

Таблица 2
Различия между нуклеотидными последовательностями геномов вакцинных штаммов вируса ИЛТ (в процентах %)

№	Название	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	EU/CEO vac. strain Serva	X	0.48	0.47	0.10	0.03	0.03	0.02	0.09	0.02	0.10	0.02
2	Aus/CEO vac. strain SA2	0.48	X	0.02	0.46	0.49	0.49	0.48	0.45	0.48	0.56	0.49
3	Aus/TCO vac. strain A20	0.47	0.02	X	0.45	0.49	0.49	0.48	0.45	0.48	0.55	0.49
4	USA/strain TCO vac. LT-lvax	0.10	0.46	0.45	X	0.10	0.10	0.09	0.00	0.09	0.17	0.10
5	USA/CEO vac. LaryngoVac (strain Cover)	0.03	0.49	0.49	0.10	X	0.01	0.01	0.10	0.01	0.11	0.03
6	USA/CEO vac. Fowl laryngo	0.03	0.49	0.49	0.10	0.01	X	0.00	0.10	0.00	0.10	0.02
7	USA/CEO vac. TRVX (strain Hudson)	0.02	0.48	0.48	0.09	0.01	0.00	X	0.09	0.00	0.10	0.02
8	USA/strain TCO vac. IVAX	0.09	0.45	0.45	0.00	0.10	0.10	0.09	X	0.09	0.17	0.10
9	USA/CEO vac. LT Blen (strain Hudson)	0.02	0.48	0.48	0.09	0.01	0.00	0.00	0.09	X	0.10	0.02
10	Chi/vac. strain K317	0.10	0.56	0.55	0.17	0.11	0.10	0.10	0.17	0.10	X	0.10
11	Rus/CEO vac. strain O (FGBI «ARRIAH»)	0.02	0.49	0.49	0.10	0.03	0.02	0.02	0.10	0.02	0.10	X

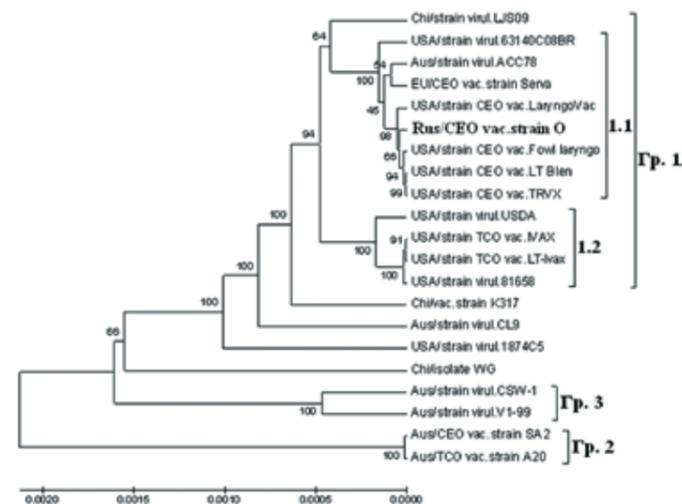


Рис. 2. Дендрограмма, отражающая филогенетические отношения анализируемых штаммов вируса ИЛТ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы была определена нуклеотидная последовательность полного генома штамма «О» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») вируса ИЛТ.

Полученная последовательность была картирована относительно референтного штамма Serva и опубликована в GenBank (KU128407).

В результате филогенетического анализа была показана принадлежность штамма «О» к филогенетической группе 1, подгруппе 1 (1.1).

Анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов использованных в работе штаммов вируса ИЛТ показал высокий уровень нуклеотидного сходства штамма «О» с штаммами Serva, Cover, Hudson, а также с Fowl laryngo (99,97–99,98%). В ходе картирования нуклеотидной последовательности полного генома штамма «О» в генах, кодирующих поверхностные белки, ответственные за взаимодействие с клеточными рецепторами, был выявлен ряд уникальных особенностей: значимая нуклеотидная замена в гене

US6 и вставка четырех нуклеотидов в конечном инвертированном повторе, приводящая к удлинению рамки считывания гена US9 и изменению состава кодируемой данным геном аминокислотной последовательности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Очистка и концентрирование вируса инфекционного ларинготрахеита птиц / А.А. Козлов, Д.Б. Андрейчук, А.Н. Андриясова, Н.С. Мудрак // Инновационное развитие науки в обеспечении биологической безопасности: сб. материалов 2-й Междунар. науч. конф. молодых ученых. — Гвардейский, Казахстан, 2014. — С. 125–128.
2. Пат. 2207372 Российская Федерация, МПК⁷ C12N 7/00. Штамм «О» вируса инфекционного ларинготрахеита птиц для изготовления диагностических и вакцинных препаратов / А.В. Бочарников, В.Ю. Кулаков, А.В. Борисов [и др.]; ФГУ «ВНИИЗЖ». — № 2002105552/13; заявл. 28.02.2002; опубл. 27.06.2003.
3. Attenuated vaccines can recombine to form virulent field viruses / S.W. Lee, P.F. Markham, M.J. Coppo [et al.] // Science. — 2012. — Vol. 337, № 6091. — P. 188.
4. Complete genome sequence of the first Chinese virulent infectious laryngotracheitis virus / C. Kong, Y. Zhao, X. Cui [et al.] // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8, № 7. — URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0070154>.
5. Genomic sequence analysis of the United States infectious laryngotracheitis vaccine strains chicken embryo origin (CEO) and tissue culture origin (TCO) / M. García, V. Volkening, S.M. Riblet [et al.] // Virology. — 2013. — Vol. 440. — P. 64–74.
6. Molecular epidemiology of infectious laryngotracheitis: a review / K.R. Menendez, M. García, S. Spatz, N.L. Tablante // Avian Pathology. — 2014. — Vol. 43, № 2. — P. 108–117.
7. Phylogenetic and molecular epidemiological studies reveal evidence of multiple past recombination events between infectious laryngotracheitis viruses / S.W. Lee, J.M. Devlin, J.F. Markham [et al.] // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8, № 2. — URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055121>.

УДК 619:616.98:578.826.1:616-073

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА АДЕНОВИРУСА ПТИЦ FAdV4/6/2009

О.С. Осипова¹, М.А. Волкова², Н.Г. Зиняков³, С.П. Лазарева⁴, В.Ю. Сосипаторова⁵, И.А. Чвала⁶

¹ ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: osipova@arriah.ru

² ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: volkovama@arriah.ru

³ старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁴ ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: lazareva@arriah.ru

⁵ ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

⁶ заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: chvala@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Аденовирус птиц был изолирован из печени 154-суточных кур одного из хозяйств Краснодарского края в 2009 г. Вирус выделили на культуре клеток гепатомы петуха Леггорн с проявлением цитопатического действия и идентифицировали методом ПЦР с последующим секвенированием фрагмента гена гексона как аденовирус птиц вида С. При экспериментальном пероральном заражении 7-суточных бройлеров развивался синдром гидроперикардита.

Ключевые слова: аденовирус птиц, синдром гидроперикардита.

UDC 619:616.98:578.826.1:616-073

CHARACTERIZATION OF AVIAN ADENOVIRUS FAdV4/6/2009 ISOLATE

O.S. Osipova¹, M.A. Volkova², N.G. Zinyakov³, S.P. Lazareva⁴, V.Yu. Sosipatorova⁵, I.A. Chvala⁶

¹ Veterinarian, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: osipova@arriah.ru

² Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: volkovama@arriah.ru

³ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁴ Leading Biologist, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: lazareva@arriah.ru

⁵ Biologist, PhD student, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

⁶ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

Avian adenovirus was isolated from livers of 154-day-old hens on one farm located in the Krasnodar Krai in 2009. The virus was isolated in chicken Leghorn male hepatoma cell culture that exhibited cytopathogenic effect and identified as avian type C adenovirus by PCR followed by sequencing of hexon gene fragment. Hydropericardium syndrome developed in 7-day-old broiler chickens experimentally orally infected with the virus.

Key words: avian adenovirus, hydropericardium syndrome.

ВВЕДЕНИЕ

Аденовирусы птиц — безоболочечные ДНК-содержащие вирусы, относящиеся к роду *Aviadenovirus* семейства *Adenoviridae* [9]. По генетическим свойствам выделяют 5 видов аденовируса птиц (А, В, С, D и Е), а по перекрёстной активности в реакции нейтрализации — 12 серотипов [5, 8]. Различные штаммы и изоляты аденовирусов птиц отличаются по своим патогенным свойствам. FAdV-4 (аденовирус птиц вида С) может являться этиологическим агентом опасного заболевания цыплят-бройлеров — синдрома гепатита-гидроперикардита.

Впервые аденовирусный синдром гидроперикардита кур был зарегистрирован в 1987 г. в Пакистане, далее заболевание регистрировали в Индии, Японии, Мексике, странах Латинской Америки, Китае, Корее, а также в России [1–3, 6, 8, 10]. Наиболее восприимчивы к заболеванию цыплята-бройлеры 3–6-недельного возраста, но могут поражаться птицы старшего возраста [6, 8, 10]. Выявленные отдельные случаи заболевания 7–9-сут. цыплят связывают с вертикальной передачей вируса от родителей [4].

Заболевание характеризуется высокой контагиозностью и смертностью (до 70–80%). К основным признакам заболевания можно отнести скопление прозрачного, соломенно-окрашенного экссудата в перикарде, отёк легких, а также поражение печени и почек [7, 8, 11]. При гистологическом исследовании наиболее существенные изменения регистрировали в печени: образование очагов некроза, инфильтрация мононуклеаров, включая базофильные внутриклеточные тельца-включения в гепатоцитах [11, 13]. Наряду с этим имеются сообщения о выявлении непатогенных штаммов вируса. Так, в Канаде в 2004 г. от клинически здоровых цыплят-бройлеров был выделен непатогенный FAdV-4 [12]. Данные о роли FAdV-4 как первичного или вторичного патогена могут меняться в зависимости от способа введения вируса, возраста и породы птиц.

Целью работы являлось изучение биологических свойств (в том числе патогенности для цыплят-бройлеров) аденовируса птиц, выделенного от цыплят на одной из птицефабрик Краснодарского края в 2009 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусодержащий материал. 20% суспензия ткани печени в растворе Хенкса от кур из птицефабрики Краснодарского края РФ.

Выделение вируса. Для первичного выделения изолята аденовируса использовали культуру клеток гепатомы петуха Леггорн (LMH). Культивирование проводили с использованием среды DMEM/F-12 (Sigma)

с глутамином и 2% фетальной сыворотки. Определение титра инфекционной активности вируса в культуре клеток проводили по методу Кербера с использованием 10-кратных разведений вируса.

Полимеразно-цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Двухцепочечную ДНК аденовируса выделяли коммерческим набором NucleoS[™] («Биоком», Россия) согласно инструкции производителя. Реакцию проводили с использованием прибора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Для выявления аденовируса с помощью ПЦР-РВ использовали праймеры и зонды, специфичные для вида С: FAdV4-433F: CCC-TAC-TGC-GGC-ACG-GCT-TA, FAdV4-608R: CCT-GGT-TGG-GAT-TGG-GGA-AGA, ДНК-зонд FAdV4-FAM:AC-CTC-CAA-AGA-CAC-GAC-GGC-GG.

Секвенирование. Подбор праймеров для амплификации гена гексона и последующего секвенирования осуществляли с помощью программы Oligo (v.3.3) по последовательности аденовируса птиц KR5 (HE608152). Очистку продуктов ПЦР от компонентов реакционной смеси проводили с использованием GF/F-фильтров. Секвенирование амплифицированного участка гена гексона аденовируса осуществляли на генетическом анализаторе 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) согласно инструкции изготовителя.

Анализ результатов секвенирования. Сравнительный анализ последовательностей участка гена гексона из базы данных GenBank и полученных ПЦР-ампликонов проводили с использованием пакета программ BioEdit (v.6.0.6, 2004 г.): Clustal W (выравнивание последовательностей) и Identity matrix (вычисление процента сходства последовательностей). Построение филогенетического дерева проводили с помощью алгоритма NJ (в том числе с использованием численного ресэмплинга «бутстреп») в реализации пакета MEGA, версия 3.1. Нумерацию нуклеотидных последовательностей использованного в работе гена гексона осуществляли относительно первого нуклеотида соответствующего гена, взятого из полногеномной нуклеотидной последовательности штамма KR5 (HE608152).

Лабораторные животные. В опыте использовали полученных из благополучного по инфекционным болезням птицеводства 7-сут. цыплят-бройлеров, не имеющих антител к аденовирусу птиц.

Эксперимент на животных. В опыте цыплята были разделены на три группы. Цыплятам из первой (опытной) группы (32 головы) перорально вводили культуральную жидкость, содержащую изолят аденовируса птиц, в дозе 5,0 Ig ТЦД₅₀/мл. Цыплята из второй (контактной) группы в количестве 12 голов были подсажены к птицам опытной группы через 24 ч после инфицирования и содержались совместно с ними в течение 25 сут. (срок наблюдения). Третьей группе (26 голов) вводили по 1,0 мл культуральной жидкости (LMH), не содержащей вирус. Группы содержались в отдельных изолирующих боксах. Через 1, 3, 6, 9, 14, 20 и 26 сут. после инфицирования проводили убой 3 цыплят из контрольной группы, 2 цыплят из контактной группы и 3 цыплят из опытной группы для патологоанатомического исследования и отбора проб биоматериала.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Выявление антител к аденовирусу птиц проводили в непрямом варианте ИФА с использованием коммерческого набора производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» по инструкции производителя. Результат реакции считали положительным при

величине титра антител 450 и выше (за титр принимали величину, обратную разведению сыворотки).

Гистологическое исследование. Кусочки органов размером 0,5×0,5×0,5 см фиксировали 4% раствором формалина в 80% растворе этилового спирта в течение 48 ч и заключали в парафин. С парафиновых блоков получали срезы толщиной 5–7 мкм (микротом Microm HM340E, Германия). Готовые препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование препаратов производили на инвертированном конфокальном микроскопе Nikon Eclipse Ti-E C2+ (Япония).

Статистический анализ результатов. Для статистической обработки данных использовали программу Statistica 10.0 (Stat Soft. Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании методом ПЦР-РВ проб печени 154-сут. кур, присланных на исследование из хозяйства Краснодарского края в 2009 г., был выявлен геном аденовируса птиц. Патологический материал был отобран от кур с признаками синдрома гепатита-гидроперикардита. Для выделения вируса в культуре клеток использовали 20% суспензию ткани печени в растворе Хенкса. Выделение и дальнейшую адаптацию вируса проводили на культуре клеток LMH. Патогенное действие вируса на культуру клеток LMH проявлялось в округлении клеток, разрушении цитоплазматических выростов между островками клеток, появлении плотных внутриклеточных включений (рис. 1).

Поражение 80–90% монослой культуры клеток LMH наблюдали на 4–5 сут. после заражения. Титр вируса после трёх пассажей составил 6,25±0,25 Ig ТЦД₅₀/см³.

Контаминация изолята аденовируса птиц другими патогенами (вирусы гриппа птиц типа А, ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур, инфекционной бурсальной болезни, инфекционной анемии цыплят, инфекционного ларинготрахеита, синдрома снижения яйценоскости-76, метапневмовирус птиц, реовирус, а также микоплазмы синовиа и галлисептикум) была исключена методом ПЦР. Отсутствие контаминации изолята аденовируса птиц бактериями и грибами было установлено микробиологическими методами. При дальнейшем культивировании в течение двух последующих пассажей (с 4 по 5) изолят FAdV4/6/2009 оставался стабильным, при этом титры инфекционной активности вируса были в пределах 6,58–7,0 Ig ТЦД₅₀/см³.

Для идентификации изолята аденовируса птиц с помощью специфических праймеров был дополнительно амплифицирован и секвенирован участок нуклеотидной последовательности гена гексона и проведено его

Таблица 1
Результаты заражения цыплят изолятом аденовируса птиц

Группа	Сутки после заражения / количество павших цыплят					
	4	7	9	12	14	20
Опытная	2	1	0	1	1	1
Контактная	0	0	1	0	0	0

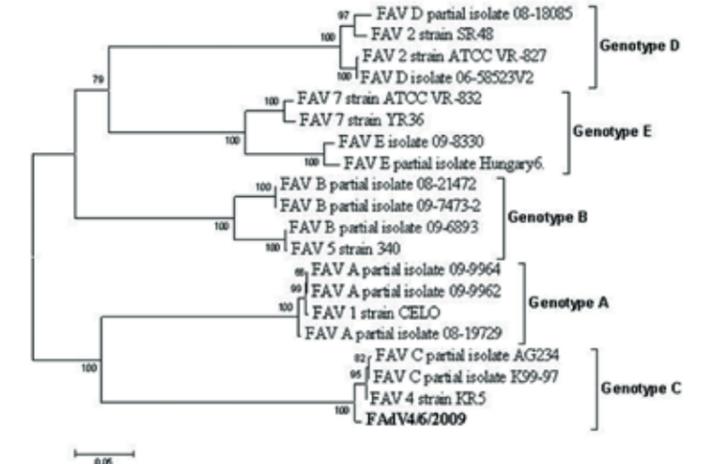


Рис. 2. Дендрограмма, построенная методом NJ по нуклеотидным последовательностям участка гена гексона (25–651 п. н.) штаммов и изолятов аденовируса птиц, представленных в GenBank

сравнение с последовательностями, опубликованными в международной базе данных GenBank (рис. 2). Сравнительный анализ полученной нуклеотидной последовательности показал, что изолят принадлежит к виду С, идентичность изолята FAdV4/6/2009 по исследованному фрагменту гена гексона с другими штаммами этого вида составила 98,0–98,2%.

Патогенность полученного изолята аденовируса птиц была изучена на 7-сут. цыплятах-бройлерах.

В течение периода наблюдения у цыплят опытной и контактной групп отмечали угнетенное состояние, вялость, потерю аппетита, истощение, взъерошенность перьевого покрова, опускание крыльев, затруднённое дыхание, диарею.

У экспериментально инфицированных цыплят проявление клинических признаков наблюдали начиная со 2 сут. после заражения, а у контактных птиц — с 5 сут. после подсадки к заражённым цыплятам. Падёж цы-

Рис. 1. Культура клеток LMH, неинфицированная (А) и инфицированная (В) изолятом аденовируса птиц FAdV4/6/2009, об. ×15, ок. ×10

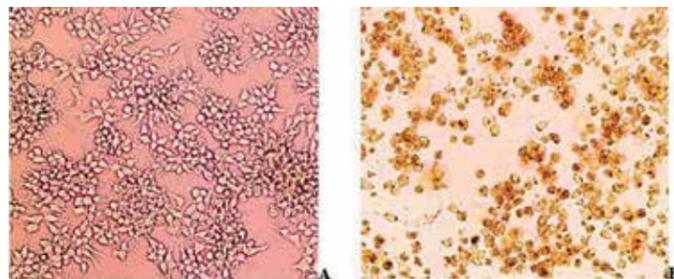


Рис. 3. Патологические изменения во внутренних органах заражённых цыплят: А — 9 сут., В — 20 сут. после заражения. Стрелками показаны внутренние органы: черными — сердце, белыми — печень

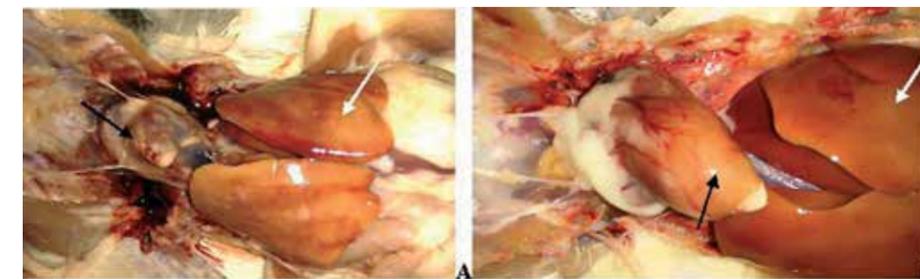


Таблица 2
Результаты выявления аденовируса птиц в ротоглоточных и клоакальных смывах

Группа	Период после заражения, сут					Всего
	3	6	9	14	20	
В ротоглоточных смывах						
Опытная	8/10*	4/10	2/10	3/10	0/10	17/50
Контактная	2/6	4/6	5/6	3/5	0/6	14/29
В клоакальных смывах						
Опытная	7/10	8/10	3/10	2/10	0/10	20/50
Контактная	0/6	1/6	2/6	5/5	0/6	8/29

* количество проб, в которых выявлен геном вируса/общее количество отобранных проб.

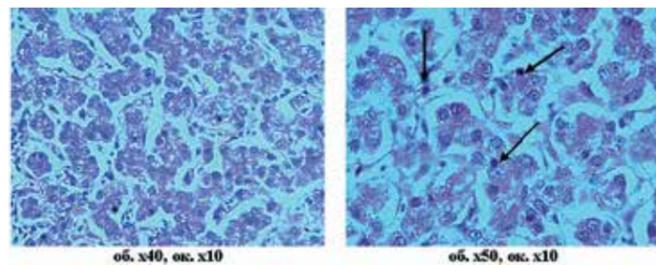


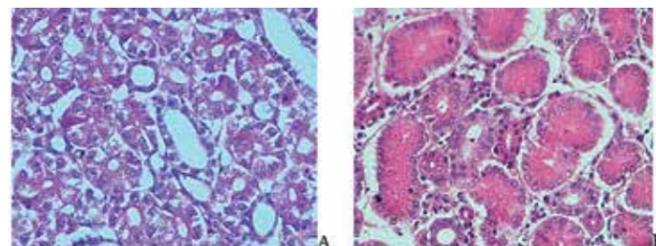
Рис. 4. Паренхима печени цыплёнка, экспериментально инфицированного аденовирусом (20 сут. после заражения). Стрелками показаны тельца-включения. Парафиновый срез, окр. гематоксилин и эозин

плет в опытной группе был отмечен через 4, 7, 12, 14 и 20 сут. после заражения (всего пало 6 птиц), в контактной группе — через 8 сут. после подсадки (пал один цыплёнок) (табл. 1).

При патологоанатомическом исследовании у цыплят обеих групп начиная с 4–6 сут. после заражения и до окончания эксперимента регистрировали изменения, характерные для синдрома гепатита-гидроперикардита. В перикарде отмечали скопление серозной жидкости, печень была увеличена, имела рыхлую консистенцию, светло-коричневый цвет либо неравномерную окраску с разлитыми кровоизлияниями под капсулой органа (рис. 3).

Почки были увеличены, поджелудочная железа с точечными кровоизлияниями, легкие уплотнены и отечны, в скелетных мышцах наблюдали кровоизлияния. При гистологическом исследовании в печени отмеча-

Рис. 5. Почки. А — здоровая ткань (контрольная группа), Б — поражённая ткань (инфицированная группа), 11 сут. после заражения. Парафиновый срез, окр. гематоксилин и эозин. об. x40, ок. x10



ли дистрофические изменения гепатоцитов, очаговые некрозы (рис. 4). В гепатоцитах обнаруживали тельца-включения.

В почках отмечали дистрофическое изменение эпителия канальцев, просветы дистальных, проксимальных канальцев и собирательных трубочек были заполнены слизистым секретом, содержащим десквамированные эпителиоциты и клеточный детрит (рис. 5).

Заражение цыплят аденовирусом также вызывало патологические изменения лимфоидных органов: тимус был уменьшен в размере, в некоторых случаях селезенка была увеличена, с кровоизлияниями, фабрициева сумка у некоторых цыплят была атрофирована. При гистологическом исследовании в селезенке наблюдали уменьшение количества лимфатических фолликулов в поле зрения, границы фолликулов были выражены нечётко. В фабрициевой сумке (бурсе) было отмечено уменьшение размера фолликулов и некробиотические изменения мозговой зоны.

Наличие ДНК аденовируса в органах и смывах цыплят было подтверждено методом ПЦР-РВ. В пробах от заражённых цыплят геном аденовируса был выявлен с 3 по 14 сут. после заражения и в ротоглоточных, и в клоакальных смывах (табл. 2).

У контактных птиц вирус обнаружен в ротоглоточных смывах со 2 по 13 сут. после подсаживания к инфицированным цыплятам, а в клоакальных смывах позднее — с 5 по 13 сут. после подсаживания (табл. 2).

При исследовании проб внутренних органов от убитых птиц ДНК аденовируса была обнаружена, начиная с 3 сут. после заражения, в печени (3, 6, 14, 24 сут.), почках (6 сут.), кишечнике (3, 6, 9, 24 сут.), бурсе (6 и 20 сут.) и селезенке (6 и 24 сут.) заражённых цыплят (табл. 3). Исследование внутренних органов от павших цыплят в различные сроки после заражения (4, 7, 9, 14 и 20 сут.) показало наличие генома аденовируса птиц во всех исследованных органах (печень, почки, кишечник, бурса, селезенка).

У цыплят контактной группы геном аденовируса птиц был выявлен с 5 сут. после контакта с заражёнными цыплятами в пробах печени (6, 9, 14 сут.), почек (6 и 14 сут.), кишечника (6, 9 и 14 сут.), бурсе и селезенки (6, 9, 14 и 24 сут.) (табл. 3).

Выявление ДНК аденовируса в пробах от цыплят контактной группы показывает возможность горизонтальной передачи вируса при совместном содержании инфицированных и здоровых птиц.

В контрольной группе птицы были клинически здоровы. Патологических изменений органов у убитых птиц контрольной группы и случаев выявления генома аденовируса птиц в органах цыплят в течение периода наблюдения не регистрировали.

Экспериментальное заражение показало, что аденовирус птиц реплицировался во внутренних органах заражённых цыплят и оказывал на них патологическое действие, что подтверждено исследованиями других авторов [7, 10, 11, 13].

При исследовании сывороток крови в ИФА у заражённых цыплят были обнаружены специфические антитела к аденовирусу птиц (табл. 4).

Через 9 сут. после заражения антитела были выявлены у 3 цыплят из 9 исследованных, а через 24 сут. — у 5 из 8 исследованных цыплят из опытной группы. Средний титр антител по группе через 24 сут. после заражения составил 957 ± 320 , а средний титр положительных проб — 1438 ± 360 . У контрольных цыплят

в течение всего эксперимента специфические антитела не выявляли.

Результаты экспериментального заражения показали, что изолят аденовируса птиц FAdV4/06/2009 способен репродуцироваться в клетках внутренних органов кур (печени, почках), лимфоидных органах (селезенке, бурсе), вызывать синдром гидроперикардита у орально зараженных птиц и у птиц, находящихся с ними в контакте, а также образование специфических антител.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изолят, выявленный у 154-сут. кур и выделенный на культуре клеток LMN, был идентифицирован как аденовирус птиц вида С с помощью ПЦР и нуклеотидного секвенирования фрагмента гена гексона. При экспериментальном пероральном заражении цыплят он вызывал характерные для аденовирусной инфекции макро- и гистопатологические изменения тканей внутренних органов (печени, почек) и образование базофильных телец-включений в печени. Наличие аденовирусной ДНК в органах и смывах заражённых птиц было подтверждено методом ПЦР-РВ. Вирус индуцировал выработку специфических антител.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакулин В.А., Мурый В.А. Аденовирусный гепатит с включениями — гидроперикардит кур: эпизоотология, диагностика и специфическая профилактика // Био. — 2011. — № 12. — С. 28–30.
- Ельникова Е.В., Борисов В.В. Изучение патогенных свойств полевых изолятов аденовирусов кур, выделенных на территории РФ // Ветеринарная патология. — 2006. — № 4. — С. 126–131.
- Characterization of fowl adenoviruses associated with hydropericardium syndrome and inclusion body hepatitis in broiler chickens / D. Mittal, N. Jindal, A. Tiwari, R.S. Khokhar // Virus Dis. — 2014. — Vol. 25, № 1. — P. 114–119.
- Chronological analysis of gross and histological lesions induced by field strains of fowl adenovirus serotypes 1, 8b and 11 in one-day-old chickens / P. Steer, J. Sandy, D. Rourke [et al.] // Avian Pathol. — 2015. — Vol. 44. — P. 106–113.
- Classification of fowl adenoviruses by use of phylogenetic analysis and high-resolution melting-curve analysis of the hexon Li gene region / A. Marek, A. Gunes, E. Schulz, M. Hess // J. Virol. Methods. — 2010. — Vol. 170. — P. 147–154.
- Epidemiological investigation of outbreaks of fowl adenovirus infection in commercial chickens in Korea / K. Choi, S. Kye, J. Kim [et al.] // Poultry Sci. — 2012. — Vol. 91. — P. 2502–2506.
- Fowl adenovirus (FAdV) serotype 4 causes depletion of B and T cells in lymphoid organs in specific pathogen-free chickens following experimental infection / E. Schoneville, A. Singh, T. Gobel [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. — 2008. — Vol. 121. — P. 130–139.
- Hafez H.M. Avian adenoviruses infections with special attention to inclusion body hepatitis/hydropericardium syndrome and egg drop syndrome / Pakistan Vet. J. — 2011. — Vol. 31, № 2. — P. 85–92.
- Hess M. Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review / Avian Pathol. — 2000. — Vol. 29. — P. 195–206.
- Immune system dysfunction in broiler chickens experimentally inoculated with fowl adenovirus serotype-4 associated with inclusion body hepatitis hydropericardium syndrome / I. Hussain, M. Mahmood, M. Arshad [et al.] // Turk. J. Vet. Anim. Sci. — 2012. — Vol. 36, № 3. — P. 223–230.
- Outbreaks of inclusion body hepatitis (IBH) in chickens; pathological studies and isolation of fowl adenovirus / V. Kumar, R. Kumar, R. Chandra [et al.] // Advan. Animal Vet. Sci. — 2013. — Vol. 1 (35) — P. 21–24.
- Pathogenicity and cytokine gene expression pattern of a serotype 4 fowl adenovirus isolate / H. Grgic, Z. Poljak, S. Sharif, E. Nagy // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8. — URL: <http://www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0077601>.
- Pathogenicity and complete genome characterization of fowl adenoviruses isolated from chickens associated with inclusion body hepatitis and hydropericardium syndrome in China / J. Zhao, Q. Zhong, Y. Zhao [et al.] // PLoS ONE. — 2015. — Vol. 10. — URL: <http://www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0133073>.

Таблица 3
Результаты выявления аденовируса птиц во внутренних органах кур

Группа	Проба	Период после заражения, сут.					
		3	6	9	14	20	24
Опытная	печень	1/3*	2/3	0/3	3/3	0/3	1/3
	почки	0/3	2/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	кишечник	2/3	3/3	1/3	0/3	0/3	1/3
	бурса	0/3	1/2	н/и	н/и	1/3	0/3
	селезенка	н/и	2/3	н/и	н/и	0/3	1/3
Контактная	печень	н/и	1/2	1/2	1/2	0/2	0/2
	почки	н/и	2/2	0/2	1/2	0/2	0/2
	кишечник	н/и	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2
	бурса	н/и	2/2	1/2	1/1	н/и	1/1
	селезенка	н/и	2/2	1/2	1/2	н/и	1/1

* количество проб, в которых выявлен геном вируса/общее количество отобранных проб; н/и — не исследовали.

Таблица 4
Результаты выявления антител к аденовирусу птиц в ИФА

Группа	Сутки после заражения		
	0	9	24
Контрольная	199 ± 58^a — $0/8^c$	268 ± 97 — 0/10	2 ± 1 — 0/8
Опытная		302 ± 154 760 ± 352 3/9	957 ± 320 1438 ± 360 5/8

^a средний титр антител по группе;

^b средний титр антител положительных проб;

^c отношение количества положительных проб к общему количеству проб в группе.