

ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ УТЯТ ТИПА I: ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА

Леонов Илья Константинович, старший научный сотрудник ФНЦ ВНИТИП РАН филиал ВНИВИП, leonov_ila@mail.ru

***Аннотация:** Вирусный гепатит утят отнесен Международным Эпизоотическим Бюро к перечню особо опасных заболеваний. В статье приведены основы диагностики и профилактики вирусного гепатита утят типа I.*

***Ключевые слова:** вирусный гепатит утят, специфическая профилактика, лабораторная диагностика.*

Введение. Вирусный гепатит утят типа I (инфекционный гепатит уток) – высоко контагиозная, сверхостро протекающая среди утят и латентно среди уток болезнь, с преимущественным поражением печени и большой смертностью молодняка. Вирусный гепатит утят (ВГУ) наносит значительный экономический ущерб утководческим хозяйствам, особенно промышленного типа, поскольку вызывает массовую гибель утят 1-30 – суточного возраста 30-95% и снижение продуктивности уток. Переболевшие утята отстают в росте и развитии, что ведет к частичной потере мясной продуктивности, нарушению племенной работы. Ущерб от ВГУ усугубляется затратами на ограничительные мероприятия, нарушающие экономику хозяйства, особенно когда болезнь принимает стационарный характер [2, 4, 7].

Диагностика вирусного гепатита утят типа I. Диагноз на ВГУ ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и подтверждается лабораторными исследованиями.

Эпизоотологические данные: болеют утята в первые 3-4 недели жизни, заболевание проявляется внезапно, гибель в первичных очагах достигает 90-100%; быстрота распространения и характерная динамика гибели: основной падеж на 3-5-е сут вспышки в данном выводке утят.

Клинические признаки: при остром течении болезни отмечается быстрая гибель утят в течение 1-5 ч с явлениями судорог. Больные отказываются от корма, появляются парезы, параличи, утята падают на бок; совершают плавательные движения лапками. Характерная поза погибших: лапки и крылышки вытянуты вдоль туловища, голова запрокинута на спину.

Патологоанатомические изменения: печень охряно-желтого цвета, увеличена, у многих на поверхности органа четко выделяются точечные, реже пятнистые кровоизлияния, желчный пузырь растянут густым содержимым, селезенка имеет сетчатый рисунок, почки кровенаполнены. Сосуды головного мозга полнокровны.

Лабораторная диагностика. Выделение вируса гепатита на развивающихся эмбрионах. Для выделения вируса используют развивающиеся 9-10 – суточные куриные или 10-12 – суточные утиные эмбрионы из благополучных по инфекционным болезням хозяйств. Инфицирование проводят в аллантаоисную полость суспензией патологического материала. Возможное присутствие вируса устанавливают по наличию

следующих изменений в эмбрионе: гиперемия зародыша в различной степени, отечность в области головы и шеи, печень серовато-коричневого цвета с очажками некроза, отставание в росте и развитии зародыша. Проводят 2-3 пассажа на куриных или утиных эмбрионах.

Выделение вируса на клеточных культурах. Для выделения и культивирования ВГУ используют первично-трипсинизированную культуру клеток, полученную из 9-10 – суточных куриных или 12-14 – суточных утиных эмбрионов.

Зараженные культуры инкубируют в течение 5-7 суток до появления выраженного цитопатогенного действия вируса.

Необходимо отметить, что ВГУ вызывает острую форму вирусной инфекции с характерным цитопатогенным действием:

- округление клеток и появление в них зернистости на отдельных участках монослоя клеток на 2-3 сутки после инфицирования культуры,
- формирование симпластов, дезинтеграция клеток значительной части монослоя и появление разрывов в нем,
- полная дегенерация монослоя и образование синцитиальных комплексов [5, 3].

Обнаружение РНК вируса с помощью обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Для обнаружения вирусной РНК используют патологический материал (печень, селезенка, почки, головной мозг) от больной птицы, а также эмбриональный или культуральный первичный изолят вируса [6].

Идентификация изолята вируса гепатита утят типа I

Реакцию нейтрализации ставят в α - варианте со стандартной специфической сывороткой на развивающихся эмбрионах или в культуре утиных фибробластов.

Для постановки реакции нейтрализации требуются изолят вируса, стандартная специфическая сыворотка к вирусу гепатита утят типа I и нормальная (отрицательная) сыворотка крови уток.

Учитывают гибель эмбрионов и наличие или отсутствие цитопатогенного действия в клетках. Вычисляют титр вируса в присутствии нормальной и специфической сыворотки. Затем определяют индекс нейтрализации, то есть разность показателей логарифмов титров вируса в присутствии нормальной и специфической сыворотки, она должна быть не менее 1,7 lg.

Реакция диффузионной преципитации в геле. Для постановки РДП требуются стандартная специфическая сыворотка, нормальная сыворотка, испытуемый изолят вируса, нормальный антиген, агар Дифко и хлорид натрия.

Специфическую сыворотку получают гипериммунизацией утят или кроликов вирусом гепатита утят. Антигеном служит экстраэмбриональная жидкость эмбрионов, инфицированных вирусом гепатита утят. Нормальные сыворотки получают от здоровых утят или кроликов, а нормальный антиген – от неинфицированных эмбрионов.

Учет реакции проводят через 24-72 ч по степени выраженности линий преципитации в крестах. Реакцию считают положительной при наличии четко выраженных линий преципитации между лунками с испытуемым изолятом вируса и специфической сывороткой и при отсутствии линий между испытуемым изолятом вируса и нормальной сывороткой.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) позволяет обнаружить возбудителя непосредственно в патологическом материале от больных и павших утят, «замерших» эмбрионов и уток-вирусоносителей.

Для постановки РИФ требуются: специфический флюоресцирующий гамма-глобулин, мазки-отпечатки с патологического материала, забуференный физраствор, дистиллированная вода.

Мазки-отпечатки (три мазка – площадью 1x1 см) готовят из свежего патматериала, чаще из печени. Для контроля используют мазки соответственно из печени здоровых утят или эмбрионов. Просмотр мазков осуществляют с помощью люминесцентных микроскопов со светофильтрами. Диагноз на вирусный гепатит ставят при обнаружении в мазке не менее 10-12 очагов свечения различной величины и конфигурации. За специфическое свечение принимают темно-зеленое или желтое-зеленое свечение с оценкой не ниже двух крестов при четырех балльной системе. Специфический антиген в ядрах клеток флуоресцирует темно-зеленым цветом, а в цитоплазме наблюдается яркое желто-зеленое свечение. В мазках-отпечатках от неинфицированной птицы и эмбрионов свечение отсутствует или может быть незначительное, слабое по интенсивности общее свечение мазка.

Биопробу ставят на 1-7 – суточных утятах, полученных из благополучного по вирусному гепатиту и другим инфекционным болезням хозяйства. Утят инфицируют внутримышечно в дозе 0,2 - 0,5 см³ или интраназально по 3-5 капель суспензией патматериала, приготовленной, как указано выше. Срок наблюдения за инфицированными утятами – 12 сут.

В положительных случаях часть или все инфицированные утята гибнут в течение 72 ч, реже – позже, с характерными клиническими признаками и патологоанатомическими изменениями. Гибель утят с наличием характерных изменений в печени при отрицательном бактериологическом исследовании служит показателем вирусного гепатита.

Ретроспективная диагностика. Антитела к вирусу гепатита утят выявляют с помощью:

- реакции нейтрализации в культурах клеток или на развивающихся эмбрионах (РН);
- реакция диффузионной преципитации (РДП);
- непрямой метод иммуноферментного анализа (ИФА).

Непрямой метод иммуноферментного анализа (ИФА). В лабораториях используют диагностические наборы для выявления антител к вирусу гепатита утят типа I в ИФА различных производителей, согласно Инструкции по применению.

Реакцию нейтрализации ставят с постоянной дозой испытуемой сыворотки крови утят или уток и с 10-кратными разведениями стандартного вируса гепатита утят типа I.

Реакцию диффузионной преципитации в агаровом геле ставят со стандартным антигеном вируса гепатита (центральная лунка) с испытуемыми пробами сыворотки крови утят или уток, специфической и нормальной сыворотками (по периферии). Учет реакции проводят по наличию или отсутствию линии преципитации между антигеном вируса и контрольными и испытуемыми сыворотками [1].

Дифференциальная диагностика вирусного гепатита утят типа I. Вирусный гепатит утят следует дифференцировать от других остро протекающих инфекционных болезней, проявляющихся признаками поражения нервной системы и массовой гибелью, а также от острых отравлений. Отдельные клинические признаки и патологоанатомические изменения при вирусном гепатите сходны с таковыми при

сальмонеллезе, колибактериозе, гриппе, коронавирусной болезни утят, аспергиллезе, чуме уток, пастереллезе, гипо – и авитаминозе А, эймериозе и массовых отравлениях ядохимикатами и компонентами кормов [2].

Стратегия профилактики болезни. Эффективных средств лечения вирусного гепатита не существует. Из этого следует, что наиболее эффективной стратегией борьбы с заболеванием является профилактика: соблюдение оптимальных условий содержания и сбалансированного кормления; предупреждение заноса инфекции в благополучное хозяйство и стадо; применение эффективных схем специфической профилактики молодняка и родительского стада [4].

Специфическая профилактика болезни:

- пассивная специфическая профилактика (применение сыворотки крови утят-реконвалесцентов и гипериммунной сыворотки);
- активная специфическая профилактика (живые и инактивированные вакцины).

Схемы вакцинации:

- а) хозяйства (стада) благополучные по вирусному гепатиту утят:
 - схема 1 – инактивированный вакцинный препарат на родителях за месяц до начала репродуктивного периода согласно Инструкции по применению;
 - схема 2 – аттенуированная вирусвакцина согласно Инструкции по применению.
- б) хозяйства (стада) стационарно неблагополучные по вирусному гепатиту утят:
 - схема – инактивированный вакцинный препарат на родителях за месяц до начала яйцекладки согласно Инструкции по применению.
- в) хозяйства (стада) с острой вспышкой вирусного гепатита утят:
 - схема – аттенуированная вирусвакцина на утятах суточного возраста согласно Инструкции по применению, ревакцинация ремонтного молодняка через 2 мес. инактивированным вакцинным препаратом согласно Инструкции по применению [4].

Библиографический список

1. Белоусова, Р. В. Практикум по ветеринарной вирусологии [Текст] / Р. В. Белоусова, Н. И. Троценко, Э. А. Преображенская. – М.: Колос; 2013.
2. Князев, В. П. Вирусный гепатит утят (уток) [Текст]. - В кн.: Князев В. П. Болезни водоплавающих птиц. Владимир; 2013. - С. 70-87.
3. Леонов, И. К. Способность к репликации вакцинных штаммов вируса гепатита утят в культурах клеток [Текст] / И. К. Леонов – Матер. XVIII междунар. конф.: Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России. - Сергиев Посад, 2015. - С. 483-484.
4. Трефилов, Б. Б. Специфическая профилактика вирусного гепатита утят типа I [Текст] / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина и др. - Материалы Международной научной конференции «Фундаментальные исследования», Чехия (Прага), 2018.
5. Трефилов, Б. Б. Биологические свойства вакцинных штаммов вируса гепатита утят [Текст] / Б. Б. Трефилов, И. К. Леонов // Матер. междунар. конг. - СПб, 2014. - С. 90-91.
6. Chen L.L., Xu Q., Zhang R.H. et al. Improved duplex RP-CR assay for differential diagnosis of mixed infection of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 in ducklings. *J. Virol. Methods*. 2013; 192:12 – 17.
7. Zhang R., Chen J. et al. Novel duck hepatitis A virus type 1 isolates from adult ducks showing eggdrop syndrome. *J. Veterinary Microbiology*. 2018; 221:33-37.