

УДК 619:616.9:636.5+557.2 (477.54)

РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ДЕЯКИХ ФОНОВИХ ПТАХІВ ПІВНІЧНО-СХІДНОЇ УКРАЇНИ ЩОДО НАЯВНОСТІ АНТИТІЛ ДО ОРТО- ТА ПАРАМІКСОВІРУСІВ

Д.В. Музика¹, А.Б. Чаплигіна²

1 – Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

2 – Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди

E-mail: iturdus@ukr.net

Ключові слова: антитіла, грип, ньюкаслська хвороба, деревно-чагарникові птахи, водно-болотні птахи.



Results of immunological studies on the presence of antibodies to ortho- and paramyxoviruses in a number of common bird species of the North-Eastern Ukraine.

– D.V. Muzyka¹, A.B. Chaplyhina². 1. National Scientific Centre “Institute of the Experimental and Clinical Veterinary Medicine”. 2. H.S.Skovoroda Kharkiv National Pedagogical University.

The investigations of egg yolks in birds of tree-shrub habitats did not reveal antibodies



to Newcastle disease virus, but found antibodies to influenza A virus, namely: in Great Tits ("Vakalivshchyna" area) – to subtypes H1 (titer 33 log₂), H2 (4 log₂), H8 (5 log₂), in White Collared Flycatchers ("Vakalivshchyna" area) – to H1 (4 log₂), Song Thrushes (Haidary Village and "Vakalivshchyna" area) to subtypes H1, H4, H8 (titers 4 log₂), Blackbirds (Heniivka Village) – H1 (4 log₂), Jays (Zhuravlivskiy Hydropark) – H1, H8 (titers 4 log₂). In samples of waterbirds, only antibodies to the subtype H14 was revealed. Antibodies to influenza A virus were found in the Black-headed Gull to the subtype H14 (4-6 log₂) and in the Bluethroat – to H14 (4 log₂).

Keywords: antibodies, influenza, Newcastle disease, birds of tree-shrub habitats, waterbirds.

Результаты иммунологических исследований некоторых фоновых птиц юго-восточной Украины относительно наличия антител к орто- и парамиксовирусам. – Д.В. Музыка¹, А.Б. Чаплыгина². 1. Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины». 2. Харьковский национальный педагогический университет имени Г.С. Сковороды.

В результате исследований желтков яиц древесно-кустарниковых птиц не выявлено антител вируса болезни Ньюкасла, но обнаружены антитела вируса гриппа А у большой синицы (ур. Вакаливщина) подтипов H1 (титр 3 log₂), H2 (4 log₂), H8 (5 log₂), мухоловки-белошейки (ур. Вакаливщина) – H1 (4 log₂), певчего дрозда (с. Гайдары и ур. Вакаливщина) подтипы H1, H4, H8 (титры 4 log₂), черного дрозда (с. Гинеевка) – H1 (4 log₂), сойки (Журавлевский гидропарк) – H1, H8 (титры 4 log₂). В образцах желтков водно-болотных птиц найдены антитела вируса гриппа только подтипа H14. Антитела вируса гриппа А выявлены у чайки озерной подтипа H14 (4-6 log₂) и у варакушки – H14 (4 log₂).

Ключевые слова: антитела, грипп, болезнь Ньюкасла, древесно-кустарниковые птицы, водно-болотные птицы.

Дотепер вірус грипу залишається непередбачуваною інфекцією для тварин та людей. Постійна поява нових штамів та варіантів з новими властивостями і патогенністю до нових хазяїв потребує постійного спостереження й ретельного дослідження нових вірусів. Враховуючи те, що головним і основним резервуаром вірусів грипу в природі є дикі птахи, особливо водоплавні та навколводні, беззаперечною є необхідність проведення постійного епізоотологічного моніторингу в популяціях цих видів (Нецкий, 1978).

Загалом відомо, що віруси грипу птахів виділені від диких особин, що належать до понад 100 видів 12 рядів. Від диких птахів виділені віруси грипу з усіма відомими підтипами гемаглютиніну (H1-H16) та підтипами нейрамінідази (N1- N9) (Suss et al. 1994; Olsen et al. 2006). Більшість видів, від яких ізольовано віруси грипу, належать до гусеподібних (Anseriformes) та сивкоподібних (Charadriiformes). З усього різноманіття Anseriformes більшість вірусів грипу виділені у представників родини ка-

чиних (Anatinae) (Otsuki et al., 1987; Ito et al., 1995; Hinshaw et al., 1986; Fouchier et al., 2003; Pfitzer et al., 2000; Suss et al., 1994; Stanislawek et al., 2002), а саме від крижня. Що стосується Charadriiformes, то найбільша кількість вірусів грипу птахів була виділена у представників родин баранцеві (Scolopacidae) (Hanson et al., 2003; Isachenko et al., 1974), мартинові (Laridae) (Fouchier et al., 2003; Zakstelskaya et al., 1974) та невелика кількість від алькових (Alcidae) (Sazonov et al., 1977; Fouchier et al., 2003). Крім представників вищеназваних рядів, віруси грипу були виділені також і від представників інших водних та навколводних птахів рядів гагароподібних (Gaviiformes) (Iftimovici et al., 1980), пірникозоподібних (Podicipediformes) (Boudreault et al., 1980), буревісникоподібних (Procellariiformes) (Mackenzie et al., 1984), пеліканоподібних (Pelecaniformes) (Iftimovici et al., 1980; Suss et al., 1994; 1980), лелекоподібних (Ciconiiformes) (Pfitzer et al., 2000), журавлеподібних (Gruiformes) (Romvary et al., 1976; Mackenzie et al., 1984), але кількість отриманих від них позитивних зразків загалом невелика. Крім того, є декілька повідомлень про виділення вірусів грипу від диких птахів ряду голубоподібних (Columbiformes) (Romvary and Tanyi, 1975), дятлоподібних (Piciformes) (Roslaya, 1975), горобцеподібних (Passeriformes) (Isachenko et al., 1974; Roslaya et al., 1974; Boudreault et al., 1980) та куроподібних (Galliformes) (Romvary et al., 1976), які відносяться до наземних птахів, але кількість таких повідомлень є дуже малою (Nettles et al., 1985).

Ньюкаслська хвороба – одна з найнебезпечніших вірусних хвороб сільськогосподарських та диких птахів в світі і широко поширена в більшості країн світу з розвиненим птахівництвом. Спалахи захворювання постійно реєструються в Європі, Азії, Африці та Америці, а відносна стабільність цього захворювання спостерігається в країнах Океанії (Инфекционные болезни..., 1987).

Тобто на сьогоднішній день повністю доведено, що дикі птахи є природним резервуаром низькопатогенних вірусів грипу птахів, ньюкаслської хвороби, та їм належить значна роль в їх розповсюдженні. В той же час, залишається не вирішеним питання ролі в цьому диких птахів окремих рядів.

Саме тому, метою дослідження стало встановлення наявності антитіл до збудників грипу та ньюкаслської хвороби у жовтках яєць диких птахів.

Матеріал та методи

Орнітологічний матеріал зібрано у 2006-2007 рр. на території Харківської області: в урбанізованій місцевості (Журавлівський гідропарк міста Харків, Новобаварське водосховище); у дібровах та лісових насадженнях поблизу заплави р. Сіверський Дінець (сел. Геніївка, Гайдари, Занки Зміївського району), а також у Сумській області в околицях ур. Вакалівщина (біля с. Вакалівщина Сумського району).

Усього зібрано та проаналізовано 44 яйця 13 видів – фонових у дібровах мухоловки білошийої (*Ficedula albicollis* Temm.), синиці великої (*Parus major* L.), дроздів співочого (*Turdus philomelos* Brehm.) та чорного (*T. merula* L.), крутиголовки (*Jynx torquilla* L.), сорокопуда тернового (*Lanius collurio* L.), сойки (*Garrulus glandarius* L.), кропив'янки чорноголової (*Sylvia atricapilla* L.), а у водно-болотних угіддях – бугайчика (*Ixobrychus minutus* L.), крижня (*Anas platyrhynchos* L.), лиски (*Fulica atra* L.), мартина звичайного (*Larus ridibundus* L.), синьошийки (*Luscinia svecica* L.).

Виявлення антитіл до вірусу грипу птахів та ньюкаслської хвороби в жовтках яєць диких птахів в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА). В залежності від розміру кладки збирали 1-2 ненасиджених яйця з гнізда. Для досліджень вико-



ристовували ненасиджені яйця. Підготовку зразків проводили за наступною методикою, адаптованою для досліджень диких птахів та патентованою в Україні: жовток відокремлювали від білка та ретельно змішували з фізіологічним розчином (рН 7.2-7.4) в співвідношенні 1:1, до отриманої суміші додавали рівний об'єм хлороформу. Суміш ретельно струшували протягом 5-10 хвилин, і піддавали центрифугуванню при 3000 об/хв. впродовж 15 хвилин. Після центрифугування супернатант використовували для досліджень, як сироватку (Методи..., 1986).

Результати і обговорення

Досліджені деревно-чагарникові птахи є основним компонентом орнітофауни лісових екосистем. Більшість з них є мігруючими в Україні: крутиголовка, дрозди співочий та чорний, мухоловка білошия, кропив'янка чорноголова, сорокопуд терновий. Сойка та синиця велика ведуть осілий, інколи кочовий спосіб життя, пов'язаний із антропогенним ландшафтом. Досліджені види є характерними для всіх типів лісу, а їх розподіл і чисельність в різних біотопах визначаються особливостями біології та пристосованістю видів до умов середовища.

У результаті проведених досліджень антитіла до вірусу ньюкаслської хвороби у жовтках яєць деревно-чагарникових птахів не виявлені. Натомість було виявлено антитіла до вірусу грипу А: у синиці великої (ур. Вакалівщина,) до підтипів Н1 (титр $3 \log_2$), Н2 ($4 \log_2$), Н8 ($5 \log_2$), у мухоловки білошиї (ур. Вакалівщина) – Н1 ($4 \log_2$), у дрозда співочого (с. Гайдари та ур. Вакалівщина) - Н1, Н4, Н8 (титри $4 \log_2$), у дрозда чорного (с. Гініївка) – Н1 ($4 \log_2$), у сойки (Журавлівський гідропарк) – Н1, Н8 (титри $4 \log_2$) (табл. 1).

Таблиця 1. Антитіла до вірусу ньюкаслської хвороби та вірусу грипу, виявлені в жовтках деревно-чагарникових птахів у Харківській та Сумській областях.

Table 1. Antibodies to Newcastle disease and influenza virus found in egg yolks of birds of tree-shrub habitats in Kharkiv and Sumy Regions.

Види птахів Bird species	Район дослідження Study area	n	Титри антитіл / Antibody titers	
			Антигени Antigens	Рівень АТ AB level
Ряд/order Piciformes, родина/family Picidae				
<i>Jynx torquilla</i>	ур. Вакалівщина "Vakalivshchyna" area	1	H1- H9	-
Ряд/order Passeriformes, родина/family Laniidae				
<i>Lanius collurio</i>	с. Гайдари Haidary Vil.	1	H1-H9, HX	-
Ряд/order Passeriformes, родина/family Corvidae				
<i>Garrulus glandarius</i>	Гідропарк Hydropark	1	H2 - H9 H1 H8 HX	- 4 \log_2 – 1 4 \log_2 – 1 -

Продолжение таблицы.

Види птахів Bird species	Район дослідження Study area	n	Титри антитіл / Antibody titers	
			Антигени Antigens	Рівень АТ AB level
Ряд/order Passeriformes, родина/family Sylviidae				
<i>Sylvia atricapilla</i>	ур. Вакалівщина "Vakalivshchyna" area	2	H1-H9, HX	-
Ряд/order Passeriformes, родина/family Muscicapidae				
<i>Turdus philomelos</i>	Гайдари Haidary Vil.	2	H1 - H9	-
			H1	АТ відсутні – 1 проба AB are absent – 1 sample, 4 log ₂ – 1
			H2	АТ відсутні – 1 проба AB are absent, 1 sample, 4 log ₂ – 1
		1	HX	-
		1	H1 - H9	-
		1	HX	-
	с. Занки Zanky Vil.	1	H1 – H14, HX	АТ відсутні AB are absent
	с. Геніївка Heniivka Vil.	1	H2 - H9	-
	ур. Вакалівщина "Vakalivshchyna" area	2	H2 - H9	-
			H1	4 log ₂ – 2
			HX	-
<i>Turdus merula</i>	с. Геніївка Heniivka Vil.	1	H2 - H9	-
			H1	4 log ₂ – 1
			HX	-
	Гайдари Haidary Vil.	1	H1 - H9	-
			HX	-
<i>Ficedula albicollis</i>	с. Занки Zanky Vil.	4	H1 – H14, HX	АТ відсутні AB are absent
	Гайдари Haidary Vil.	2	H1 - H9	-
			HX	-
	ур. Вакалівщина "Vakalivshchyna" area	9	H2 - H9	-
			H1	АТ відсутні – 7 проб AB are absent – 7 samples, 4 log ₂ – 2
			HX	-
Ряд/order Passeriformes, родина/family Paridae				
<i>Parus major</i>	ур. Вакалівщина "Vakalivshchyna" area	2	H3, H4, H5, H6, H7, H9	-
			H1	АТ відсутні – 1 проба/ AB are absent, 1 sample, 3 log ₂ – 1
			H2	АТ відсутні – 1 проба/ AB are absent, 1 sample, 4 log ₂ – 1

Примітки: n - кількість проб.

Notes: n - number of samples.



Досліджені бугайчик, крижень, лиска, мартин звичайний та синьошийка є звичайними видами водно-болотних угідь Харківської області. Крижень та лиска часто зустрічаються взимку на водоймищах, які не вкриваються суцільним льодом. Всі інші види є суто перелітними, з яких мартини інколи можуть зимувати поблизу значних відкритих водойм, в районі водозабору Печенізького водосховища.

У жовтках яєць водно-болотних птахів у Харківській області виявлено антитіла до вірусів грипу тільки підтипу Н14. Антитіла до вірусу грипу А виявлені у мартина звичайного до підтипу Н14 (4-6 log₂) та синьошийки – Н14 (4 log₂) (табл. 2).

Таблиця 2. Антитіла до вірусу ньюкаслської хвороби та вірусу грипу, виявлені в жовтках водно-болотних птахів у Харківській області.

Table 2. Antibodies to Newcastle disease and influenza virus found in egg yolks of waterbirds in Kharkiv Region.

Ряд, Родина Order, Family	Вид птахів Bird species	n	Антиген Antigen	Титри антитіл Antibody titers
Ciconiiformes	<i>Ixobrychus minutus</i>	1	H1 – H14, HX	АТ відсутні AB are absent
Ardeidae				АТ відсутні
Anseriformes	<i>Anas platyrhynchos</i>	1	H1 – H14, HX	АТ відсутні AB are absent
Anatidae				АТ відсутні
Gruiformes	<i>Fulica atra</i>	3	H1 – H14, HX	АТ відсутні AB are absent
Rallidae				АТ відсутні
Charadriiformes	<i>Larus ridibundus</i>		H1 - H4, H6 - H13, HX	АТ відсутні AB are absent
Laridae		2	H14	АТ відсутні – 20 проба AB are absent – 20 samples, 4 log ₂ – 1, 6 log ₂ – 1
Passeriformes	<i>Luscinia svecica</i>		H1 - H4,	АТ відсутні
Muscicapidae		1	H6 - H13, HX H14	АТ відсутні AB are absent 4 log ₂ – 1

Примітки: n - кількість проб.

Notes: n - number of samples.

Таким чином, як у птахів водно-болотного комплексу, так і у деревно-чагарникових птахів антитіла до вірусу ньюкаслської хвороби не виявлено.

Висновки

Рівень антитіл до вірусу грипу у досліджених видів є невисоким, але його наявність свідчить про можливу циркуляцію виявлених збудників в їх популяціях. Особливу увагу привертає той факт, що у фонових видів птахів було виявлено антитіла до вірусів грипу підтипів Н1, Н2, які здебільшого циркулюють в популяціях людей. Таким чином, фонові види птахів можуть відгравати певну роль в підтримці циркуляції вірусів грипу, особливо, так званих «людських» підтипів вірусу грипу.

Література

References

- Инфекционные болезни животных: Справочник / Сост. Ю.Ф.Борисович, Л.В. Кириллов; Под ред. Д.Ф.Осидзе. – М.: Агропромиздат, 1987. – 288 с. [Infectious diseases of animals: Reference book / Compiled by Yu.F.Borisovich, L.V.Kirillov; edited by D.F.Osidze. – Moscow: “Agropromizdat” Press, 1987. – 288 p.] [in Russian]
- Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных: Справочник / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. – М.: Агропромиздат, 1986. – 351 с. [Methods of laboratory diagnostics of virus diseases of animals: Reference book / V.N.Syurin, R.V.Belousova, B.V.Solovyev, N.V.Fomina. – Moscow: “Agropromizdat” Press, 1986. – 351 p.] [in Russian]
- Нецкий Г.И. Распространение и региональная экология арбовирусов. Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов // Доклады симпозиума (1976 г., Новосибирск). – Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1978. – С.193-195. [Netskiy G.I. Distribution and regional ecology of arboviruses. Transcontinental links of migratory birds and their roles in distribution of arboviruses // Symposium reports (1976, Novosibirsk). – Novosibirsk: “Nauka” Press, Sibirsk Department, 1978. – P. 193-195.] [in Russian]
- Boudreault A., Lecomte J., Hinshaw V.S. Antigenic characterization of influenza A virus isolated from birds captured in Ontario, Quebec, and the maritime provinces during the 1977 season. *Rev. Can.Biol.* 39. – 1980. – P.107-114.
- Fouchier R.A., Olsen B., Bestebroer T.M., Herfst S., van der Kemp L., Rimmelzwaan G.F., Osterhaus A.D. Influenza A virus surveillance in wild birds in Northern Europe in 1999 and 2000. *Avian Dis.* 47. – 2003. – P. 857–860.
- Hanson B.A., Stallknecht D.E., Swayne D.E., Lewis L.A., Senne D.A. Avian influenza viruses in Minnesota ducks during 1998-2000. *Avian Dis.* 47. –2003. – P. 867–871.
- Hinshaw V.S., Nettles V.F., Schorr L.F., Wood J.M., Webster R.G. Influenza virus surveillance in waterfowl in Pennsylvania after the H5N2 avian outbreak. *Avian Dis.* 30. –1986. – P. 207–212.
- Iftimovici R., Iacobescu V., Petrescu A.L., Mutiu A., Chelary M. Isolation of influenza virus A/USSR 90/77 (H1N1) from wild birds. *Revue Roumaine De Medicine, Virologie* 31. – 1980. – P.243.
- Isachenko V.A., Zakstelskaya L.Y., Roslaya I.G., Odinok L.D., Molobog E.V., Lvov D.K. Straine similar to Hong-Kong variant of influenza virus isolated from synanthropic and wild migrating birds (in Russian). *Ivanovsky Institute of Virology.* – 1974. – P.156–165.
- Ito T., Okazaki K., Kawaoka Y., Takada A., Webster R.G., Kida H. Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch.Virol.* 140. – 1995. – P.1163–1172.
- Mackenzie J.S., Edwards E.C., Holmes R.M., Hinshaw V.S. Isolation of ortho- and paramyxoviruses from wild birds in Western Australia, and the characterization of novel influenza A viruses. *Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci.* 62 (Pt 1). – 1984. – P.89–99.
- Nettles V.F., Wood J.M., Webster R.G. Wildlife surveillance associated with an outbreak of lethal H5N2 avian influenza in domestic poultry. *Avian Dis.* 29. – 1985. – P.733–741.
- Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenstrom J., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science* 312. – 2006. – P.384–388.
- Otsuki K., Takemoto O., Fujimoto R., Yamazaki K., Kubota N., Hosaki H., Kawaoka Y., Tsubokura M. Isolation of influenza A viruses from migratory waterfowls in San-in District, Western Japan, in the winter of 1982-1983. *Acta Virol.* 31. – 1987 – P.439–442.
- Pfitzer S., Verwoerd D.J., Gerdes G.H., Labuschagne A.E., Erasmus A., Manvell R.J., Grund C. Newcastle disease and avian influenza A virus in wild waterfowl in South Africa. *Avian Dis.* 44. – 2000. – P.655-660.
- Romvary J., Meszaros J., Tanyi J., Rozsa J., Fabian L. Influenza infectedness of captured and shot wild birds on north-eastern and south-eastern parts of Hungary. *Acta Vet.Acad.Sci.Hung.* 26. –1976. – P.363-368.
- Romvary J., Tanyi J. Occurrence of Hong Kong influenza A (H3N2) virus infection in the Budapest Zoo. *Acta Vet.Acad.Sci.Hung.* 25. – 1975. – P.251–254.



- Roslaya I.G. Isolation of influenza A viruses and detection of antibodies in common heron (*Ardea cinera*) nesting in the lower Amur. – 1975 – P.57–67
- Roslaya I.G., Roslyakov G.E., Lvov D.K., Isacenko V.A., Zakstelskaya L.Y., Ya L., Trop I.T. Circulation of arbo- and myxoviruses in populations of waterfowl and shore birds of the lower Amur (in Russian). *Ivanovsky Institute of Virology* 2. –1974. – P.148–156.
- Sazonov AA, Lvov DK, Webster RG, Sokolova TV, Braude NA, Portyanko NV Isolation of an influenza virus, similar to A/Port Chalmers/1/73 (H3N2) from a common murre at Sakhalin Island in U.S.S.R. (Strain A/common murre/Sakhalin/1/74). *Arch.Virol.* 53. – 1977. – P.1–7.
- Stanislawek W.L., Wilks C.R., Meers J., Horner G.W., Alexander D.J., Manvell R.J., Kattenbelt J.A., Gould A.R. Avian paramyxoviruses and influenza viruses isolated from mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) in New Zealand. *Arch.Virol.* 147. – 2002 – P.1287–1302.
- Suss J., Schafer J., Sinnecker H., Webster R.G. Influenza virus subtypes in aquatic birds of eastern Germany. *Arch. Virol.* 135. – 1994 – P.101–114.
- Zakstelskaya L.Y., Yakhno M.A., Isacenko V.A., Lvov D.K. Isolation and peculiarities of influenza virus (tern) (Turkmenistan 18). *Virologiia Virusov* 2. – 1974. – P.98.