



УДК 636.5:616.98:616-079

## РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ГЕМОФИЛЕЗА ПТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

### AVIAN HEMOPHILIA RETROSPECTIVE DIAGNOSTICS WITH AGGLUTINATION REACTION USAGE



**Рузина А.В.**, научный сотрудник лаборатории болезней птиц

*A.V. Ruzina, poultry diseases laboratory researcher*

**Рождественская Т.Н.**, заведующая лабораторией болезней птиц, д-р вет. наук

*T.N. Rozhdestvenskaya, head of poultry diseases laboratory, Dr. Sci. in Veterinary Medicine*

ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва

*FSBSI "Federal Scientific Center — All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko RSA" (FSBSI FSC ARIEVM RSA), Moscow*

**Панкратов С.В.**, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, канд. вет. наук

*S.V. Pankratov, assistant of microbiology, virology and immunology department, PhD in Veterinary Medicine*

ФГБОУ ВО «С.-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ), С.-Петербург

*FSBEI HE "S.-Petersburg State University of Veterinary Medicine" (FSBEI HE SPSUVM), S-Petersburg*

**Томина Е.В.**, начальник отдела контроля качества

*Ye.V. Tomina, head of quality control department*

ООО «Научно-производственное предприятие «АВИВАК», С.-Петербург

*LRS "Scientific Production "Avivac" Enterprise", S-Petersburg*

**Аннотация:** Разработан набор для выявления специфических антител к возбудителю гемофилеза птиц *A. paragallinarum* серотипов А, В и С с использованием реакции агглютинации. Использование набора позволит регулярно оценивать эпизоотическую ситуацию по гемофилезу птиц на предприятии и эффективно контролировать напряженность поствакцинального иммунитета у поголовья.

**Abstract:** Kit has been developed for specific antibodies detection for avian hemophilia causative agent *A. paragallinarum* A, B and C serotypes with agglutination reaction usage. New kit usage will give possibility to evaluate regularly epizootic situation with avian hemophilia at enterprises and to control effectively postvaccination immunity tension in stock.

**Ключевые слова:** гемофилез птиц, *Avibacterium paragallinarum*, серотипы, микст инфекции, реакция агглютинации.

**Key Words:** avian hemophilia, *Avibacterium paragallinarum*, serotypes, infection mixt, agglutination reaction.

Гемофилез (инфекционный ринит, заразный насморк, «совиная голова», кориза) — инфекционное заболевание птиц, характеризующееся катаральным воспалением слизистых оболочек носовой полости и подглазничных синусов, конъюнктивитом и отеками в подкожной клетчатке лицевой части головы [1].

Возбудитель болезни *Avibacterium paragallinarum* (серотипы А, В и С) представлен мелкими граммотрицательными, как правило, не образующими спор неподвижными бактериями, имеющими форму кокков или полиморфных палочек [2, 3, 4]. В мазках из 48–60-часовых культур коккобактерии принимают вид фрагментов с плохо очерченными формами.

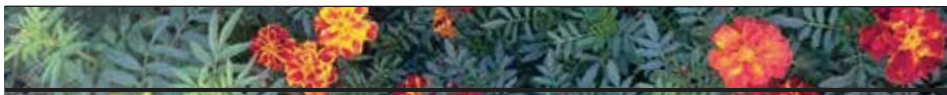
Ширина *A. paragallinarum* составляет 0,4–0,8 мкм, длина — 1–3 мкм [5].

Гемофилез причиняет промышленному птицеводству значительный экономический ущерб, который складывается преимущественно из резкого снижения яичной продуктивности и уменьшения приростов птицы, особенно бройлеров, повышенного отхода поголовья, а также из затрат на проведение профилактических и лечебных мероприятий [3].

Гемофилез регистрируется у кур всех возрастов, за исключением 3–5-дневных цыплят, устойчивых к инфекции [5]. Наиболее чувствительными к заражению являются птицы старше 4-недельного возраста [2]. Как правило, гемофилезом болеют

куры на крупных птицефабриках. Возникновение болезни происходит главным образом при наличии в хозяйстве микст-инфекций, совместном содержании разновозрастных птиц, дефиците витамина А в их рационе, повышенной концентрации аммиака в воздухе и при других нарушениях зооигиенических условий содержания и кормления поголовья [3, 5]. Вспышки болезни чаще происходят в осенне-зимний период, т.е. в условиях низкой температуры и повышенной влажности воздуха [5].

Заражение происходит алиментарно, аэрогенно и контактно. Источником инфекции служат больные и переболевшие птицы, являющиеся бактерионосителями в течение



6–12 мес., после того как переболели. Возбудитель выделяется в окружающую среду с истечениями из носовых отверстий, глаз и с выдыхаемым воздухом. Факторами передачи служат инфицированные предметы ухода, корм, инвентарь. Вопрос о возможной вертикальной передаче возбудителя инфекции в настоящее время остается спорным [3].

На сегодняшний день в Российской Федерации отсутствуют законодательно утвержденные рекомендации по диагностике гемофилеза птиц. Как отмечают специалисты профильных научно-исследовательских институтов, при постановке диагноза необходимо руководствоваться результатами эпизоотологических, клинических, патоморфологических и лабораторных анализов.

Основным методом для постановки окончательного диагноза является бактериологический. Бактериологическая диагностика гемофилеза занимает 5–10 дней и предполагает проведение микроскопического исследования, изучение культуральных свойств возбудителя и постановку биопробы [4].

Для идентификации *A. paragallinarum* может быть использован метод ПЦР, в том числе в режиме реального времени [1]. К преимуществам его использования относится возможность определить возбудителя в пробах патологического материала, хранившихся более 3 дней, пробах, контаминированных другими патогенными агентами или апатогенными видами *Avibacterium*, а также в патологическом материале, полученном от птиц, прошедших антибиотикотерапию [8]. К недостаткам метода ПЦР относится его высокая стоимость, невозможность определить патогенность выделенного возбудителя и его чувствительность к антибиотикам, а также более низкая эффективность в сравнении со стандартными методами серотипирования [9].

При диагностике гемофилеза птиц и оценке поствакцинального иммунного ответа серологические методы используются по ряду причин с переменным успехом [10]. В литературных источниках содержатся сведения об исследовании сывороток крови путем постановки РА, РНГА,

РТГА, ИФА. Применение РА и РТГА позволяет осуществить серотипирование возбудителя [7].

Так, результаты серотипирования выделенных изолятов показали, что на территории Германии циркулируют серотипы А и В, в Японии, Австралии, Индонезии и Малайзии — А и С, в Китае — А и на Тайване — С. Все 3 серотипа были выделены также у птиц, содержащихся на птицефабриках Испании, Аргентины, Бразилии, Филиппин, Мексики и Германии [12]. Изоляты, выделенные из патологического материала, полученного от птиц, содержащихся на российских птицефермах, относились к серотипу В [3].

Необходимо отметить, что отсутствие программы и коммерческих наборов для мониторинга гемофилеза птиц не позволяет в полной мере оценить масштаб его распространения [6].

Для решения этого вопроса нами был разработан набор для выявления специфических антител к возбудителю гемофилеза птиц *A. paragallinarum* серотипов А, В и С с использованием реакции агглютинации.

В набор входят инактивированные антигены *A. paragallinarum* серотипа А — штамм В-7770, серотипа В — штамм 1130917/ АтшВ и серотипа С — штамм 150215/ТулаС2, расфасованные в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками.

Принцип действия компонентов набора основан на агглютинирующих свойствах антигенов *A. paragallinarum*, которые вступают во взаимодействие со специфическими антителами, содержащимися в сыворотке крови птиц. В результате образуются хлопья или зернистость с полным просветлением реакционной среды.

Исследуемые образцы сыворотки крови птиц до постановки реакции можно хранить при температуре 4–8°C не более 3 сут. или в замороженном состоянии — при минус 20°C — в течение 50–60 сут.

Перед постановкой реакции исследуемые образцы необходимо прогреть на водяной бане при температуре 56–57°C в течение 30 мин,

а другие компоненты, используемые для постановки РА, выдержать не менее 30 мин при температуре 21±2°C. Флаконы с антигенами перед применением следует тщательно встряхнуть.

После инактивации из исследуемых сывороток готовят на фосфатно-буферном растворе двукратные разведения: от 1:2 до 1:512. Каждое разведение сыворотки в объеме 100 мкл наносят на отдельное предметное стекло, после чего добавляют к нему 100 мкл антигена определенного серотипа. Исследуемый материал смешивают с антигеном покачиванием предметного стекла. Процедуру следует проводить при комнатной температуре (22±1°C).

Учет результатов реакции проводят в смеси при хорошем освещении в течение 3 мин визуально.

Реакцию считают положительной, если в смеси исследуемого материала с антигеном появился агглютинат в виде выраженных хлопьев или зернистости с полным просветлением жидкости.

Реакцию считают отрицательной, если смесь исследуемого материала с антигеном имеет вид равномерной мутной взвеси с возможным образованием неспецифических хлопьев.

За титр антител принимают наибольшее разведение сыворотки, дающее положительный результат.

Данные, получаемые при использовании разработанного нами набора для выявления специфических антител к возбудителю гемофилеза *A. paragallinarum* серотипов А, В и С в сыворотках крови птиц, позволяют регулярно оценивать эпизоотическую ситуацию по гемофилезу птиц на предприятии и эффективно контролировать напряженность поствакцинального иммунитета у поголовья.

## Литература

1. Рождественская Т.Н. Гемофилез птиц / Т.Н. Рождественская, Е.В. Кононенко, М.Г. Теймуразов // Птица и птицепереработка; спецпроект журнала Perfect agriculture. — 2017. — С. 36–40.
2. Крохин Н.Л. Вакцинопрофилактика, одно из ключевых звеньев в профилактике гемофилеза птиц / Н.Л. Крохин, М.Г. Теймуразов, Т.Н. Рождественская [и др.] //



Ветеринария и кормление. — 2018. — № 7. — С. 33–34.

3. Рождественская Т.Н. Гемофилез птиц / Т.Н. Рождественская, Е.В. Кононенко, С.А. Емельянова [и др.] // Птица и птицепродукты. — 2016. — № 4. — С. 50–53.

4. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц; вет. справочник / Под ред. Б.У. Кэлнека. — М.: Аквариум, 2011. — 1232 с.

5. Бакулин В.А. Болезни птиц / В.А. Бакулин. — СПб, 2006. — 688 с.

6. Евграфова В.А. Влияние некоторых физических и химических факторов на гемагглютинирующие свойства изолятов возбудителя инфекционного ринита (гемофилеза) кур / В.А. Евграфова, А.В. Потехин // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — 2017. — Т. 15. — С. 126–127.


7. Рождественская Т.Н. Испытание новых адъювантов SEPPIC для изготовления вакцин против гемофилеза птиц / Т.Н. Рождественская, С.В. Панкратов, Е.В. Сапегина [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. — 2020. — № 11. — С. 24–27.

8. Chen X. Evaluation of a PCR test for the detection of Haemophilus paragallinarum in China / X. Chen, Q. Chen, P. Zhang et al. // Avian Path. — 1998. — Vol. 27, iss. 3. — P. 296–300.

9. Morales-Erasto V. An evaluation of serotyping of Avibacterium paragallinarum by use of a multiplex polymerase chain reaction / V. Morales-Erasto, J. de J. Posadas-Quintana, M. Fernández et al. // J. of Veter. Diagnostic Investigation. — 2014. — Vol. 26, iss. 2. — P. 272–276.

10. Hongprasertkul P. Development of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for antibody detection against Avibacterium

paragallinarum [Electronic resource] / P. Hongprasertkul, W. Wanasawaeng, N. Chansiripornchai // The Thai J. of Veter. Medicine. — 2017. — Vol. 47, iss. 2. — P. 241–250. — URL: <https://www.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/90284/70925>.

11. Fernandez R.P. Characterization of Haemophilus paragallinarum isolates from Mexico / R.P. Fernández, G.A. García-Delgado, P. Ochoa et al. // Avian Path. — 2000. — Vol. 29, iss. 5. — P. 473–476. — DOI: 10.1080/030794500750047234. 

**Для контактов с авторами:**

**Рузина Анна Владимировна**

**Рождественская**

**Татьяна Николаевна**

**Панкратов Сергей Вячеславович**

**Томина Елена Владимировна**

**e-mail: avivac@list.ru**

### **СНОВА ПТИЧИЙ ГРИПП**

В России с начала 2021 года зарегистрировали 12 неблагополучных пунктов по высокопатогенному гриппу птиц (ВГП), сообщили в Федеральном центре охраны здоровья животных Россельхознадзора (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Вспышки отмечены в шести регионах: в Краснодарском крае, республиках Дагестан и Тыва, Ростовской, Астраханской и Тюменской областях. Восемь очагов выявлено в дикой фауне и четыре — среди домашних птиц.

— Среднесрочный прогноз на 2021 год можно охарактеризовать как «неблагоприятный», поскольку сохраняется угроза заноса вируса на территорию страны с перелетными птицами. Дальнейшее распространение ВГП H5Nx, возможность возникновения эпизоотии и интенсивность эпизоотического процесса будут зависеть от прямых и косвенных контактов диких птиц-вирусоносителей с домашними, — сообщил Михаил Волков, заведующий лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ».

По мнению ученого, сохраняется угроза новых заносов возбудителя из сопредельных стран Восточной Азии и Дальнего Востока, не исключены варианты заноса вирусов подтипов H5/H7 из Европы, Ближнего Востока и Центральной Азии, Северной Америки.

*Источник: <https://vetandlife.ru/>*

### **В КУЗБАССЕ ПОСЛЕ ДЕСЯТИЛЕТНЕГО ПРОСТОЯ ЗАРАБОТАЛА ПТИЦЕФАБРИКА**

На Мысковской птицефабрике, которая возобновила работу после десятилетнего простоя, в ближайшие годы реконструируют 22 корпуса для содержания птицы и увеличат мощность до 12 тысяч тонн мяса в год. Об этом рассказал министр сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности Кузбасса Андрей Ариткулов.

— В 2020 году на птицефабрике завершена комплексная модернизация производства: реконструированы убойный цех на четыре тысячи голов в час и шесть корпусов на 190 тысяч голов птицы, заработал новый инкубатор на 150 тысяч яиц, складской цех оснащен холодильным оборудованием объемом 500 тонн, обновлены системы электро- и водоснабжения», — рассказал министр.

*Источник: [fedpress.ru](https://fedpress.ru)*

### **ПТИЦЕВОДЫ ГЕРМАНИИ СТРАДАЮТ ОТ ПАДЕНИЯ ЦЕН**

В частности, производители индейки больше всех страдают от низких цен мясопереработчиков и высоких цен на корма. Птицеводческая промышленность борется с экономическими последствиями самой страшной эпидемии птичьего гриппа, когда-либо зарегистрированной в Германии.

В отчете о состоянии птицеводства в Германии ущерб оценивается в 30 миллионов евро. Кроме того, в результате закрытия кафе и ресторанов из-за пандемии спрос на мясо птицы упал. Многие птицеводы отказались от разведения птицы.

Таким образом, чтобы облегчить бремя для птицеводов, в отчете предлагается ввести взносы на защиту животных, которые должны выплачиваться в фонд розничными торговцами или ресторанами. Например, из этого фонда должна финансироваться реконструкция животноводческих помещений.

*Источник: <https://pticainfo.ru/news/>*