

Список літератури

1. Gallardo C e.a. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe. [Text] / Fernández-Pinero J, Pelayo V, Gazeav I, Markowska-Daniel I, Pridotkas G, Nieto R, Fernández-Pacheco P, Bokhan S, Nevolko O, Drozhzhe Z, Pérez C, Soler A, Kolvasov D, Arias M.// Emerg Infect Dis. 2014 Sep;20(9):1544-7
2. Ситюк М. П. Епізоотологічний моніторинг поширених вірусних хвороб свиней у популяції диких кабанів на території України [Текст] / М. П. Ситюк. – К.: Аграрна наука, 2014. – 135 с.
3. Reteno DG e.a. Faustovirus, an asfarvirus-related new lineage of giant viruses infecting amoebae [Text] / Benamar S, Khalil JB, Andreani J, Armstrong N, Klose T, Rossmann M, Colson P, Raoult D, La Scola B// J Virol. 2015 Jul;89(13):6585-94.
4. Стегній Б.Т., Філатов С.В. (2014): дані отримані у рамках виконання міжнародного проекту «African Swine Fever Threat Reduction through Surveillance in the Ukraine» між ННЦ «ІЕКВМ» та Департаментом Сільського Господарства США, доповідалися на «2nd GARA Scientific Workshop, 10-14 November 2014, Pretoria, South Africa» та «60th Annual AAVP Conference, 11-14 July 2015, Boston, USA»
5. KLEIBOEKER S. B. e.a. African Swine Fever Virus Replication in the Midgut Epithelium Is Required for Infection of Ornithodoros Ticks. [Text] / SCOLES G. A., BURRAGE T. G., SUR J.-H.// JOURNAL OF VIROLOGY, 1999, Vol. 73, No. 10, p. 8587–8598
6. Arias M e.a. Persistence of African swine fever antibody reactivity on ELISA and immunoblotting assays [Text] / Arias M, Escribano JM, Sánchez-Vizcaino JM. // Vet Rec. 1993 Aug 21;133(8):189-90.
7. Basto A.P. e.a. Kinetics of African swine fever virus infection in Ornithodoros erraticus ticks [Text] / Nix R.J., Boinas F., Mendes S., Silva M.S., Cartaxeiro C., Portugal R.S., Dixon A.L.K., Martins C.// Journal of General Virology (2006), 87, 1863–1871
8. Стегній Б.Т. Науковий супровід моніторингу та прогнозування африканської чуми свиней СССР [Текст] / Бузун А.І., Герілович А.П., Бісюк І.Ю. // 36. Ветеринарна медицина, 2015, т. 96, ч.1, с. 265-271
9. Sánchez-Vizcaino JM e.a. African swine fever: an epidemiological update [Text] / Mur L, Martínez-López B. // Transbound Emerg Dis., 2012 Mar;59 Suppl 1:27-35.

THE THREATS OF THE AFRICAN SWINE FEVER FOR UKRAINE AND EUROPEAN ECONOMIC UNION

Stegny B. T., Gerilovich A. P., Buzun A. I., Filatov S. V., Vovk S. I.

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

The outbreak of African swine fever (ASF) on 2015 in the «Kalytynians'ky» pig plant led to a fundamental change in the nature of the ASF' epizootic process in Ukraine – it became enzootic instead as transboundary disease. Specific features of the current ASF epizootic process in Ukraine and threats to its rooting, and the threat of the spread in the EU are analyzed. It is noted that the risk' level of a negative situation in UA for EU depends on the organizational and material support disease control measures and in particular – on their scientific support.

Keywords: african swine fever, enzootic instead, antiepzootic measures

УДК: 619:578.832+578.831:636.5(477.74)

ЕПІЗООТОЛОГІЧНА СИТУАЦІЯ ЩОДО ОРТО- ТА ПАРАМІКСОВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ПТИЦІ В ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОМУ ПРИЧОРНОМОР'І

Трофімов М. М., Селищева Н. В., Андрієнко Ю. В., Богач Т. В., Монастирлі В. П.

Одеська дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ», м. Одеса, Україна, e-mail: bogach_nv@mail.ru

Проведений епізоотологічний моніторинг щодо особливо небезпечних хвороб птиці у Причорноморському регіоні надав можливість визначити епізоотичну ситуацію відносно цих захворювань. Визначили зони підвищеного ризику виникнення ВПГП: високий, середній та низький та встановили відсутність циркуляції вірусу високопатогенного грипу серед сільськогосподарської, синантропної та дикої птиці. Антитіла до збудника підтипу H5N1 у всіх досліджених пробах були відсутні. У свійських качок виявили наявність антитіл до ПМВ-1 (кількість позитивних проб становила 100 %, а середній їх титр становив $7,75 \pm 0,96 \log_2$ та до ПМВ-4 (кількість позитивних проб становила 70 %, середній титр антитіл $4,6 \pm 0,63 \log_2$).

Ключові слова: епізоотологічний моніторинг, високопатогенний грип, ньюкаслська хвороба, параміксовіруси, титр антитіл.

Транскордонні інфекційні захворювання, до яких відносяться орто- та параміксовірусні інфекції птиці, а саме високопатогенний грип птиці (ВПГП), ньюкаслська хвороба (НХ), параміксовірусна інфекція птиці – це особливо небезпечні захворювання,

які характеризуються високою контагіозністю та високою ймовірністю занесення на території сусідніх країн і поширення серед сприйнятливої поголів'я. Тому Міжнародне Епізоотичне Бюро (МЕБ) особливу увагу приділяє постійному епізоотологічному моніторингу цих захворювань, контролю їх виникнення та розповсюдження, а також розробці сучасних діагностичних тест-систем і засобів специфічної профілактики [1].

Нині грип є глобальною проблемою, не тільки тому, що він розповсюджений у всіх країнах світу, а головним чином через те, що це антропозоонозна інфекція. Епідемічне розповсюдження мають підтипи H5N1, H3N2, віруси типу В та С. На сьогоднішній день епізоотична ситуація в світі щодо грипу птиці залишається складною [2–4].

Параміксовірусні захворювання птиці (ПМВ) не становлять великої загрози здоров'ю людей, але деякі з них (ПМВ-1 або НХ) мають велике епізоотичне значення для птахівництва. Вірус здатен викликати ензоотії та епізоотії зі значними негативними наслідками, зокрема захворюванням і загибеллю великої кількості птиці та величезними економічними збитками.

Незважаючи на широку програму вакцинації, щорічно виникають спалахи НХ в Європі, Азії, Африці та Америці [3–5].

Мета роботи. Епізоотологічний моніторинг та діагностичні дослідження щодо особливо небезпечних хвороб птиці в північно-західному Причорномор'ї.

Матеріали та методи. Визначення епізоотичної ситуації щодо захворювань птиці проводили шляхом аналізу та узагальнення власних діагностичних досліджень лабораторії епізоотології, моніторингу хвороб тварин та провайдингу Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ», відділу вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» та Одеського філіалу ДНДІ з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Матеріалом для досліджень були проби патологічного матеріалу, сироватки крові птиці. Дослідження проводились комплексно, включаючи епізоотологічні, клінічні, патологоанатомічні, серологічні та вірусологічні методи [6]. Для проведення серологічних досліджень в імуноферментному аналізі (ІФА) використовували тест-системи.

Результати досліджень. Для оцінки епізоотичної ситуації в птахівництві проведено аналіз результатів діагностичних досліджень свійської птиці щодо особливо небезпечних хвороб (ВПГП, НХ) в районах Північно-Західного Причорномор'я, розташованих на шляху міграції перелітних птахів.

Визначено, що час весняного міграційного переміщення диких птахів у південно-західній частині України розпочинається у другій декаді лютого. Першу хвилю весняного перельоту формують в основному граки, гуси, качки, лебеді, баклани, чайки, чаплі. Вона закінчується у першій половині березня, а у другій його половині птиця мігрує із півдня та заходу до центральних і північних районів України. З півдня мігрують птахи, які зимували на Балканах, в Туреччині, Близькому Сході та Африці, із заходу – в центральну і західну Європу.

Згідно аналізу проведених досліджень свійської птиці були визначені зони підвищеного ризику виникнення ВПГП: високий, середній та низький (рис.).



Рис. Зони підвищеного ризику виникнення осередків пташиного грипу впродовж теплої частини року в Одеській області

До зони високого ризику віднесено 11 районів Одеської області, до зони середнього ризику – 5 районів, до зони низького ризику – 10 північних районів. Результати дослідження свійської птиці в зонах високого, середнього та низького ризику виникнення ВПГП наведено в таблиці 1.

Найбільшу кількість птиці було досліджено в зоні високого ризику виникнення ВПГП (більше 9 тисяч проб, з них 7205 – в РЗГА і 2385 – в ІФА). В усіх зонах ризику було досліджено курей більше, ніж інших видів птиці, а саме: в зоні високого ризику – 7060 проб, середнього – 2077, низького – 4287, гусей відповідно по зонах – 967, 351, 462 проб, качок – 839, 436, 554 проб, індиків – 724, 252, 498 проб. Кількість досліджених проб в зоні низького ризику виникнення захворювань дещо більша, ніж в зоні середнього ризику,

Розділ 1. Проблеми біобезпеки та біозахисту. Емерджентні інфекції

що пояснюється більшою кількістю районів (10), які віднесено до цієї зони, ніж в середній зоні (5). У зоні високого ризику в РЗГА та ІФА на ВПГП було досліджено курей, відповідно, 66,0 % і 96,2 %, гусей – 13 % і 0,2 %, качок – 12 % і 0,4 %, індиків – 9 % і 3,2 %. В усіх досліджених пробах свійської птиці у зонах високого, середнього та низького ризику виникнення ВПГП одержали негативні результати щодо ВПГП в РЗГА та ІФА.

Таблиця 1 – Результати дослідження свійської птиці Одеської області щодо ВПГП по зонах ризику

Вид птиці	Зона високого ризику				Зона середнього ризику				Зона низького ризику			
	Кількість досліджених проб в		Результати досліджень		Кількість досліджених проб в		Результати досліджень		Кількість досліджен. проб в		Результати досліджень	
	РЗГА	ІФА	РЗГА	ІФА	РЗГА	ІФА	РЗГА	ІФА	РЗГА	ІФА	РЗГА	ІФА
Кури	4767	2293	Негат	Негат	1362	715	Негат.	Негат.	1315	2972	Негат.	Негат.
Гуси	962	5	Негат	Негат	351	-	Негат.	Негат.	392	70	Негат.	Негат.
Качки	829	10	Негат	Негат	436	-	Негат.	Негат.	401	97	Негат.	Негат.
Індики	647	77	Негат	Негат	252	-	Негат.	Негат.	401	97	Негат.	Негат.
Всього	7205	2385			2401	715			2513	3288		

Отже, за результатами проведених досліджень встановлено, що антитіла до збудника підтипу H5N1 в усіх досліджених пробах були відсутні, що свідчить про відсутність персистенції вірусу ВПГП в зазначених популяціях дослідженої птиці Одеської області. Свійська птиця також була досліджена на наявність діагностичних титрів проти ньюкаслської хвороби (табл. 2).

Таблиця 2 – Результати досліджень птиці Одеської області щодо НХ

Вид птиці	Досліджено проб в РЗГА	Наявність титрів антитіл (1:8 і вище)		Низькі титри антитіл (1:2–1:4)	
		гол.	%	гол.	%
Домашня птиця: всього	1228				
Кури вакциновані	1020	839	82,3	181	17,7
Гуси	25	-	-	25	100
Качки	15	-	-	15	100
Індики	168	81	48,2	87	51,8
Синантропна птиця (ворони)	2	-	-	-	-
Дика птиця (качки, гуси)	10	-	-	-	-

Примітка: «-» – відсутність титрів антитіл

За результатами досліджень встановили наявність сформованого гуртового імунітету щодо НХ у 82,3 % вакцинованих курей та у 48,2 % індиків, проте можна припустити можливість персистенції цього вірусу у дослідженої водоплавної птиці: невакцинованих качок (100 %) та гусей (100 %) Одеської області.

У 12 господарствах відмічали відсутність сформованого імунітету у курей (17,7 %) та індиків (51,8 %), що свідчить про недостатній захист дослідженої птиці проти можливого інфікування польовим вірусом НХ. При дослідженні дикої та синантропної птиці антитіл в сироватках крові до збудника НХ не виявлено.

Провели дослідження сироваток крові маточного поголів'я щодо наявності антитіл до збудників орто- та параміксовірусів (ПМВ) (табл. 3).

При дослідженні сироваток крові качок в ІФА антитіл до вірусу грипу птиці не виявлено. Однак виявлено антитіла до ПМВ-1 (кількість позитивних проб становить 100 %, а середній титр антитіл $7,75 \pm 0,96 \log_2$) та до ПМВ-4 (кількість позитивних проб становить 70 %, а середній титр антитіл - $4,6 \pm 0,63 \log_2$). Наявність антитіл може свідчити про можливу циркуляцію ПМВ серед птиці.

Таблиця 3 – Результати дослідження сироваток крові качок на напруженість імунітету щодо орто- та параміксовірусних інфекцій

Показник	Грип Н1- Н16	Серотипи параміксовірусів		
		ПМВ-1	ПМВ-2,6,7	ПМВ-4
Титри антитіл	-	1:128–1:256	-	1:8–1:32
Кількість позитивних проб (%)	0	100	0	70
Середній титр антитіл (\log_2)	0	7,75±0,96	0	4,6±0,63

Примітка: «-» – результат дослідження негативний

Щодо збудника ПМВ-4, він не викликає захворювання у качок і не представляє загрози для людини. Свійські та дикі качки є природним резервуаром цього вірусу в природі. Що стосується ПМВ-1, то качки є також природним резервуаром лентогенних вірусів, але деякі віруси ПМВ-1 здатні викликати захворювання у сільськогосподарської птиці, особливо НХ.

Висновки. 1. Згідно аналізу моніторингу щодо ВПГП свійської птиці північно-західного Причорномор'я були визначені зони підвищеного ризику виникнення ВПГП: високий, середній та низький. За результатами проведених досліджень встановлено, що антитіла до збудника підтипу Н5Н1 в усіх досліджених пробах (чотирьох видів дикої, трьох видів синантропної та чотирьох видів сільськогосподарської птиці) були відсутні, що свідчить про відсутність персистенції вірусу ВПГП в зазначених популяціях дослідженої птиці.

2. Серологічним моніторингом щодо НХ птиці встановили наявність сформованого гуртового імунітету у 82,3 % вакцинованих курей та у 48,2 % індиків, проте можна припустити можливість персистенції цього вірусу у невакцинованих качок та гусей приватного сектору. У 12-ти господарствах відмічали відсутність сформованого імунітету у курей (17,7 %) та індиків (51,8 %). При дослідженні сироваток крові дикої та синантропної птиці щодо збудника НХ одержали негативні результати.

3. За результатами дослідження в ІФА сироваток крові качок антитіл до вірусу грипу птиці не виявлено, однак виявлено наявність антитіл до ПМВ-1 (кількість позитивних проб становила 100 %, середній титр антитіл 7,75±0,96 \log_2) та до ПМВ-4 (кількість позитивних проб – 70 %, середній титр антитіл 4,6±0,63 \log_2). Наявність антитіл свідчить про можливу циркуляцію ПМВ серед птиці, яка є природним резервуаром цих вірусів в природі.

З огляду на отримані результати вважаємо доцільним подальший моніторинг особливо небезпечних хвороб птиці Причорноморського регіону.

Список літератури

- Шаги компании DuPont по контролю распространения гриппа птиц [Електр.ресурс]. – Режим доступу: [http:// www.antecint.co.uk/go.htm](http://www.antecint.co.uk/go.htm). – Назва з екрана.
- Стегній Б. Т. Емерджентні інфекції птиці: грип та ньюкаслська хвороба. Епізоотологія, моніторинг, діагностика та профілактика [Текст] / Б. Т. Стегній, Д. В. Музика та ін. // Монографія. – Київ, 2012. – 302 с.
- Міхельсон Л. П. Основні заходи щодо забезпечення ветеринарно-санітарного та епізоотичного благополуччя Одеської області в 2011 році [Текст] / Л. П. Міхельсон // Аграрний вісник Причорномор'я : зб. наук. праць. – Одеса, 2012. – Вип. 64. – С. 83–86.
- Стегній Б. Т. Епізоотологічний моніторинг, прогнозування, реагування при трансмісивних хворобах тварин і науковий супровід проблеми в Україні [Текст] / Б. Т. Стегній, А. П. Герілович, І. Ю. Бісюк, Д. А. Мороз, М. С. Мандигра // Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2014. – Вип. 98. – С. 5–11.
- Стегній Б. Т. Серологічний моніторинг параміксовірусів та ортоміксовірусів серед диких птахів південно-східного Причорномор'я в 2014 році [Текст] / Б. Т. Стегній, Д. В. Музика, О. М. Рула, С. В. Ткаченко, та ін. // Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2015. – Вип. 101. – С. 24–27.
- Сорокин В. Н. Диагностика вирусных болезней животных [Текст] / В. Н. Сорокин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина // Агропромиздат. – М., 1991. – 528 с.

EPIZOOTIC SITUATION CONCERNING BIRDS' ORTHO- AND PARAMYXOVIRUS INFECTIONS IN THE NORTHWESTERN PART OF THE BLACK SEA REGIONS

Trofimov M. M., Salischeva N. V., Andrienko Yu. V., Bogach T. V., Monastyrli V. P.
Odessa Experimental Station of National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Odessa, Ukraine

Purpose of work – to monitor especially dangerous poultry's diseases in the Northwestern part of the Black Sea region.
Materials and methods. Birds' blood serum. Methods of researches – epizootic, clinical, pathological and serological.
Results of researches. The areas of high risk of HPAI were determined: high, medium and low. Negative results had been received in all investigated blood serum samples of poultry in all areas of the risk of HPAI.

According to the results of poultry's researches (1228 heads) it was established that 82.3 % of vaccinated hens and 48.2 % of turkeys had a formed herd immunity to NC and the possibility of this virus persistence in waterfowl: unvaccinated ducks (100 %) and geese (100 %).

When researches concerning blood serum antibodies to the virus of bird's influenza were not detected in IFA on the poultry farm but antibodies to CEM-1 and CEM-4 were found. The presence of antibodies may indicate possible CEM circulation among birds.

Conclusions. 1. It had been established the absence of HPAI virus circulation in poultry populations in the Black Sea region.

2. There was a formed herd immunity to NC among 82.3% of vaccinated hens and among 48.2 % of turkeys. We received negative results against NC pathogen studying blood serum of wild and synanthropic birds.

3. According to the results of IFA in ducks blood serum, antibodies to the virus of bird's influenza were not detected, however it was found antibodies to CEM-1 (number of positive samples was 100 % and the average antibody's titer was $7.75 \pm 0.96 \log_2$) and to CEM-4 (number of positive samples was 70 % and the average antibody's titer was $4.6 \pm 0.63 \log_2$).

Keywords: epizootic monitoring, highly pathogenic influenza, Newcastle disease, paramyxoviruses, titer of antibodies

UDC: 619.618:852.11

MICROEVOLUTION FROM A YOUNG ANCESTOR (M.A.Y.A.) SUGGESTS A SOIL-BORNE LIFE CYCLE OF *BACILLUS ANTHRACIS*

Peter Braun^{1,3}, **Gregor Grass**¹, **Angela Aceti**², **Luigina Serrecchia**², **Leonardo Marino**²,
Matthias Hanczaruk¹, **Enrico Georgi**¹, **Markus Antwerpen**¹, **Bernd Northoff**^{1,5},
Michael Schloter^{3,4}, **Antonio Fasanella**²

¹ Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Germany

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale of Puglia and Basilicata; Anthrax Reference Institute of Italy; Foggia, Italy

³ Technische Universität München, Munich, Germany

⁴ German Research Center for Environmental Health, Research Unit for Environmental Genomics Neuherberg, Germany

⁵ Ludwig Maximilians Universität München, Institut für Laboratoriumsmedizin, Munich, Germany

Introduction: *Bacillus anthracis*, the causative agent of anthrax-disease, uses its host for massive cell proliferation. After demise of the animal the pathogen is disseminated from the carcass as endospores that can survive in the environment for several decades. However we still know very little about the ability of the bacteria to replicate in the environment without the host-animal. In experimental settings *B. anthracis* is able to multiply in soil-dwelling amoebae and even survive as a saprophyte. Strains lacking one or both virulence plasmids can frequently be isolated from soil. This loss might be an indication of a soil-borne cycle of the pathogen.

Objectives: To test the hypothesis of a soil-borne lifecycle we investigated two burial sites where two bovines were buried during an anthrax epidemic in Pollino Natural Park (Italy) in 2004. If there is *B. anthracis*-proliferation then genotypes of strains isolated from near the surface (5-cm) of contaminated soil should be on a different evolutionary trajectory from those residing at 100-cm depth near the carcass. It was the expectation that the surface population would yield a higher genetic diversity. The aim of this project was testing such microevolution using genomic tools.

Methods: The genetic diversity of randomly picked *B. anthracis*-isolates was compared by 31-Loci MLVA, 4-loci SNR analysis and whole genome sequencing.

Results: MLVA-31 analysis of 114 isolates only revealed three differences, none of which in near-surface isolates. SNR 4-loci-screening of 174 isolates revealed 18 differences (in loci HM1 or HM2, respectively) ten of which in 5-cm isolates. This represented approximately a very similar percentage of occurrences of SNR-variants for near-surface (9.9 %) and near-carcass (10.9 %). Except of one repeat count reduction by 4 bp in a surface-isolate, which was a novel allele, the other SNR-alleles had been observed before in genotyping analysis of the 2004 outbreak isolates. Genome sequencing of nine 5-cm- and 100-cm-isolates, respectively, revealed five isolate-specific SNPs, four of which only found in different isolates from 5-cm. Notably, one of these randomly-picked surface-isolates lacked plasmid pXO1.

Conclusion: Overall, our results indicate that MLVA- and SNR-based genotyping do not provide high enough resolution power for microevolution analysis at aging anthrax foci. Conversely, loss of a virulence plasmid and a higher number of isolate-specific SNPs in near-surface compared to near-carcass isolates suggest limited proliferation of *B. anthracis* and hint at an animal independent life-cycle of the pathogen. In our hypothesis, genetic changes occur as spores passively migrate towards the soil surface and alternately germinate and sporulate.

Keywords: *Bacillus anthracis*, anthrax, outbreak investigation, microevolution, genome sequencing, natural foci