

evident, in addition to these animals, unlike rabbits showed no accumulation of macrophages and epithelial cells. Guinea pigs were resistant to paratuberculosis pathogen.

**Conclusions.** The results of postmortem and histological studies suggest that rabbits of 1 months of age, compared with mice and guinea pigs are most susceptible to the pathogen and the optimal model for paratuberculosis reproduction. Intravenous infection with № 5809 field culture induces more pronounced histopathological changes.

**Keywords:** biological model, paratuberculosis reproduction, laboratory animals, methods of infection, pathological and histopathological changes.

УДК 619: 616.98: 578.832.1А: 578.831.11: 616 – 078:59.083.33:568.2(477.7)

## ДОСЛІДЖЕННЯ ДИКИХ ПТАХІВ ЦЕНТРАЛЬНОГО ПРИЧОРНОМОР'Я ЩОДО НАЯВНОСТІ АНТИТІЛ ДО ОРТОМІКСОВІРУСІВ І ПАРАМІКСОВІРУСУ 1 СЕРОТИПУ

Стегній Б.Т., Музика Д.В., Стегній А.Б., Рула О.М., Ткаченко С.В., Майорова К.Ф., Кошелєв В.В., Колесник О.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

**А. Харитх Абдулла**

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

*У статті наведені дані проведення імунологічних досліджень серед диких птахів центрального Причорномор'я та надано результати аналізу епізоотологічної ситуації щодо наявності антитіл до ортоміксовірусів і параміксовірусу 1 серотипу в екстрактах жовтків яєць та сироваток крові.*

**Ключові слова:** грип птиці, ньюкаслська хвороба, сироватки крові, екстракти жовтків яєць, дикі птахи.

Пташиний грип – особливо небезпечне вірусне захворювання птахів, що викликається одним з штамів вірусу грипу типу А. Грип птиці віднесено до списку особливо небезпечних захворювань МЕБ [5].

Мігруючі водоплаваючі птахи (найчастіше дикі качки) є природним резервуаром вірусу пташиного грипу та причиною заносу інфекції у пташині господарства. Разом з тим в силу природної резистентності ці птахи менше всього сприйнятливі до інфекції та можуть подолати у процесі міграції значні відстані. Особливо сприйнятливі до грипу кури та індички.

Параміксовірус 1 (ПМВ-1) серотипу викликає у птахів хворобу Ньюкасла (ND), яка розповсюджена в усьому світі та призводить до великих економічних збитків у птахівництві [1, 2]. Вірус хвороби Ньюкасла (NDV) здатний заразити більше 240 видів птахів, поширюється в основному через прямі контакти між інфікованими та здоровими птахами [3].

ПМВ-1 є єдиним добре охарактеризованим серотипом серед параміксовірусів, через високу захворюваність, смертність та економічні збитки. NDV ізоляти сильно розрізняються за своєю патогенністю для курчат, починаючи від неявної хвороби до важких респіраторних і неврологічних захворювань, які викликають 100 % смертність [4].

Хвороба Ньюкасла є небезпечною інфекційною хворобою серед домашніх птахів і тому випадки її спалахів мають бути доведені до Всесвітньої організації з охорони здоров'я тварин (МЕБ) [5].

З огляду на вищезазначене стає зрозумілим необхідність постійного моніторингу збудників вірусу грипу та ньюкаслської хвороби для своєчасного реагування та запобігання їх розповсюдженню у випадках спалахів даних захворювань на території України.

**Мета роботи:** провести імунологічні дослідження диких птахів центрального Причорномор'я, визначити наявність антитіл до ортоміксовірусів підтипів Н1–Н14 і параміксовірусу 1 серотипу в жовтку яєць та сироватках крові.

**Матеріали та методи.** Для проведення серологічних досліджень у місцях скупчення дикої птиці на території центрального Причорномор'я було відібрано проби біологічного матеріалу від 8 видів птиці. Проби крові відбирали від побережника чорногрудого (*calidris alpina*) у Джанкойському р-ні поблизу с. Єрмакове (АР Крим), від коловодника звичайного (*tringa totanus*) і кулика-сороки (*haematopus ostralegus*) поблизу с. Придорожнє.

Яйця від мартина тонкодзьобого (*larus genei*), чайки (*larus*) і чоботаря (*recurvirostra avosetta*) відібрали у Джанкойському р-ні поблизу с. Яснополянське (АР Крим).

Відбір крові від дикої птиці проводили згідно до загальноприйнятих методик, рекомендованих МЕБ з підкрильцевої або з яремної вени, для подальшого отримання сироватки крові [5].

Екстракти жовтків яєць готували за методикою, яка передбачала: ретельне змішування жовтка з фізіологічним розчином у співвідношенні 1:1, додавання до цієї суміші рівного об'єму хлороформу, шутелювання протягом 5–10 хвилин і центрифугування при 3000 об/хв. 15 хвилин [6].

Для проведення серологічних досліджень сироваток крові та екстрактів жовтків використовували «Тест-систему для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н1-Н14 в реакції затримки

гемаглютинації (РЗГА)» (ТУ У 24.4-004970087-050:2008), розроблену в лабораторії з вивчення вірусних хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ». ІФА на грип і параміксовірус 1 серотипу проводили комерційними наборами виробництва IDEXX. Серологічні дослідження проводили згідно до загальноприйнятих методик, рекомендованих МЕБ [5].

**Результати досліджень.** Проведено імунологічні дослідження екстрактів жовтків яєць та сироваток крові відібраних від диких птахів центрального Причорномор'я щодо наявності антитіл до ортоміксовірусів і параміксовірусу 1 серотипу.

Результати імунологічних досліджень на наявність антитіл до ортоміксовірусів у екстрактах жовтків яєць, відібраних від чоботаря, лиски, чайки, дерихвоста степового та мартина тонкодзьобого, а також сироваток крові, відібраних від кулика-сороки, коловодника звичайного та побережника чорногрудого наведено відповідно в таблицях 1 та 2.

**Таблиця 1** – Результати ІФА щодо наявності антитіл до вірусу грипу в екстрактах жовтків яєць

Вид птахів	Кількість позитивних/негативних
чоботар, n=11	позитивні – 10; негативна – 1
лиска, n=2	негативні – 2
чайка, n=1	негативна – 1
дерихвіст степовий, n=2	негативні – 2
мартин тонкодзьобий, n=12	позитивні – 5; негативні – 7
кулик-сорока, n=1	негативна – 1
коловодник звичайний, n=1	негативна – 1
побережник чорногрудий, n=3	негативні – 3

За результатами досліджень з 32 проб біологічного матеріалу позитивними до вірусу грипу виявились 15 (10 проб екстрактів жовтків яєць відібраних від чоботаря (91 %) і 5 мартина тонкодзьобого (42 %).

За отриманими результатами екстракти жовтків, які виявились позитивними до вірусу грипу в ІФА продовжили досліджувати в РЗГА для визначення підтипу гемаглютиніну. Результати наведено в таблиці 2.

**Таблиця 2** – Результати РЗГА щодо наявності антитіл до вірусу грипу підтипів Н1-Н14 в екстрактах жовтків яєць

Вид птахів	Антигени вірусу грипу	Титри антитіл
1	2	3
чоботар, n=10	Н1, Н2, Н3, Н4, Н5, Н6, Н7, Н8, Н9, Н11, Н12	АТ відсутні
	Н10	позитивні 3 проби у розведенні 1:8
	Н13	позитивна 1 проба у розведенні 1:8
	Н14	позитивні 9 проб у розведенні 1:8
мартин тонкодзьобий, n=5	Н1, Н2, Н3, Н4, Н5, Н6, Н7, Н8, Н9, Н11, Н12	АТ відсутні
	Н10	позитивна 1 проба у розведенні 1:8
	Н13	позитивні 4 проби у розведенні 1:8
	Н14	позитивна 1 проба у розведенні 1:8

Так, антитіла до вірусу грипу підтипу Н10 виявлено в 33,3 %, до вірусу грипу підтипу Н13 – у 10 % проб, а до підтипу Н14 – у 90 % проб, відібраних від чоботарів. До вірусу грипу підтипів Н10 та Н14 серед проб екстрактів жовтків, відібраних від мартина тонкодзьобого, виявили 20 % позитивних, а до вірусу грипу підтипу Н13 – 80 %.

Також проведено дослідження зазначених вище екстрактів жовтків у РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусів 1 серотипу. Результати наведено в таблиці 3.

**Таблиця 3** – Результати РЗГА щодо наявності антитіл до параміксовірусу 1 серотипу серед диких птахів центрального Причорномор'я

Вид птахів	Матеріал	Антигени	Титри антитіл
чоботар, n=11	Екстракти жовтків	ПМВ-1	АТ відсутні
лиска, n=2	Екстракти жовтків	ПМВ-1	АТ відсутні
чайка, n=1	Екстракти жовтків	ПМВ-1	АТ відсутні
дерихвіст степовий, n=2	Екстракти жовтків	ПМВ-1	АТ відсутні
мартин тонкодзьобий, n=12	Екстракти жовтків	ПМВ-1	АТ відсутні
кулик-сорока, n=1	Сироватки крові	ПМВ-1	7 log <sub>2</sub> – 1 проба
коловодник звичайний, n=1	Сироватки крові	ПМВ-1	АТ відсутні
побережник чорногрудий, n=3	Сироватки крові	ПМВ-1	АТ відсутні

За результатами проведених досліджень серед усіх сироваток крові виявлено наявність антитіл до параміксовірусу 1 серотипу тільки в сироватці від кулика-сороки в розведенні 7 log<sub>2</sub>.

**Висновки.** 1. За результатами дослідження в ІФА тест-системі з 32 проб біологічного матеріалу (сироватки крові та жовтки яєць) відібраного від 8 видів птиці позитивними до вірусу грипу А виявилися тільки 10 проб жовтків яєць чоботаря (91 %) і 5 проб – мартина тонкодзьобого (42 %).

2. За результатами проведених серологічних досліджень в РЗГА (що дали позитивний результат в ІФА тест-системі) на наявність вірусу грипу А отримали дані, що антитіла до вірусу грипу підтипу Н10 виявлено в 33,3 % проб, до вірусу грипу підтипу Н13 – у 10 % проб, а до підтипу Н14 – у 90 % проб, відібраних від чоботарів. До вірусу грипу підтипів Н10 та Н14 серед проб екстрактів жовтків, відібраних від мартина тонкодзьобого, виявили 20 % позитивних, а до вірусу грипу підтипу Н13 – 80 %.

3. За результатами дослідження в РЗГА тест-системі щодо наявності антитіл до параміксовірусу 1 серотипу (нюкаслська хвороба) виявлено наявність антитіл тільки в сироватці від кулика-сороки в розведенні 7 log<sub>2</sub>.

#### Список літератури

1. Lancaster JE: A history of Newcastle disease with comments on its economic effects. *World Poultry Sci J* 1976, 32:167-175.
2. Spradbrow PB: Geographical distribution. In *Newcastle Disease*. Edited by Alexander DJ. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988:247-255.
3. Kaleta EF, Baldauf C: Newcastle disease in free-living and pet birds. In *Newcastle Disease*. Edited by Alexander DJ. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988:197-246.
4. Pedersen JC, Senne DA, Woolcock PR, Kinde H, King DJ, et al. (2004) Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from the 2002–2003 outbreak in California and other recent outbreaks in North America. *J Clin Microbiol* 42: 2329–2334.
5. OIE 2012. *Terrestrial manual 2012: manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. World Organisation for Animal Health, Paris, France.
6. Музика, Д.В. Епізоотичний моніторинг вірусних хвороб у диких птахів в Україні: // автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.08 / Д.В. Музика; ННЦ "ІЕКВМ" – Харків, 2006 – 5 с.

### STUDY OF WILD BIRDS CENTRAL BLACK SEA FOR AVAILABILITY ANTIBODIES TO ORTOMIXOVIRUS INFECTIONS AND PARAMYXOVIRUS SEROTYPE 1

Stegniy B.T., Muzyka D.V., Stegnyy A.B., Rula A.N., Tkachenko S.V., Mayorova K.F., Kosheliev V.V., Kolesnik E.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

A. Khartih Abdulla

Kharkiv State Zooveterinary Academy

**Objective.** To conduct immunological studies of wild birds central Black Sea, in extracts of egg yolk and blood serum to determine the presence of antibody titers to ortomiksovirus H1–H14 infections and paramyxovirus serotype 1.

**Materials and methods.** To carry out serological research in wild birds in the territory of the central Black Sea samples were taken Biology of the material from 8 species birds. Samples blood were taken in Crimea in Ermakovo from Dunlin and Prydorozhnoe from Redshank and Oystercatcher.

Egg were taken in Crimea, Yasnopolyanskoe from Slender-billed Gull, Lapwing and Avocet.

Sampling of blood from wild birds was performed according to conventional methods recommended by the OIE from jugular vein for further serum [5].

Liquid egg yolks prepared by the following method: thoroughly mixing the yolk with saline at a ratio of 1:1, and adding to this mixture an equal volume of chloroform shaken for 5–10 minutes and centrifugation at 3000 per/min 15 minutes [6].

**Conclusions.** 1. According to a study in the ELISA test system with 32 samples of biological material (blood serum and egg yolks) selected from 8 kinds of birds positive for influenza A virus were only 10 Avocet eggs yolks samples (91 %) and 5 Slender-billed Gull (42 %).

2. According to the results of the identification of blood serum (which gave a positive result in the ELISA test system) with the reference influenza A in haemagglutination inhibition test system received data that antibodies to the influenza virus subtype H10 detected in 33.3 % of samples to influenza virus subtype H13 – in 10 % of the samples , and subtype H14 – in 90 % of samples taken from the Avocet. For influenza virus subtypes H10 and H14 samples of yolk extracts selected from the Slender-billed Gull, found 20 % positive, and influenza virus subtype H13 – 80 %.

3. According to a study in haemagglutination inhibition test system for presence of antibodies to paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease) revealed the presence of antibodies in the serum of only Oystercatcher in breeding 7 log<sub>2</sub>.

**Keywords:** avian influenza, Newcastle disease, serum, extracts yolks of eggs, wild birds.

УДК 619:616.34-022-07:636.2-053.2

### **РОЗРОБКА ТА АПРОБАЦІЯ СИСТЕМИ МОНІТОРИНГУ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ КОНТАМІНАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ САЛЬМОНЕЛАМИ**

**Герілович А.П., Глєбова К.В., Ареф'єв В.Л.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: antger@vet.kharkov.ua

Запропонована схема проведення моніторингових досліджень на наявність контамінації представниками роду *Salmonella* біологічних об'єктів із застосуванням тест-системи на основі полімеразної ланцюгової реакції, яка дозволяє у найкоротший термін визначити наявність генетичного матеріалу сальмонел та одночасно генотипувати серед них п'ять найбільш розповсюджених видів. Проведена практична апробація запропонованої схеми моніторингових досліджень та порівняно результати молекулярно-генетичних та бактеріологічних методів виявлення контамінації.

**Ключові слова:** сальмонела, контамінація, система моніторингу.

Сальмонельози – це одні з найбільш розповсюджених і небезпечних токсикоінфекцій людини, сільськогосподарських, свійських і диких тварин, що спричиняються бактеріями роду *Salmonella*. Джерелом інфекції є як хворі на сальмонельоз особини, так і здорові бактеріоносії, які можуть виділяти збудника багато місяців і навіть років. У харчових продуктах, особливо в напівфабрикатах, сальмонели не лише зберігаються, але й швидко розмножуються. Зараження сальмонелою відбувається внаслідок споживання контамінованих продуктів харчування: м'яса птиці, товарного яйця та яєчних продуктів, молока та молочних продуктів [4, 5].

Актуальність проблеми контамінації сальмонелою різних біологічних об'єктів на сьогоднішній день не підлягає сумніву. Невідкладним питанням є розробка системи ранньої діагностики наявності сальмонел у продуктах харчування, тваринній сировині тощо. Тому потреба у сучасних умовах прискорити визначення наявності сальмонел у якості контамінантів біологічних об'єктів, а також знизити загальні фінансові витрати на дослідження стала причиною розробки методик раннього виявлення та типування серологічного варіанту збудника на основі полімеразної ланцюгової реакції.

**Мета роботи.** Розробка та практична апробація у ветеринарній лабораторній практиці тест-системи на основі полімеразної ланцюгової реакції для визначення наявності будь-якого представника роду *Salmonella* та типування найбільш розповсюджених серологічних варіантів, апробація системи моніторингу контамінації біологічних об'єктів сальмонелами з визначенням найбільш широко розповсюджених серологічних варіантів.

**Матеріали та методи.** Для проведення моніторингу біологічних об'єктів щодо контамінації сальмонелами були досліджені проби готових кормів для птиці різного віку та кормових добавок (n=240), що були отримані з птахогосподарств різних форм власності.

Для розробки та апробації системи моніторингу були використані бактеріологічні та молекулярно-діагностичні методи на основі полімеразної ланцюгової реакції з парами праймерів: Salm\_3 + Salm\_4 (виявляє генетичний матеріал всіх представників роду *Salmonella* без видової ідентифікації) та пар праймерів, які виявляють генетичний матеріал окремих видів представників роду *Salmonella*: Sent\_F+Sent\_R (для *Salmonella enterica Enteritidis* – 299 п.н.); Styp\_F+Styp\_R (для *Salmonella enterica*