробітник

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
irena361@i.ua

В даний час реовірусна інфекція завдає значних економічних збитків промисловому птахівництву в усьому світі. Втрати в результаті захворювання складаються із: 1) прямих втрат – загибелі курчат (5–30 %), підвищеного вибракування через кульгавість, низьких приростів живої маси (до 40 %), зниження категорій тушок, зменшення несучості на 6–20 %; в племінних господарствах відзначають зниження статевої активності птиці, що є причиною зменшення запліднення-виводимості; 2) непрямих втрат, пов'язаних з витратами на ліквідацію наслідків первинних втрат, а також з імуносупресивною дією реовірусів, що сприяють збільшенню ризику виникнення інших інфекцій та пригнічує формування поствакцинального імунітету.

Реовірус проявляє імуносупресивну дію на організм хворої птиці, що, можливо, є причиною прояву таких захворювань, як синдром малоабсорбції і синдром підвищеної загибелі птиці. Синдром малоабсорбції, який може бути викликаний реовірусом, характеризується уповільненням зростання, низьким індексом конверсії корму і ураженням кісток птиці, що стає очевидним до 2-тижневого віку і пізніше. Синдром розладу всмоктування характеризується збільшенням залозистого шлунка, іноді з некрозом і ознаками катарального геморагічного ентериту. Захворюваність становить у середньому від 5 до 15 %, але може досягати до 40 %.

При вивченні патогенезу реовірусної інфекції встановлено, що кишечник є основною мішенню вірусу незалежно від способу його введення. Після орального або аерогенного зараження збудник попадає у кров і, в результаті віремії, швидко розноситься в різні органи і тканини. Зокрема, вірус вдається виділити з кишечнику, сумки Фабриціуса, печінки, підшлункової залози, серця, нирок, суглобів і сухожилок.

При проведенні серологічних досліджень у ІФА (тест-система фірми IDvet Франція) наявність антитіл у сироватках крові бройлерів до реовірусу рівень яких коливався з 40-52 добу в межах від 1125 до 5138 свідчить про циркуляцію польового вірусу реовірусної інфекції. При дослідженні сироваток крові бройлерів на 2, 3 ,7 добу вирощування специфічних антитіл до реовірусу не виявлено. Починаючи з 14-ої доби середній титр АТ до реовірусу становив 1989 та рівень їх у 21, 28, 35 та 45 добу коливався від 3478 до 4825. Встановлено збільшення середнього титру АТ, а саме: у 1,4 раза (21 доба); у 2,3 раза (35 доба) та на 45 добу – у 2,4 раза. Ці дані свідчать про циркуляцію польового штаму реовірусної інфекції. Вставлено, що при завершені відгодівлі бройлерів при ураженні реовірусом маса тіла була нижча від технологічної норми на 9,8 %. При визначенні специфічних АТ до реовірусу в сироватках крові від різновікових груп бройлерів 11 партій, в тому числі від батьківського птахопоголів'я: 9

партій невакцинованого проти реовірусної інфекції та 2 партій від вакцинованого поголів'я встановлено: наявність АТ до реовірусу в сироватках крові бройлерів серед 9 партій, одержаних від невацинованого батьківського поголів'я, свідчить про циркуляцію польового штаму. Відсоток специфічних АТ у 2 партіях, отриманих від батьківських стад, що були вакциновані проти реовірусної інфекції, коливався у межах 87,5-100, що свідчить про ефективність проведеної вакцинації. Для контролю за реовірусною інфекцією необхідно проводити серологічний моніторинг у птахівничих господарствах

Ключові слова: ПТИЦЯ, РЕОВІРУС, ЕПІЗООТИЧНА СИТУАЦІЯ, ІФА.

MODERN APPROACHES TO THE PREVENTION OF REO-VIRUS BIRD INFECTION

I. K. Avdosieva, I. Ya. Kotsjumbas, O. B. Basarab, V. V. Regenchuk, I. L. Melnychuk

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine,
irena361@i.ua

Currently, reo-virus infection causes significant economic damage to industrial poultry worldwide. Losses as a result of the disease consist of: 1) direct losses - death of chickens (5-30 %), increased culling due to lameness, low weight gain (up to 40 %), reduction of carcass categories, reduction of laying by 6-20 %; in breeding farms, a decrease in the sexual activity of poultry is observed, which is the reason for the decrease in fertilization - derivability; 2) indirect losses associated with the cost of eliminating the effects of primary losses, as well as the immune-suppressive effect of reo-viruses, which increase the risk of other infections and inhibit the formation of post-vaccine immunity. Reo-virus has an immune-suppressive effect on the sick bird, which may be the cause of such diseases as small absorption syndrome and syndrome of increased bird death. Small absorption syndrome, which can be caused by reo-virus, is characterized by slowing growth, low feed conversion index and damage to the bones of the bird, which becomes apparent until 2 weeks of age and later. The syndrome of absorption is characterized by an increase in glandular stomach, sometimes with necrosis and signs of catarrhal hemorrhagic enteritis. The incidence is on average 5 to 15 %, but can reach up to 40 %.

In studying the pathogenesis of reo-virus infection, it was found that the intestine is the main target of the virus, regardless of the method of its introduction. After oral or aerogenic infection, the pathogen enters the bloodstream and, as a result of viremia, is rapidly spread to various organs and tissues. In particular, the virus can be isolated from the intestines, bursa of Fabricius, liver, pancreas, heart, kidneys, joints and tendons. When conducting serological studies in ELISA (test system company IDvet, France), the presence of antibodies in the blood of broilers to reo-virus level ranged from 40-52 days in the range from 1125 to 5138 indicates the circulation of the field virus of reo-virus infection. In the study of broiler sera for 2, 3, 7 days, the cultivation of specific antibodies to reo-virus was not detected. Starting from the 14th day, the mean titer of AO to reo-virus was 1989 and their levels ranged from 3478 to 4825 at 21, 28, 35 and 45 days. 2.3 times (35 days) and 45 days 2.4 times.

These data indicate the circulation of a field strain of reo-virus infection. It was inserted that at completion of broiler fattening with reo-virus lesion, body weight was lower than the technological norm by 9.8%. When determining specific BP for reo-virus in sera from different age groups of broilers of 11 batches, including from poultry: 9 batches of non-vaccinated against reo-virus infection and 2 batches of vaccinated poultry have determined the number of BPs in serum among the 9 batches received from the unvaccinated parent stock, there is evidence of field strain circulation. The percentage of specific AOs in 2 batches received from parental herds vaccinated against reo-virus

infection ranged from 87.5-100, indicating the effectiveness of the vaccination. To control reo-virus infection, serological monitoring in poultry farms should be carried out.

Keywords: BIRD, REO-VIRUS, EPIZOOTIC SITUATION, ELISA.

В даний час реовірусна інфекція завдає значних економічних втрат промисловому птахівництву в усьому світі. Збитки в результаті захворювання складаються із: 1) прямих втрат – загибелі курчат (5–30 %), підвищеного вибракування через кульгавість, низьких приростів живої маси (до 40 %), зниження категорій тушок, зменшення несучості на 6–20 %; в племінних господарствах відзначають зниження статевої активності птиці, що є причиною зменшення запліднення-виводимості; 2) непрямих втрат, пов'язаних з витратами на ліквідацію наслідків первинних втрат, а також з імуносупресивною дією реовірусів, що сприяють збільшенню ризику виникнення інших інфекцій та пригнічує формування поствакцинального імунітету.

Реовірусна інфекція – (теносиновіт курей (ТСК), тендосиновіт, вірусний артрит, "слабість ніг", синовіт, артрит, інфекційний синусит індиків) – контагіозне захворювання, яке характеризується ураженням синовіальних мембран, сухожилків та суглобів кінцівок, підвищеною загибеллю молодняку, зниженням несучості і виводимості курчат та індичат.

Вперше вірус був виділений в США в 1968 році у бройлерів, а в 1974–1975 рр. в Україні були виділені епізоотичні штами збудника від курей, індиків, гусей та вивчені їх фізико-хімічні властивості, запропоновані методи (РДП і РНГА) для діагностики захворювання.

Збудником хвороби є РНК-вмісний реовірус, який має зовнішній та внутрішній капсиди та двошарову оболонку, розмножується в цитоплазмі. Вірус не викликає гемаглютинацію еритроцитів птиці та не патогенний для лабораторних мишей. Реовіруси птиці розділяють на 5 серотипів. Реовіруси птиці стійкі до дії ультрафіолетового опромінення, зберігають здатність до репродукції за pH 2 - 8, малочутливі до ряду дезінфікуючих речовин, стійкі до ефіру та хлороформу. Ліофілізований вірус зберігає інфекційність протягом 5 і більше років, а життєздатність зберігає за температури до 20 ºС протягом 5 місяців; інактивується за температури 35 ºС під дією 3 % розчину лугу та 70 % розчину етилового спирту, за температури 56 ºС під дією 3 % розчину формаліну протягом 30 хвилин (Kelnec et al., 2003; Bessarabov et al. (2007). Захворювання перебігає у гострій, підгострій, хронічній та субклінічній (латентній) формах. Перехворіла птиця стає тривалим вірусоносієм.

За інфікування вірулентним штамом реовірусу добових курчат, індичат, гусенят інкубаційний період триває 48-72 години. Серед молодняку спостерігають діарею, пригнічення, на 5-10 добу збільшується його загибель на 2-5 % та вище. У перехворілих гусенят та індичат може розвинутися інтраорбітальний синусит, кон’юнктивіт.

Для хронічного перебігу хвороби характерні такі симптоми: молодняк відстає в рості, малорухливий, розвиваються теносиновіти, за яких спостерігається неправильна постава кінцівок, кульгавість.

За підгострого перебігу інфекції у 10-30-діб інкубаційний період триває 2-12 діб і більше, а загибель птиці становить 1,5-5 %. У майбутньому очікуваної продуктивності від перехворілої птиці не отримують.

У курчат м’ясних порід 5-тижневого, а яєчних – 9-10-тижневого віку з’являються набряки навколо суглобів кінцівок. Птиця кульгає, пересування утруднене. У разі затяжного перебігу хвороба переходить у хронічну форму, при цьому нерідко відбувається розрив сухожилків кінцівок, що частіше реєструють у дорослої птиці в ділянці гомілки, розвиваються артрити.

У дорослої птиці хвороба перебігає хронічно, загибель становить 1-2 %, вибраковка - понад 20 %, несучість знижується на 20 %. Спостерігається 20-30 % курей з ознаками виснаження та кульгавості. Хворі індики та гуси не поїдають добову норму корму, швидко худнуть, спостерігається діарея та інтраорбітальний синусит.

За гострого перебігу хвороби загибель становить :серед молодняку птиці м'ясного напрямку бройлерів – 5-18 %, індичат та гусенят – до 50 %, каченят – до 100 %.

При патолого-анатомічному розтині трупів птиці неускладнених форм захворювання спостерігається катаральний ентерит, збільшення нирок, атрофія фабриціївої бурси, некротичні фокуси в печінці, селезінці, серцевий м'яз в'ялий, підшлункова залоза гіперемійована. У курчат спостерігають провентрикуліт, потоншення м'язового шлунка, набряки суглобів тазової кінцівки.

Діагноз встановлюють на підставі аналізу епізоотичної ситуації регіону, господарства, клінічних ознак, наявності характерних патолого-анатомічних змін, результатів серологічних досліджень (Instruktsiya, 2018).

Для вірусологічного дослідження направляють свіжі (не пізніше двох годин після загибелі) трупи, тушки вимушено забитої птиці, живий молодняк птиці (не менше п'яти голів) з вираженими клінічними ознаками захворювання або стерильно відібраний патологічний матеріал (вміст інтраорбітальних синусів, уражені суглоби, нирки, частки запаленого кишечника без вмісту). Зразки патологічного матеріалу відбирають з дотриманням правил асептики. Транспортують відібраний патологічний матеріал у термосі з льодом за температури не вище 1–4 °С або консервують 30-50 % розчином хімічно чистого гліцерину на стерильному фізіологічному розчині. Фізіологічний розчин попередньо автоклавують за температури 120 °С протягом 30 хвилин.

Для серологічних досліджень відбирають 25 проб сироваток крові від птиці однієї партії чи яйця і досліджують на РДП, РН, РНГА, ІФА (Avdosjeva et al., 2019). Встановлюючи діагноз, слід враховувати можливість змішаного перебігу цієї хвороби з деякими іншими інфекціями.

До теперішнього часу в літературі накопичилося достатньо відомостей про виділення реовірусу за різних патологічних процесів у курчат, що проявляється у вигляді ентериту, синовіту, міокардиту, перикардиту, сальпінгіту, «синдрому поганого всмоктування», «синдрому поганого оперення» тощо. Однак, вважати, що реовірус птиці є єдиним етіологічним агентом широкого кола хвороб з такими різними клінічними ознаками, немає достатніх підстав. Винятком є вірусний артрит або теносиновіт, при якому етіологічне і патогенетичне значення вірусу доведені повністю.

Встановлено, що реовірус проявляє імуносупресивну дію на організм хворої птиці, що, можливо, є причиною прояву таких захворювань, як синдром малоабсорбції і синдром підвищеного відходу птиці. Синдром малоабсорбції, який може бути викликаний реовірусом, характеризується уповільненням зростання, низьким індексом конверсії корму і ураженням кісток птиці, що стає очевидним до 2-тижневого віку і пізніше. Синдром розладу всмоктування характеризується збільшенням залозистого шлунка, іноді з некрозом і ознаками катарального геморагічного ентериту. Захворюваність становить в середньому від 5 до 15 %, але може досягати до 40 %.

При вивченні патогенезу реовірусної інфекції встановлено, що кишечник є основною мішенню вірусу, незалежно від способу його введення. Після перорального або аерогенного зараження збудник попадає в кров і, в результаті віремії, швидко розноситься в різні органи і тканини. Зокрема, вірус вдається виділити з кишечнику, сумки Фабриціуса, печінки, підшлункової залози, серця, нирок, суглобів і сухожилків.

Широке поширення реовірусу птиці, його стійкість, зменшення санітарних розривів між посадками, висока концентрація пташиної популяції говорить про те, що викорінення реовірусної інфекції в господарствах є проблематичним. Крім того, реовірус володіє імунодепресивною дією, що призводить до збільшення сприйнятливості до інших інфекцій. Реовірусний теносиновіт провокує і загострює основне захворювання, обумовлюючи в подальшому його приховану циркуляцію протягом довшого часу без явних клінічних ознак. У перехворілої птиці відзначають авітаміноз, сповільнене зростання, погане опірення,

викривлення кісток і аномалії скелета, остеопороз, підвищену ранню смертність, зниження рівня розплоду, імунодепресію. У племінних господарствах відзначають зниження статевої активності птахів, що є причиною зменшення заплідненості і виводимості інкубаційних яєць. Тому важливо правильно діагностувати реовірусний теносіновіт, використовуючи епізоотологічні, клінічні, патологоанатомічні дані, вірусологічні та серологічні дослідження. Для попередження заносу інфекції необхідно дотримуватися ветеринарно-санітарних правил і застосовувати засоби специфічної профілактики – живі та інактивовані вакцини проти реовірусної інфекції та проводити серологічний моніторинг на наявність специфічних антитіл до реовірусу.

Мета роботи – встановити циркуляцію реовірусу серед різновікових груп бройлерів та вплив на живу масу при вирощуванні бройлерів; дати оцінку чутливості тест-системи фірми IDvet (Франція) для виявлення антитіл до реовірусу непрямим імуноферментним методом у сироватках крові бройлерів при проведенні серологічного моніторингу.

Матеріали і методи. Бройлери кросу РОСС-308, КОББ-500, сироватки від різновікових груп бройлерів, імуноферментна система фірми IDvet (Франція) для виявлення антитіл до реовірусу непрямим імуноферментним методом, мікропланшети (плашки), одно- та восьмиканальні піпетки, наконечники.

Результати й обговорення. В серологічних дослідженнях визначали рівень антитіл до реовірусної інфекції у сироватках крові від різновікових груп бройлерів. Серологічні дослідження проводили за допомогою тест–набору системи фірми IDvet (Франція).

Середні титри до реовірусної інфекції серед різновікових груп птиці наведені на рис. 1.

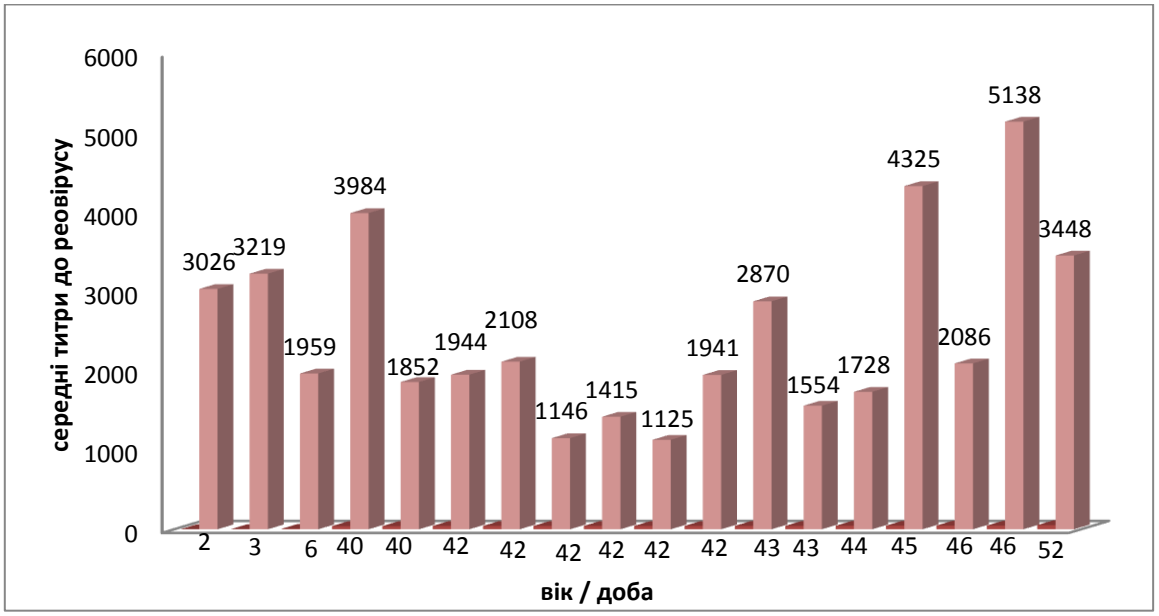


Рис.1. Середні титри антитіл до реовірусу серед різновікових груп бройлерів

У результаті проведених серологічних досліджень у ІФА (тест-система фірми IDvet, Франція) наявність антитіл у сироватках крові бройлерів до реовірусу рівень яких коливався з 40-52 добу в межах від 1125 до 5138 свідчить про циркуляцію польового вірусу реовірусної інфекції.

Результати досліджень сироваток крові в динаміці від бройлерів на наявність специфічних антитіл до реовірусу в ІФА та вплив його на живу масу тіла упродовж вирощування, шляхом зважування курчат на 1, 7, 14, 21, 35 та 42 добу наведені на рисунках 2, 3.

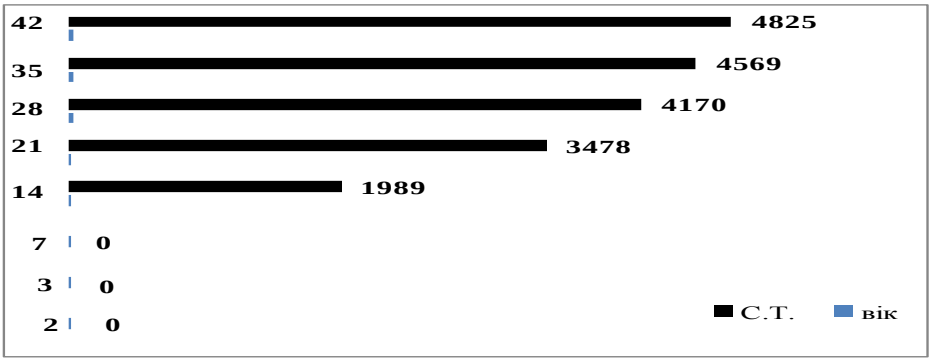


Рис. 2. Динаміка середніх титрів антитіл до реовірусу у сироватках бройлерів

При дослідженні сироваток крові бройлерів на 2, 3 ,7 добу вирощування специфічних антитіл до реовірусу не виявлено. Починаючи з 14-ої доби середній титр АТ до реовірусу становив 1989 та рівень їх у 21, 28, 35 та 45 добу коливався від 3478 до 4825. Встановлено збільшення середнього титру АТ, а саме: у 1,4 раза (21 доба); у 2,3 раза (35 доба) та на 45 добу – у 2,4 раза. Ці дані свідчать про циркуляцію польового штаму реовірусної інфекції. Дані живої маси тіла бройлерів при ураженні реовірусом наведені на рисунку 3.

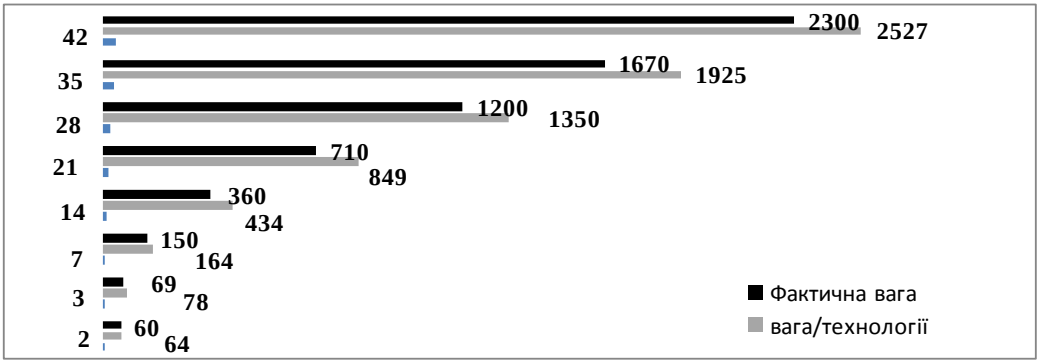


Рис. 3. Динаміка живої маси тіла бройлерів при ураженні реовірусом

Встановлено, що при завершені відгодівлі бройлерів при ураженні реовірусом маса тіла була нижча технологічної норми на 9,8 %.

Для контролю за епізоотичною ситуацією щодо розповсюдження реовірусної інфекції птиці застосовують серологічні методи діагностики з виявленням в сироватках крові специфічних антитіл до реовірусу в реакції нейтралізації (РН), реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) та імуноферментним аналізом (ІФА). Нами був використаний тест-набір IDvet для непрямого імуноферментного аналізу з метою кількісного визначення антитіл до реовірусної інфекції птиці та контролю визначення ефективності вакцинацій.

Суть методики за допомогою тест-набору IDvet. При внесенні в лунки мікропланшетів, що сенсибілізовані очищеним антигеном реовірусу зразків досліджуваних сироваток і контролів, антитіла, специфічні до даного вірусу, зв’язуються на твердій фазі з антигенами, утворюючи комплекс антиген-антитіло.

Після етапу промивки, в лунки вноситься специфічний імуноферментний кон`югат, мічений пероксидазою, який зв'язується з антитілами, утворюючи комплекси антиген-антитіло-кон'югат. Після промивки мікропланшету, в лунки додають субстратний розчин – хромоген (ТМБ). Пероксидазну реакцію зупиняють, додаючи стоп-реагент.

Забарвлення розчину в лунках свідчить про відсутність або наявність в досліджуваних зразках антитіл, специфічних до реовірусу:

– при наявності антитіл розчин набуває синього кольору, який стає жовтим після додавання стоп-реагенту;

– при відсутності антитіл розчин не забарвлюється.

Оптичну щільність розчину вимірюють фотометром при довжині хвилі 450 нм.

Нами було проведено визначення специфічних АТ до реовірусу в сироватках крові від різновікових груп бройлерів 11 партій, в тому числі від батьківського птахопоголів'я: 9 партій невакцинованого проти реовірусної інфекції та 2 партій від вакцинованого поголів'я Результати визначення специфічних АТ до реовірусу в ІФА за допомогою тест-набору IDvet (Франція) наведені у таблиці.

Таблиця

Дані серологічних досліджень сироваток крові бройлерів на наявність антитіл до реовірусу в ІФА(IDvet,Франція)

Номери партій	Господарства	Вік, Доби	Тест набір IDvet		
			Середні титри АТ	%CV	% , АТ
1	ТзОВ «М'ясний дім»	6	1959	45	91,67
2	ТзОВ «Агропродсервісвест»	42	1944	53	75
3*	СФГ Крупецьагроптиця	42	2108	69	87,5
4*	СФГ «Крупецьагроптиця»	40	3984	43	100
5	ф/г «Яйце-Райце	45	4325	89	100
6	Тзов «БродиАгропродукт»	44	1728	51	100
7	ТзОВ Агролайфтранссервіс	2	3026	37	100
8	ТзОВ Агролайфтранссервіс	42	1146	63	62,5
9	ТзОВ Агролайфтранссервіс	42	1415	92	50
10	ТзОВ Агролайфтранссервіс	42	1125	45	62,5
11	ф/г «Речичани»	3	3219	24	100

Примітка: * - вакциновані проти реовірусної інфекції 3 та 4 партія

Наявність АТ до реовірусу в сироватках крові бройлерів серед всіх партій, окрім 3 та 4, свідчить про циркуляцію польового штаму серед господарств. Відсоток специфічних АТ у 3 та 4 партіях, отриманих від батьківських стад, що були вакциновані проти реовірусної інфекції, коливався у межах 87,5-100, що свідчить про ефективність проведеної вакцинації.

В И С Н О В К И

1. У результаті проведених серологічних досліджень в ІФА (тест-система фірми IDvet, Франція) наявність антитіл у сироватках крові бройлерів до реовірусу, рівень яких коливався з 40-52 добу в межах від 1125 до 5138, свідчить про циркуляцію польового вірусу реовірусної інфекції.

2. Встановлено, що при завершені відгодівлі бройлерів при ураженні реовірусом маса тіла була нижча від технологічної норми на 9,8 % .

3. Відсоток специфічних АТ у 2 партіях у, отриманих від батьківських стад, що були вакциновані проти реовірусної інфекції, коливався межах 87,5-100, що свідчить про ефективність проведеної вакцинації.

4. Для контролю за реовірусною інфекцією необхідно проводити серологічний моніторинг у птахівничих господарствах.

5. Відбір зразків крові для проведення досліджень в ІФА на наявність антитіл до реовірусу необхідно здійснювати у такі терміни:

– племінне стадо: 1-4 доба – для визначення терміну першої вакцинації; 7-10 доба – коректується перша вакцинація; 70 та 110-120 доба – моніторинг захворювання; 150-160 доба

– контроль титрів антитіл після вакцинації та моніторинг захворювання на початку яйцекладки; 250-260 доба – контроль титрів антитіл у середині яйцекладки; 380-420 доба – контроль титрів антитіл у кінці яйцекладки;

– товарне стадо: 1-10 доба, 21-40 доба, 100-120доба, 200-280 доба, 380-420 доба.

– бройлери: 1-6 доба, 30-35 доба, 42-45 доба (після завершення відгодівлі).

Перспективи досліджень. Будуть розроблені схеми проведення специфічної вакцинації проти реовірусних інфекцій.

References

Avdosjeva, I.K., Regenchuk, V.V., Basarab, O.B., Melnychuk, I.L., Kalinina, O.S., Chajkovska, O.I. (2019). Vyjavlennya antytil do reovirusnoji infectsii ptytsi v IFA za dopomogoyu test-naboru (Metodychni rekomendatsii). Lviv. 18.

Bessarabov, B.F. et al. (2007). Reovirusnaya infectsiya kur (tenosinovit). Bolezni ptits: uchebnoye posobiye. Sanct-Peterburg. 138-144. [in Russian].

Instruktsiya z profilaktyky ta likvidatsii reovirusnoji infectsii. Zatverdzhena nakazom Ministerstva agrarnoji polityky ta prodovolstva N 269 vid 14 chervnya 2018.

Kelnec, B.U. et al. (2003). Perevod s anglijskogo Grigorjevoj I. 10-e izdaniye. M.: Akvarium Buk. 1232.