

УДК 619:616.98-078:578.831.1:578.832.1:57.083.33:598.2(477.64)

ДОСЛІДЖЕННЯ ДИКИХ ПТАХІВ ПРИАЗОВ'Я ЩОДО НАЯВНОСТІ АНТИТІЛ ДО ОРТОМІКСОВІРУСІВ І ПАРАМІКСОВІРУСІВ

Стегній Б.Т., Музика Д.В., Рула О.М., Білойван О.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: Silverscreen91@gmail.com

У статті представлені результати проведення серологічних досліджень серед диких птахів північного Приазов'я щодо наявності антитіл до орто- та параміксовірусів, а також визначено рівень антитіл до нейрамінідази N1 вірусу грипу в жовтках яєць.

Ключові слова: грип птиці, ньюкаслська хвороба, екстракти жовтків яєць.

Пташиний грип – особливо небезпечне вірусне захворювання птахів, що викликається одним із 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 птахогосподарства. Разом з тим у 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 серотипу (ПМВ-1) викликає у птахів ньюкаслську хворобу (НХ), яка розповсюджена в усьому світі та призводить до великих економічних збитків у птахівництві [1, 2]. Вірус ньюкаслської хвороби (НХ) патогенний для більш ніж 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. Ізоляти вірусу НХ 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 відома Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) [5].

З огляду на надзвичайне соціально-економічне, епідеміологічне значення, географічне положення України, структуру пташівництва, відсутність вітчизняних засобів діагностики та профілактики, а також наявність ризиків занесення орто- та параміксовірусних інфекцій, стає зрозумілим необхідність постійного моніторингу щодо виділення збудників вірусу грипу та ньюкаслської хвороби для своєчасного реагування та запобігання їх розповсюдженню у випадках спалахів даних захворювань на території України.

Мета роботи – провести серологічні дослідження диких птахів північного Приазов'я щодо наявності антитіл до орто- та параміксовірусів у жовтках яєць.

Матеріали та методи. Для дослідження були відібрані зразки біологічного матеріалу (жовтків яєць) у кількості 70 проб від птиці наступних видів: галагаз звичайний (*Tadorna tadorna*), морський голубок (*Larus genei*), чоботар (*Recurvirostra avosetta*), крикоч річковий (*Sterna hirundo*), рябодзьобий (*Thalasseus sandvicensis*) і малий (*Sterna albifrons*) (таблиця 1).

Таблиця 1 – Дані щодо відібраних зразків біологічного матеріалу

Вид птахів та кількість проб	Місце відбору
Галагаз звичайний – <i>Tadorna tadorna</i> (n=1)	с. Давидівка (Запорізька обл.)
Морський голубок – <i>Larus genei</i> (n=14)	
Морський голубок – <i>Larus genei</i> (n=22)	с. Азовське (Запорізька обл.)
Чоботар – <i>Recurvirostra avosetta</i> (n=16)	с. Давидівка
Рябодзьобий крикоч – <i>Thalasseus sandvicensis</i> (n=2)	
Чоботар – <i>Recurvirostra avosetta</i> (n=7)	с. Азовське
Річковий крикоч – <i>Sterna hirundo</i> (n=3)	Давидівка
Рябодзьобий крикоч – <i>Thalasseus sandvicensis</i> (n=3)	
Малий крикоч – <i>Sterna albifrons</i> (n=3)	

Для проведення досліджень були виготовлені екстракти жовтків за розробленою 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 [7]. Серологічні дослідження на наявність антитіл до хвороби Ньюкасла, підтипів грипу А (Н1-Н14) та параміксовірусів (ПМВ-2, ПМВ-4, ПМВ-6, ПМВ-7) проводились за допомогою реакції

Розділ 3. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

затримки гемаглютинації (РЗГА). Також з метою виявлення наявності нейрамінідази вірусу грипу N1 було проведено дослідження матеріалу за методом твердофазної ІФА (ELISA) за допомогою набору тест-системи фірми IDEXX (США).

Результати досліджень. Результати серологічних досліджень щодо орто- та параміксовірусів наведені в таблицях 2, 3 та 4.

Таблиця 2 – Кількість проб, що мали позитивну реакцію на ортоміксовіруси

Номер проби та їх кількість	Назва ізоляту													
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14
Галагаз	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
М. гол. (Давидівка) (n=14)	0	0	0	0	2	0	2	1	2	10	2	0	1	0
М. гол. (Азовське) (n=22)	1	1	1	1	3	0	4	4	9	10	11	2	0	14
Чоботар (Давидівка) (n=16)	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	4	0	0	12
Рябодзьобий крячок (n=2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Чоботар (Азовське) (n=7)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1	0	7
Річковий крячок (n=3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3
Річконосий крячок (n=3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Малий крячок (n=3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3

За результатами досліджень, із 70 проб жовтків яєць, відібраних від 6 видів диких птахів, 62 виявились позитивними на ортоміксовіруси (88,6 %).

Таблиця 3 – Кількість позитивно реагуючих на параміксовіруси біопроб і середній титр антитіл

Номер проби та їх кількість	Назва підтипу параміксовірусу				
	ПМВ1	ПМВ2	ПМВ4	ПМВ6	ПМВ7
Галагаз (n=1)	1	0	0	1	0
М. гол. (Давидівка) (n=14)	8	1	3	12	1
М. гол. (Азовське) (n=22)	11	4	8	10	5
Чоботар (Давидівка) (n=16)	9	0	1	0	0
Рябодзьобий крячок (n=2)	1	0	0	0	0
Чоботар (Азовське) (n=7)	3	1	1	0	0
Річковий крячок (n=3)	1	0	0	0	0
Річконосий крячок (n=3)	1	0	0	0	0
Малий крячок (n=3)	1	0	0	0	0

За результатами досліджень, з 70 проб жовтків яєць, відібраних від 6 видів диких птахів, 36 виявились позитивними на параміксовіруси (51,4 %).

Таблиця 4 – Результати ІФА щодо виявлення нейрамінідази N1 вірусу грипу в жовтках яєць

Номер проби та їх кількість	Результат
Галагаз (n=1)	Антитіла відсутні – 1 проба
М. гол. (Давидівка) (n=14)	Антитіла відсутні – 14 проб
М. гол. (Азовське) (n=22)	Позитивні проби 2
Чоботар (Давидівка) (n=16)	Позитивні проби 4
Рябодзьобий крячок (n=2)	Антитіла відсутні – 2 проби

Чоботар (Азовське) (n=7)	Позитивні проби 2
Річковий крячок (n=3)	Антитіла відсутні – 3 проби
Річконосий крячок (n=3)	Позитивні проби 2
Малий крячок (n=3)	Антитіла відсутні – 3 проби

З таблиці 4 видно, що за результатами виявлення наявності нейрамінідази N1 в ІФА з 70 проб жовтків яєць, 10 проб виявилися позитивними.

За результатами вірусологічних досліджень біологічного матеріалу (трахеальні та клоакальні змиви) гемагглютинуючих ізолятів виділено не було.

Таким чином, враховуючи дані літературних джерел і результати проведених моніторингових і вірусологічних досліджень, можна зазначити, що орто- та параміксовіруси, а саме небезпека їх занесення до господарств дикими птахами, є актуальною проблемою для птахівництва України. У зв'язку з цим, у ННЦ «ІЕКВМ» продовжують проводити епізоотичний моніторинг цих інфекцій та розробку вітчизняних засобів діагностики, а саме: створення набору для виявлення антитіл до параміксовірусної інфекції птахів імуноферментним методом.

Висновки. 1. За результатами проведених серологічних досліджень жовтків яєць диких птахів на наявність антитіл до орто- та параміксовірусів, з 70 проб жовтків яєць, відібраних нами від 6 видів диких птахів Приазов'я, 51,4 % виявилися позитивними до збудників параміксовірусних інфекцій, та 88,6 % – до ортоміксовірусів.

2. За результатами виявлення наявності нейрамінідази в N1 ІФА з 70 проб біологічного матеріалу (жовтки яєць), тільки 10 проб виявилися позитивними.

Список літератури

1. Lancaster J.E. A history of Newcastle disease with comments on its economic effects / J.E. Lancaster // World Poultry Sci J., 1976. – #32. – P. 167- 175.
2. Spradbrow P.B. Geographical distribution. / P.B. Spradbrow, // In Newcastle Disease. Edited by Alexander D.J., Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988. – P. 247-255.
3. Kaleta E.F. Newcastle disease in free-living and pet birds. / E.F. Kaleta, C. Baldauf // In Newcastle Disease. Edited by Alexander D.J., Boston: Kluwer Academic Publishers, 1988. – P.197-246.
4. Pedersen J.C. (2004) Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from the 2002–2003 outbreak in California and other recent outbreaks in North America / J.C. Pedersen, D.A. Senne, P.R. Woolcock, H. Kinde, D.J. King, et al. // Clin Microbiol J., 2004. - #42. - P. 2329–2334.
5. OIE 2012. Terrestrial manual 2012: manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals / World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2012.
6. Музика, Д.В. Епізоотологічний моніторинг вірусних хвороб у диких птахів в Україні / Д.В. Музика // автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.08 , ННЦ «ІЕКВМ» – Харків, 2006 – 5 с.
7. Декларативний патент на винахід № 70248 А. Спосіб одержання екстракту жовтків яєць диких птахів для використання в імунобіологічних реакціях / Стегній Б.Т., Музика Д.В., ІЕКВМ УААН. - № 20031213291. Заявл. 31.12.2003; Опубл. 15.09.2004. – Бюл. №9. – 2 с.

STUDY OF WILD BIRDS NEAR THE SEA OF AZOV FOR AVAILABILITY OF ANTIBODIES TO ORTHOMYXOVIRUS AND PARAMYXOVIRUS INFECTIONS

Stegniy B.T., Muzyka D.V., Rula O.M., Biloyvan O.V.

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

The passage presents data of serological studies among wild birds on North Azov for availability of antibodies to orthomyxoviruses and paramyxoviruses and the presence of influenza virus N1 neuraminidase in egg yolk has been determined.

Objective. To carry out serological studies among wild birds on North Azov to determine the presence of antibodies in egg yolks to orthomyxoviruses and paramyxoviruses.

Materials and methods. Samples of biological material (egg yolks) in amount of 70 items have been collected for further studies from next species of birds: common shelduck (Tadorna tadorna), slender-billed gull (Larus genei), pied avocet (Recurvirostra avocetta), common tern (Sterna hirundo), sandwich tern (Thalasseus sandvicensis) and little tern (Sterna albifrons).

To carry out studies egg yolk extracts have been prepared using the developed technique [7]. Serological studies for the presence of antibodies to Newcastle disease, influenza A subtypes (H1-H14) and paramyxoviruses (PMV-2, PMV-4, PMV-6, PMV-7) have been conducted using hemagglutination inhibition test (HI). Also to identify influenza virus neuraminidase N1 the research of material has been carried out with ELISA test using kit by IDEXX (USA).

Also as a result of virological studies of biological material (tracheal and cloacal swabs) haemagglutinating isolates have not been isolated.

Conclusions. 1. As a result of serological studies of egg yolks of wild birds for the presence of antibodies to orthomyxoviruses and paramyxoviruses, 51,4 % out of 70 samples of egg yolks collected by us from 6 species of wild birds in Azov region were positive to orthomyxoviruses, and 88,6 % - to orthomyxoviruses.

2. As a result of determination of neuraminidase N1 availability in ELISA, only 10 samples out of 70 were positive.

Keywords: avian influenza, Newcastle disease, egg yolks extracts.