

УДК 619:616.98:578.831/.832:57.083.33:598.2(477.7)

СЕРОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ ПАРАМІКСОВІРУСІВ ТА ОРТОМІКСОВІРУСІВ СЕРЕД ДИКИХ ПТАХІВ ПІВДЕННО-СХІДНОГО ПРИЧОРНОМОР'Я В 2014 РОЦІ

Стегній Б.Т., Музика Д.В., Стегній А.Б., Рула О.М., Ткаченко С.В., Колесник О.С.,
Кошелєв В.В., Білойван О.В., Полторацький Є.В., Музика Н.М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: dmuzyka77@gmail.com

А. Харитх Абдулла

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна

У статті наведена інформація щодо результатів проведення серологічних досліджень екстрактів жовтків яєць, відібраних від дикої водоплавної птиці. Встановлена їх серопозитивність до вірусу ПМВ-1 на рівні 49 % досліджених проб. До ПМВ-2 позитивними виявилися 12,82 % проб від мартина тонкодзьобого та 4,35 % проб від чоботаря; до ПМВ-4 – 28,21 % проб від мартина тонкодзьобого та 8,7 % проб від чоботаря; до вірусу ПМВ-6 позитивними виявилися 66,67 % проб від мартина тонкодзьобого, а до ПМВ-7 – 15,39 % проб також від мартина тонкодзьобого. До вірусу грипу різних підтипів виявилися позитивними від 10 до 60 % досліджених проб.

Ключові слова: південно-східне Причорномор'я, параміксовіруси, ортоміксовіруси, реакція затримки гемаглютинації, імуноферментний аналіз.

На сьогоднішній день Україна є державою з розвиненим промисловим птахівництвом – за приростом м'яса птиці країна займає перші місця. Основними загрозами для галузі на сьогодні є інфекційні хвороби, у першу чергу, особливо небезпечні, такі, як грип і ньюкаслська хвороба (НХ).

Епізоотична ситуація у світі щодо грипу птиці залишається складною. З проблемою грипу стикаються як високорозвинені країни, так і ті, що розвиваються [1, 2, 3, 4]. Особливе занепокоєння міжнародної спільноти викликає той факт, що деякі підтипи вірусу грипу здатні спричинити захворювання у людей.

Натомість, параміксовірусні захворювання птиці не становлять великої загрози здоров'ю людей, але деякі з них (параміксовірусна інфекція курей першого серотипу або НХ) мають величезне епізоотологічне значення для птахівництва. Інфекція відома давно та, не дивлячись на широку програму вакцинації, спалахи НХ виникають щорічно у великій кількості. Так, протягом 2005–2014 років випадки захворювання реєстрували в 126 країнах світу [5].

Отже, **метою** нашої роботи було проведення серологічних досліджень екстрактів жовтків яєць, відібраних від диких птахів на території південно-східного Причорномор'я, на наявність антитіл до орто- та параміксовірусів птиці.

Матеріали та методи. З метою проведення серологічних досліджень в 2014 році в місцях скупчення дикої птиці на території південно-східного Причорномор'я були відібрані проби яєць від 6 видів птиці: галагаз (*Tadorna tadorna*), мартин тонкодзьобий (*Larus genei*), чоботар (*Recurvirostra avosetta*), крячок чорнодзьобий (*Gelochelidon nilotica*), мартин малий (*Larus minutus*) і крячок річковий (*Sterna hirundo*). Екстракти жовтків готували за методикою, яка передбачала ретельне змішування жовтка з фізіологічним розчином у співвідношенні 1:1, додавання до цієї суміші рівного об'єму хлороформу, бутелювання протягом 10 хвилин і центрифугування при 3000 об/хв. протягом 15 хвилин [6].

Для проведення серологічних досліджень в імуноферментному аналізі (ІФА) використовували тест-систему виробництва фірми «IDEXX» (США), а також «Тест-систему для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н1-Н14 в реакції затримки гемаглютинації» (виробництво ННЦ «ІЕКВМ»). Дослідження проводили відповідно до настанови до застосування набору, а також згідно загальноприйнятих методик, рекомендованих Міжнародним епізоотичним бюро (МЕБ) [7]. Постановку реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) здійснювали згідно рекомендацій МЕБ.

Результати досліджень. Під час гніздування проведено збір яєць від диких птахів, екстракти яких досліджено на наявність антитіл до параміксовірусу першого серотипу (вірусу ньюкаслської хвороби (НХ)) в ІФА. Результати зазначених досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати досліджень екстрактів жовтків в ІФА на наявність антитіл до параміксовірусу 1 серотипу (вірус НХ)

Вид птахів	Загальна кількість проб	Кількість позитивних проб	Кількість негативних проб
галагаз	1	1	–
мартин тонкодзьобий	39	19	20
чоботар	23	12	11
крячок чорнодзьобий	2	1	1

Розділ 1. Проблеми біобезпеки та біозахисту

мартин малий	6	2	4
крячок річковий	3	1	2

За результатами серологічних досліджень в ІФА виявили наявність антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби у 49 % відібраних проб.

Крім цього, дослідження екстрактів від зазначених птахів проводили в РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусів 2, 4, 6 та 7 серотипів. Результати наведено в таблицях 2–5.

Таблиця 2 – Результати досліджень екстрактів жовтків в РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусу 2 серотипу

Вид птахів	Загальна кількість проб	Кількість позитивних проб	Кількість негативних проб
галагаз	1	–	1
мартин тонкодзьобий	39	4 проби 1:32; 1 проба 1:64	34
чоботар	23	1 проба 1:8	22
крячок чорнодзьобий	2	–	2
мартин малий	6	–	6
крячок річковий	3	–	3

Отже, за результатами проведених досліджень виявлено 12,82 % позитивних проб до параміксовірусу 2 серотипу у пробах екстрактів жовтків від мартина тонкодзьобого, а також позитивна 1 проба (4,35 %) від чоботаря.

Таблиця 3 – Результати досліджень екстрактів жовтків в РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусу 4 серотипу

Вид птахів	Загальна кількість проб	Кількість позитивних проб	Кількість негативних проб
галагаз	1	–	1
мартин тонкодзьобий	39	5 проб 1:32; 4 проби 1:64; 2 проби 1:128	28
чоботар	23	2 проби 1:16	21
крячок чорнодзьобий	2	–	2
мартин малий	6	–	6
крячок річковий	3	–	3

За результатами отриманих досліджень виявлена серопозитивність у 28,21 % проб жовтка яєць мартина тонкодзьобого та в 8,7 % проб жовтка чоботаря. Решта проб виявилася негативними.

Таблиця 4 – Результати досліджень екстрактів жовтків в РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусу 6 серотипу

Вид птахів	Загальна кількість проб	Кількість позитивних проб	Кількість негативних проб
галагаз	1	1 проба 1:128	–
мартин тонкодзьобий	39	7 проб 1:8; 5 проб 1:16; 6 проб 1:32; 6 проб 1:64; 2 проби 1:128	13
чоботар	23	–	23
крячок чорнодзьобий	2	–	2
мартин малий	6	–	6
крячок річковий	3	–	3

Тож, за результатами досліджень в РЗГА виявили 66,67 % позитивних проб від мартина тонкодзьобого до параміксовірусу 6 серотипу.

Таблиця 5 – Результати досліджень екстрактів жовтків в РЗГА на наявність антитіл до параміксовірусу 7 серотипу

Вид птахів	Загальна кількість проб	Кількість позитивних проб	Кількість негативних проб
галагаз	1	–	1
мартин тонкодзьобий	39	2 проби 1:8; 2 проби 1:16; 2 проби 1:32	33
чоботар	23	–	23
крячок чорнодзьобий	2	–	2
мартин малий	6	–	6
крячок річковий	3	–	3

Серед проб, відібраних від мартина тонкодзьобого, встановлено 15,39 % позитивних.

Вивчення наявності антитіл до вірусу грипу підтипів Н1-Н14 проводили в РЗГА, результати наведено в таблиці 6.

Таблиця 6 – Наявність антитіл до вірусу грипу підтипів Н1-Н14

Підтипи вірусу грипу	галагаз (n=1)	мартин тонкодзьобий (n=39)	чоботар (n=23)	крячок чорнодзьобий (n=3)	мартин малий (n=6)	крячок річковий (n=3)
Н1	–	1 проба 1:64	–	–	–	–
Н2	–	1 проба 1:16	–	–	–	–
Н3	–	1 проба 1:8	–	–	–	–
Н4	–	1 проба 1:16	–	–	–	–
Н5	–	2 проби 1:16 3 проби 1:32	–	–	–	–
Н6	–	–	–	–	–	–
Н7	–	4 проби 1:16 1 проба 1:64 1 проба 1:128	–	–	–	–
Н8	–	2 проби 1:16 3 проби 1:32 1 проба 1:64	1 проба 1:16 1 проба 1:32	–	–	–
Н9	–	5 проб 1:16 4 проби 1:32 1 проба 1:64 1 проба 1:128	2 проби 1:16 2 проби 1:32 1 проба 1:64	–	1 проба 1:16	–
Н10	1 проба 1:32	17 проб 1:16 2 проби 1:32 1 проба 1:64 1 проба 1:128	1 проба 1:16 1 проба 1:128	–	–	–
Н11	1 проба 1:8	9 проб 1:16 3 проби 1:32 2 проби 1:64	4 проби 1:128 1 проба 1:64	–	1 проба 1:16	–
Н12	–	2 проби 1:128	1 проба 1:64	–	–	–
Н13	–	1 проба 1:16	–	–	–	–
Н14	–	7 проб 1:16 1 проба 1:32 3 проби 1:64 3 проби 1:128	14 проб 1:16 2 проби 1:32 3 проби 1:64 1 проба 1:128	2 проби 1:128	7 проб 1:64	3 проби 1:128

Отже, за результатами проведених досліджень в РЗГА антитіла до вірусу грипу виявлено в жовтку всіх видів птиці. Так, до підтипів Н1-Н5, Н7-Н8 та Н10-Н13 позитивний результат мали менш ніж 10 % проб відібраних від мартина тонкодзьобого, чоботаря та мартина малого. До підтипів Н9-Н10 біля 30 % проб відібраних від галагаза, мартина тонкодзьобого, чоботаря та мартина малого виявилися позитивними, а до підтипу Н14 – майже 60 % проб відібраних від крячка чорнодзьобого,

мартина тонкодзьобого, чоботаря, мартина малого та крячка річкового. До вірусу грипу підтипу H6 не було виявлено жодної позитивної проби.

Висновки. За результатами проведених досліджень серопозитивність до параміксовірусів 1, 2, 4, 6 та 7 серотипів виявлена в жовтку мартина тонкодзьобого відповідно в 48,7; 12,8; 28; 66,7 та 15,4 % випадків. Наявність антитіл у жовтку інших диких птахів до вищезазначених збудників коливалася від 0 до 52,2 %.

До вірусу грипу підтипів H1-H5, H7-H8 та H10-H13 позитивний результат мали менше 10 % проб, відібраних від мартина тонкодзьобого, чоботаря та мартина малого. До підтипів H9-H10 біля 30 % проб відібраних від галагаза, мартина тонкодзьобого, чоботаря та мартина малого виявилися позитивними, а до підтипу H14 – майже 60 % проб відібраних від крячка чорнодзьобого, мартина тонкодзьобого, чоботаря, мартина малого та крячка річкового.

З огляду на отримані результати вбачається доцільним подальше проведення серологічного та вірусологічного моніторингу серед диких птахів Причорноморського регіону.

Список літератури

1. Capua, I. Ecology, Epidemiology and Human Health Implications of Avian Influenza Viruses: Why do We Need to Share Genetic Data? [Text] / I. Capua, D.J. Alexander // Zoonoses Public Health – 2008. Vol. 55(1) – P. 2-13.
2. Sharshov, K. Avian influenza (H5N1) outbreak among wild birds [Text] / K. Sharshov, N. Silko, I. Souslopárov, A. Zaykovskaya, A. Shestopalov, I. Drozdov // Emerg Infect Dis. – 2010. Vol. 16 – P. 349–351.
3. Шестопалов А. М. Высокопатогенный грипп птиц А(Н5N1): ситуация в 2009-2012 гг. и прогноз пандемического потенциала [Текст] / А. М. Шестопалов, Н. В. Кихтенко, А. Н. Сергеев, В. Н. Михеев, Т. Н. Ильичева, А. Б. Рыжиков // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. № 1 – С. 44-50.
4. Soltanialvar, M. Genetic analysis of polymerase complex (PA, PB1 and PB2) genes of H9N2 avian influenza viruses from Iran (1999 to 2009) [Text] / M. Soltanialvar, R. Goodarzi, F. Akbarnejad // Asian Pac J Trop Biomed. – 2012. Vol. 2(11) – P. 858-862.
5. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=0&disease_id_hidden=16&selected_disease_name_hidden=Newcastle+disease+%28+-+%29+&disease_type=0&disease_id_terrestrial=16&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2015&selected_report_period=1&selected_start_month=1
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.
7. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf

SEROLOGICAL MONITORING OF ORTHOMYXOVIRUSES AND PARAMYXOVIRUSES AMONG WILD BIRDS OF southeastern BLACK SEA IN 2014

**Stegniy B.T., Muzyka D.V., Stegnyy A.B., Rula O.M., Tkachenko S.V., Kolesnik O.S.,
Koshelev V.V., Biloyvan O.V., Poltorazky E.V., Muzyka N.M.**

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

A. Khartih Abdulla

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

The purpose of this work was to conduct serological tests of egg yolk extracts taken from wild birds in South-Eastern Black Sea region, the presence of antibodies to avian ortho- and paramyxoviruses.

Materials and methods. In order to perform studies samples of eggs from 6 species of birds have been collected: Shelduck (Tadorna tadorna), Slender-billed Gull (Larus genei), Avocet (Recurvirostra avocetta), Gull-billed Tern (Gelocheilidon nilotica), Little gull (Larus minutus) and Common Tern (Sterna hirundo). Egg yolk extracts have been prepared using the generally accepted method. An availability of antibodies to paramyxovirus has been determined with hemagglutination inhibition test, and to influenza virus - with ELISA test.

Results. The studies revealed the presence of antibodies to the para- and orthomyxoviruses in egg yolks of wild birds in the Black Sea region of Ukraine.

Conclusions. 1. According to results of studies serological positivity to the paramyxovirus serotypes 1, 2, 4, 6 and 7 has been revealed in the yolk of Slender-billed Gull, in 48,7; 12,8; 28; 66,7 and 15,4 % of cases respectively. The presence of antibodies in the yolk of other wild birds to above mentioned pathogens ranged from 0 to 52,2 %.

2. Positive result to the influenza virus subtypes H1-H5, H7, H8 and H10-H13 had less than 10 % of samples taken from the Slender-billed Gull, Avocet and Little gull. To subtypes H9-H10 about 30 % of the samples selected from Shelduck, Slender-billed Gull, Avocet and Little gull were positive, and the subtype H14 - almost 60 % of samples selected from Gull-billed Tern, Gull Slender-billed, Pied avocet, Avocet and Little gull.

Keywords: south-east Black Sea, orthomyxoviruses, paramyxoviruses, hemagglutination-inhibition test, enzyme-linked immunosorbent assay.