4. Факторні хвороби сільськогосподарських тварин / [Литвин В.П., Олійник Л.В., Корнієнко Л.Є. та ін.]; за ред. В.П. Литвина, Л.Є. Корнієнка. — К.: Аграрна наука, 2002. – 400 с.
5. Березовский А.В. Основные болезни свиней и современные средства для их лечения и профилактики. Краткий справочник / А. В. Березовский, А.И. Поживил, В.П. Литвин // К., ПП «Грета», 2008. – 96 с.
6. Специфічна профілактика і терапія сальмонельозу та колібактеріозу тварин / Д. В. Гадзевич, Е.П. Петренчук,Л.В. Коваленко, С.І. Вовк // Здоров'я тварин і ліки. – 2008. – № 1. – С. 14-15.
7. Хвороби свиней / В.І. Левченко, В.П. Заярнюк, І.В. Папченко [та ін.]; за ред. В.І. Левченка та І.В.Папченка . – Біла Церква, 2005. – 168 с.
8. Кувичкин Н. М. Эффективность использования различных стимулирующих и антистрессовых препаратов в свиноводстве: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. - п. Персиановский. 2009.

THE TREATMENT'S EFFECT OF PIGS' RESPIRATORY INFECTIONS BACTERIAL ETIOLOGY

Berezovskiy A. V., Ilyashenko O. S., Linok L. E.
Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Risk assessment arising from livestock farms has showed: respiratory disease of pigs classified as economically important problems of modern industrial pig' production. In many countries, and partly in Ukraine, respiratory disease of pigs bacterial etiology are separated in nosological complex diseases that includes infectious atrophic rhinitis, pleurisy, pneumonia, pleuropneumonia, pneumonic form of pasteurellosis. Mycoplasmosis are separated in separate group. The main causative agents of bacterial etiology respiratory diseases are bacteria Actinobacillus pleuropneumoniae, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, Salmonella choleraesuis, Streptococcus suis, and Mycoplasma hyopneumoniae. At sepsis-associated pneumonia also isolated S. Choleraesuis, Streptococcus equi (subspecies equi), Streptococcus equi (subspecies zooepidemicus) and Escherichia. The main means of treatment and control of respiratory diseases in pigs farms are antimicrobials drugs. Today, the most effective treatment for respiratory disease of pigs which caused by bacteria are preparations based on various forms of tseftiofur belonging to the cephalosporin antibiotics of the third generation. The aim of our research was to study the therapeutic efficacy and suitability of Tseftioklyn for the treatment of respiratory pigs' disease caused by bacteria.

Analysis of treatment's effect of pigs' respiratory infections bacterial etiology

by tseftioklyn has showed its good performance for use at a dose of 1 ml per 16 kg for animal once a day for three days in a row. Using of the drug tseftioklyn at the recommended dose has ensured complete safety of pigs in the group and almost complete recovery of the animals. Tilozyn 20%, that was in experiment drug for comparison, the administration at a dose of 1 ml per 10 kg on body weight for three days in a row, provided the pigs in the treatment group at the level of 82.5% and survival – 95% of the animals.

Keywords: *respiratory diseases, bacteria, tseftioklyn*

УДК: 619:576.858:636.52/58:575

ЧУТЛИВІСТЬ КУРЕЙ ПОРОДИ ПОЛТАВСЬКА ГЛИНЯСТА ДО ХВОРОБИ МАРЕКА ТА ЇХ ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ЗА ЛОКУСОМ *MX*-ГЕНУ

Білецька Г. В., Музика Н. М.
Державна дослідна станція птахівництва НААН, с. Бірки, Україна, e-mail: a-beletska@ya.ru

Кулібаба Р. О.
Інститут тваринництва НААН, м. Харків, Україна

Вовк С. І.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна

У гострому досліді вивчена чутливість курей породи Полтавська глиняста до хвороби Марека (ХМ) та їх генетична структура за локусами Мх-гену, який розглядають як вірогідну маркерну систему генетичної резистентності птиці до ХМ. У різні роки досліджень резистентними до захворювання було від 22,0 до 40,0 % птиці. Встановлено високий рівень поліморфізму генів у птиці за даною маркерною системою. «Чутливий» алель G представлений з високою частотою – 0,78, частота ж «резистентного» алелю А становила лише 0,22. Виявлена цікава залежність чутливості курей до ХМ та частоти алелів від кольору оперення курчат цієї породи в добовому віці. Показники відходу птиці від ХМ та частоти досліджених алелей відрізнялись у курчат зі світлим і темним опереннням: у птиці з темним опереннням

спостерігався найменший відхід від ХМ – 50,0 %, частота «резистентного» алелю А становила 0,6. У курчат, які мали світле оперення та в 76,6 % загинули від ХМ, частота «резистентного» алелю А Мх-гену становила лише 0,27. Зроблено припущення, що підвищення частоти резистентного алелю А Мх-гену у курей породи Полтавська глиняста дає можливість підвищити резистентність птиці до ХМ. Необхідно проводити відбір птиці за частотою «резистентного» алелю А Мх-гену та проводити селекційну роботу в напрямку програм відбору та розведення птиці протягом кількох поколінь.

Ключові слова: *кури, хвороба Марека, резистентність, генетична структура, Мх-ген, поліморфізм, частота генів, алель.*

Хвороба Марека (ХМ) є однією з найбільш небезпечних хвороб вірусної етіології. Незважаючи на те, що ХМ вивчається майже 100 років, а з моменту створення перших вакцин минуло майже 40 років, проблема профілактики хвороби залишається гострою.

Наряду з профілактичною вакцинацією ведеться пошук альтернативних методів захисту від захворювання. Вважають, що для надійного контролю ХМ необхідно поєднання вакцинної стратегії і використання ліній курей, резистентних до хвороби [1].

Встановлено, що до прояву генетичної резистентності мають відношення різні генетичні локуси [2, 3]. На сучасному етапі для оцінки генетичного різноманіття та виявлення ДНК-маркерів розроблені і застосовуються цілий ряд молекулярно-генетичних методів аналізу, таких як визначення однонуклеотидного поліморфізму (SNP), RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)-, AFLP (Amplified fragment length polymorphism)-аналізи та ін., які дозволяють аналізувати геном без попереднього знання його нуклеотидної послідовності та встановити функціональні відмінності генів-кандидатів у різних алелях. Завдяки методам молекулярної генетики, які швидко розвиваються, вдосконалюються і спрощуються [4], на сьогоднішньому етапі можна провести аналіз експресії як поодиноких генів, так і цілого комплексу в різному фізіологічному стані [5], що дає можливість оцінити той чи інший ген.

Проводиться ідентифікація різних генів і складання їх карт. Так, публікації останніх років свідчать, що сучасні методи генетичного картування дозволяють виділити окремі участки в геномі птиці, які асоціюють зі стійкістю до ХМ [6, 7].

В останні роки до списку генів-кандидатів включають гени, які асоційовані з локусами кількісних ознак (QTL) [6]. Серед них особливої уваги заслуговує Мх-ген [8].

Мх-ген (myxo-virus resistance gene) одує білок з антивірусною активністю. Згідно з літературними джерелами, алельні варіанти Мх-гену пов'язані з стійкістю до різних вірусних захворювань птиці, у тому числі і до хвороби Марека [8, 9, 10]. Транзиція (заміна) G/A в позиції 2032 в нуклеотидній послідовності ДНК призводить до заміни серину на аспарагін в положенні 631 білкової молекули (міссенс-мутація), що впливає на антивірусну активність білку. У зв'язку з цим перспективним є генотипування птиці за однонуклеотидним поліморфізмом (SNP) в положенні 2032 Мх-гену. Генотипувати птицю за даним локусом можна за допомогою методу ПЛР-ПДРФ (PCR-RFLP, Полімеразна Ланцюгова Реакція – Поліморфізм Довжин Рестрикційних Фрагментів, CAPS), використовуючи ендонуклеазу рестрикції *RsaI*.

В Інституті птахівництва НААН (нині – Державна дослідна станція птахівництва) в 80–90 рр. минулого століття проводились дослідження по виведенню генетично стійких ліній курей до вірусів лейкозо-саркомної групи (ХМ у т.ч.), була виведена 14 лінія курей породи Полтавська глиняста з підвищеною стійкістю, яка збереглась до цього часу.

Тому виникла необхідність протестувати дану породу на чутливість до ХМ та вивчити її генетичні особливості, а саме оцінити потенціал птиці за деякими молекулярно-генетичними маркерами.

В Україні вивчення генетичної структури птиці за різними маркерними системами не проводилось, що визначає новизну і актуальність даних досліджень.

Метою даних досліджень було провести тестування курей породи Полтавська глиняста на чутливість до ХМ та вивчити їх генетичну структуру за локусом Мх-гену.

Матеріали та методи. Дослідження проводили в гострих дослідах на курчатах 14 лінії породи Полтавська глиняста генофондного стада курей ДДСП.

Курчат у добовому віці інфікували патогенним штамом вірусу ХМ в дозі 1000 $ЕІД_{50}$/0,2. У дослідженнях використовували попередньо освіжений на 2-х пасажах добових курчат контрольний вірулентний штам JM-P, який зберігається в рідкому азоті при t -196 ^{0}C. Після інфікування за курчатами проводили спостереження протягом 150–210 діб та враховували причини відходу з метою визначення індивідуальної чутливості до ХМ. По закінченню терміну спостереження проводили забій птиці з урахуванням патологоанатомічних ознак, характерних для ХМ.

Поліморфізм Мх-гену (intron 13 – exon 14) вивчали з використанням методу ПЛР-ПДРФ. Для цього у 14–34-добовому віці від курчат дослідних груп індивідуально відбирали кров методом «крапля на папері», проводили виділення ДНК. Для виділення використовували комерційний набір реагентів «ДНК-сорб В». ПЛР проводили із специфічними праймерами: *Forward* 5'-CCT TCA GCC TGT TTT TCT CCT TTA GGA A-3'; *Reverse* 5'-CAG AGG AAT CTG ATT GCT CAG GCG TGT A-3'.

Ампліфікацію проводили за схемою, наведеною у таблиці 1.

Таблиця 1 – Програми ампліфікації для проведення ПЛР

Стадія ПЛР	*Денатурація*		*Віджиг*	*Елонгація*	
Локус		35 циклів			
Мх ген	94°C (5 хв)	94°C (60 с)	60°C (60 с)	72°C (30 с)	72°C (5 хв)

Рестрикційний аналіз проводили згідно з інструкцією до відповідної рестриктази. Електрофорез рестрикційних фрагментів здійснювали у 3 % агарозному гелі протягом 45 хв при 200 V. Визначення розміру рестрикційних фрагментів проводили з використанням маркеру молекулярних мас М-100, враховуючи, що за локусом Мх-гену (S631N) існує три генотипи: A/A, A/G та G/G. На електрофореграмі їх виявляли за розміром фрагментів: генотип A/A розміром 100 п.н., A/G – 100, 73 та 27 п.н., G/G – 73 та 27 п.н.

Результати досліджень. У різні роки досліджень від 22,0 % до 40,0 % курей 14 лінії породи Полтавська глиняста були стійкими до інфікування (табл. 2).

Таблиця 2 – Чутливість курей 14 лінії породи Полтавська глиняста до ХМ у різні роки досліджень

Рік	Термін спостер., днів	К-ть голів у групі	Відхід птиці			
			неспецифічний		в т.ч. від ХМ	
			кількість	%	кількість	%
2011	150	30	7	23,3	18	60,0
2012	198	74	6	8,1	45	60,3
2013	210	97	13	13,4	55	65,5
2015	170	111	11	10,2	78	78,0

Динаміка відходу птиці дещо відрізнялась в різні роки досліджень, проте слід зазначити, що хвороба Марека у курчат досліджуваної лінії проявляється у 2-6-ти місячному віці, пік захворювання спостерігається у віці 3–4 місяці.

Викликають інтерес результати досліджень 2015 року, в яких у курчат в добовому віці враховували колір оперення, оскільки в публікаціях останніх років звертається увага на роль курячих меланоцитів в інфікуванні вірусом ХМ та взаємодії вірусу зі шкірою птиці [11].

Таблиця 3 – Відхід дослідних курчат з різним кольором оперення від ХМ за 170 днів спостереження

Колір оперення в добовому віці	Кількість курчат у групі	Термін спостереження, діб	Відхід птиці			
			неспецифічний		в т.ч. від ХМ	
			голів	%	голів	%
без диференціації	111	170	11	10,2	78	78,0
світле	77	170	8	10,4	59	76,6
темне	28	170	2	7,1	14	50,0
неспецифічне для курчат 14 лінії	6	170	1	16,7	5	83,3

Серед курчат, посаджених на вирощування, відмічали три відтінки оперення: світле, темне та неспецифічне для курчат 14 лінії породи Полтавська глиняста. За 170 днів спостереження в цілому по групі від ХМ загинуло 78,0 % птиці (табл. 3). Проте, у курчат з різним опереннням в добовому віці показники загибелі від ХМ суттєво відрізнялись. Так, найменша кількість птиці з ознаками хвороби була відмічена у групі, яка мала темне оперення в добовому віці – 50,0 %, тоді як у курчат зі світлим опереннням цей показник був 78,0 %.

При вивченні генетичної структури курей встановлено високий рівень поліморфізму Мх-гену в популяції досліджених курей. Різні генотипи в гомозиготному та гетерозиготному стані представлені на електрофореграмі у вигляді фрагментів ДНК відповідного розміру (рис. 1).

За результатами генотипування «чутливий» алель G представлений у популяції з частотою 0,78, у той час як частота «резистентного» алелю А становила 0,22 (рис. 2).

Проте, по співвідношенню частот алелів Мх-гену в групах, які мали різний колір оперення, виділені підгрупи дещо відрізнялись.

Так, у групі курей з темним опереннням, в якій спостерігався найменший відхід від ХМ – 50,0 %, що суттєво відрізняється від цього показника в цілому по групі (78,0 %), частота «резистентного» алелю А Мх-гену становила 0,6. У той же час у курей, які мали світле оперення в добовому віці та в 76,6 % загинули від ХМ, частота «резистентного» алелю А Мх-гену становила лише 0,27.

Одержані результати дають можливість стверджувати, що кури 14 лінії породи Полтавська глиняста представляють інтерес для проведення подальших досліджень по вивченню генетичної резистентності птиці до ХМ.

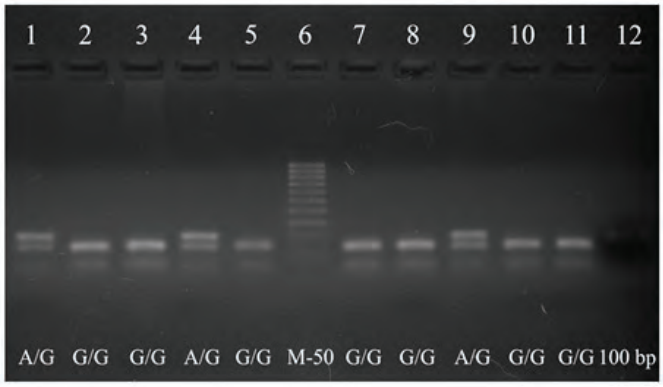

Рис. 1. Електрофореграма продуктів рестрикції фрагменту Mx-гену (14 інтрон-14 экзон) у курей породи Полтавська глиняста (1–12 – номера лунок; М – молекулярний маркер М-50; A/A, A/G, G/G – відповідні генотипи)

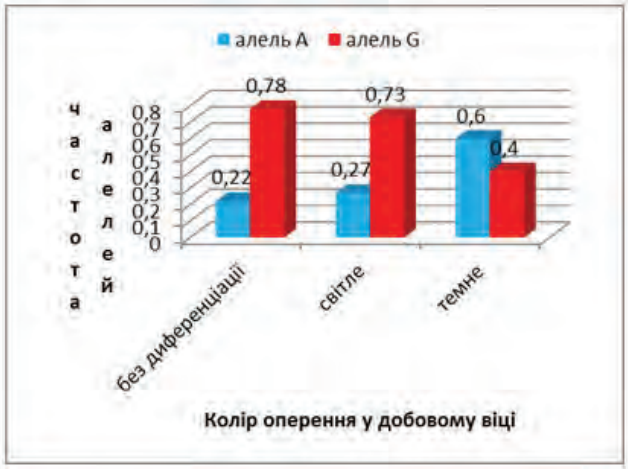

Рис. 2. Співвідношення частот алелів Mx-гену в групах курей з різним кольором оперення

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Установлено, що 22,0–40,0 % курей 14 лінії породи Полтавська глиняста породи проявляють стійкість до інфікування контрольним вірулентним штамом JM-P вірусу хвороби Марека в дозі 1000 $ЕІД_{50}$/0,2 $см^3$.

2. У популяції курей породи Полтавська глиняста Mx-ген є поліморфним. Частота «чутливого» алелю G (0,78) переважає над частотою «резистентного» алелю А (0,22).

3. Показники відходу птиці від ХМ та частоти досліджених алелей відрізнялись у курчат зі світлим і темним оперенням: у птиці з темним оперенням спостерігався найменший відхід від ХМ – 50,0 %, частота «резистентного» алелю А становила 0,6. У курчат, які мали світле оперення та в 76,6 % загинули від ХМ, частота «резистентного» алелю А Mx-гену становила лише 0,27.

4. Для підвищення стійкості курей 14 лінії породи Полтавська глиняста до хвороби Марека необхідно проводити відбір птиці за частотою «резистентного» алелю А Mx-гену та проводити селекційну роботу в напрямку програм відбору та розведення птиці протягом кількох поколінь.

Список літератури

1. Identifying Genetic Determinants Of Host Resistance To Marek's Disease / H. Zhang, S. Chang, J. Dunn [et. al.] // Mat. of International Plant & Animal Genomes XIX Conference 15-19 January. – 2011.
2. Lakshmanan N. Major Histocompatibility Complex Class II DNA Polymorphisms in Chicken Strains Selected for Marek's Disease Resistance and Egg Production or for Egg Production Alone / N. Lakshmanan, J.S. Gavora, S.J. Lamont // Poultry Science, – 1997. – V. 76. – P. 1517 – 1523.
3. Zhi-Quan T. The Genetic Distribution and Polymorphism Analysis of Antiviral Resistant Mx Gene Locus in Fifteen Chinese Indigenous Chicken Breeds / T. Zhi-Quan, W. Xiao-Wei, S. Min [et. al.] // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2010. – 9 (2). – P. 402 – 405.
4. Fulton J.E. Molecular genetics in modern poultry breeding organization / J.E. Fulton // World Poultry Science J. – 2010. – V. 64. – 2. – P. 171 – 176.
5. Marek's disease virus-induced immunosuppression: array analysis of chicken immune response gene expression profiling / M. Heidari, A. Sarson, M. Huebner [et. al.] // Viral. Immunology. – 2010. – V. 23 (3). – P. 309 – 319.
6. Using integrative genomics to elucidate genetic resistance to Marek's disease in chickens / H. Cheng, M. Niikura, W. Mao [et. al.] // Dev. Biol. (Basel). – 2008. – V. 132. – P. 365 – 372.
7. Mapping Quantitative Trait Loci affecting susceptibility to Marek's disease virus in a backcross population of layer chickens / E.M. Heifetz, J.E. Fulton, N.P. O'Sullivan [et. al.] // Genetics. 2007. – V. 177 (4). – P. 2417 – 2431.

8. Zhi-Quan T. The Genetic Distribution and Polymorphism Analysis of Antiviral Resistant Mx Gene Locus in Fifteen Chinese Indigenous Chicken Breeds / T. Zhi-Quan, W. Xiao-Wei, S. Min [et. al.] // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2010. – 9 (2). – P. 402 – 405.
9. Identifying Genetic Determinants Of Host Resistance To Marek's Disease / H. Zhang, S. Chang, J. Dunn [et. al.] // Mat. of International Plant & Animal Genomes XIX Conference 15-19 January. – 2011.
10. Виттер Р.Л. Путь к лучшей вакцине против болезни Марека / Р.Л. Виттер // Эфф. птицеводство. – 2007. – № 3. – С. 34.
11. M.Couteaudier. Marek's disease virus and skin interactions/M.Couteaudier, C. Denesvre// Vet Res.- 2014.- 45(1).-P.36.

THE SENSITIVITY OF THE CHICKENS OF POLTAVSKA CLINISTA TO MAREK'S DISEASE AND THEIR GENETIC STRUCTURE AT THE LOCUS OF THE MX GENE

Beletska G. V., Musica N. M.
State Experimental Station Poultry NAAN, Kharkiv Region, s. Borki, Ukraine

Kulibaba R. A.
Institute of Animal NAAN, Kharkiv, Ukraine

Vovk S. I.
National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraines

In the acute experiment there are studied the sensitivity of chickens of breed of Poltavska glinjasta to Marek's disease and their genetic structure at the loci of the Mx gene, which is considered as a possible marker system for genetic resistance of birds to the MD. In different years of studies from 22.0 up to 40.0 % of the birds were resistant to the disease There are determinated the high degree of polymorphism in birds for this marker system". Sensitive" allele G is represented with high frequency – 0,78, the frequency of "resistant" allele A amounted to only 0.22. An interesting dependence of the sensitivity of chickens to MD and allele frequencies from the color of the plumage of Chicks of this breed in the daily age discovered. Indicators of waste birds from MD and frequencies of the studied alleles were differenced in chickens with a light and dark plumage: the bird with dark plumage was observed the least destruction from MD – 50.0 %, the frequency of "resistant" allele A was 0.6. In chickens that had light plumage 76.6 % were lost by XM, the frequency of "resistant" allele A MX gene was only 0,27. The assumption is made that an increase in the frequency of resistant allele A of the Mx-gene in Poltavska glinjasta chickens makes it possible to increase the resistance of birds to the MD Are need to pursue the selection the bird by frequency of "resistant" allele A MX gene and to carry out breeding work in the direction of programs of selection and breeding birds for several generations.

Keywords: *chickens, Marek's disease, resistance, genetic structure, MX-gene, polymorphism, the frequency of gene, alleles*

УДК: 619:616.981.49

МОНІТОРИНГ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ САЛЬМОНЕЛ, ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ПТИЦІ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

Глєбова К. В., Майборода О. В.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: katerinaglebova25@gmail.com

Коломієць Ю. В.
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

У статті наведено результати моніторингу сальмонельозу птиці. Встановлено, що 1,7 % від загальної чисельності поголів'я птиці є носієм сальмонел. Серед водоплавної птиці сальмонели виділені від 2,01 % поголів'я, від представників ряду курячих сальмонели ізольовані від 1,67 % дослідженої птиці. Найбільша стійкість ізольованих культур сальмонел встановлена до антибактеріальних препаратів групи макролідів (азитроміцин, тілозин), пеніцилінів (амоксицилін) і тетрацикліну (окситетрациклін).

Ключові слова: *Salmonella Enteritidis, лікарська резистентність, продукція птахівництва.*

На сьогодні широке й безконтрольне використання протимікробних препаратів сільськогосподарським тваринам все частіше призводить до формування антибіотикорезистентності бактерій, у тому числі сальмонел. Відомо, що сальмонельоз птиці є однією з основних проблем охорони здоров'я у світі, оскільки важливі джерела білка в харчуванні людини (морепродукти, риба,