

СЕРОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЦИРКУЛЯЦІЇ ВІРУСІВ ГРИПУ В ПОПУЛЯЦІЇ ПТИЦІ В ХАРКІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Гарагуля Г. І., Момот А. М.

Державний біотехнологічний університет, Харків, Україна,
e-mail: vetvir.galina@gmail.com

Северин Б. С., Верецун А. Л.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна

Моніторинг грипу птиці в Україні — це система заходів, яка передбачає постійні дослідження щодо циркуляції вірусу. Реакція затримки (гальмування) гемаглютинації може бути використана для виявлення або кількісного визначення антитіл до вірусів грипу А різних підтипів. РЗГА є швидким і недорогим методом: не потрібне дороге або незвичайне лабораторне обладнання, а результати можна отримати протягом кількох годин. Робота присвячена аналізу результатів моніторингових досліджень сироваток крові птиці з метою контролю циркуляції грипу птиці типу А підтипу Н5 в господарствах різної форми власності на території Харківської області України. Епізоотологічний моніторинг у 2013–2018 роках проводився методами імуноферментного аналізу та реакції затримки гемаглютинації, які застосовували для виявлення протівірусних антитіл у сироватках крові птиці. Ми провели статистичний аналіз щодо кількості досліджених проб сироваток крові та видового складу птиці як в птахофабриках, так і в присадибних господарствах Харківської області. Усього досліджено 34 818 проб сироваток крові сільськогосподарської птиці, а саме: курей (80,7 %), гусей (10,9 %), качок (6,3 %) та індиків (0,6 %). Серед видів декоративної птиці (1,5 %) досліджували голубів, папуг, куріпок, цесарок, павичів, фазанів, лебедів. Упродовж усього періоду отримані негативні результати серологічних досліджень, що підтверджує стабільність благополучної епізоотичної ситуації з грипу птиці типу А підтипу Н5 і вказує на відсутність циркуляції вірусу ВПГП у популяціях дослідженої птиці різних видів на території Харківської області України. Наступним етапом нашої роботи стане подальший аналіз епізоотичної ситуації щодо грипу птахів у господарствах Харківської області

Ключові слова: реакція затримки гемаглютинації, ІФА, сільськогосподарська птиця, декоративні птахи

Високопатогенний грип птиці (ВПГП) залишається одною з основних проблем для світового птахівництва. Крім економічних збитків, дуже важливим аспектом є небезпека для здоров'я людини, а також потенційні ризики виникнення нового пандемічного варіанту вірусу.

Моніторинг грипу птиці в Україні — це система заходів, яка передбачає постійні дослідження на вірус, що проводяться згідно із Державним планом моніторингу інфекційних хвороб птиці для виявлення захворювання та запобігання його поширенню.

У період 2014–2017 років епізоотична ситуація щодо грипу птиці погіршилася, про що свідчать численні спалахи ВПГП у Північній Америці (США, Канаді, Мексиці), а також велика кількість випадків виявлення збудника у багатьох країнах Європи. Вперше вітчизняне птахівництво зіткнулося з високопатогенним вірусом грипу підтипу Н5Н1 у період 2005–2008 років, коли спалахи реєструвалися в АР Крим, Херсонській, Одеській та Сумській областях. Нова хвиля високопатогенного грипу птиці нового підтипу Н5Н8 розпочалася в Україні у листопаді 2016 року. За цей період (до квітня 2017 року) усього зареєстровано 8 випадків виявлення цього вірусу в Херсонській, Одеській, Миколаївській, Тернопільській, Чернівецькій областях. У присадибних господарствах і на комерційній фермі захворювання було виявлено у свійської птиці різних видів (курей, качок, гусей). У мігруючих птахів вірус було виявлено у лебедів-шипунів, у зоопарку — у павичів [1–4].

Згідно із діючою в Україні «Інструкцією з профілактики та ліквідації грипу птиці» до лабораторних досліджень на грип входять серологічні тести, доступні для виявлення

специфічних антитіл до вірусу грипу А: реакція дифузійної преципітації (РДП), реакція затримки гемаглютинації (РЗГА) та ELISA (ІФА). РДП має найнижчий показник чутливості, тож її майже не використовують. РЗГА в порівнянні з ІФА є менш чутливою, але має значні переваги з точки зору простоти, швидкості та низької вартості.

Реакція затримки (гальмування) гемаглютинації для вірусу грипу А використовується з 1940-х років. Цей аналіз може бути використаний для виявлення або кількісного визначення антитіл до вірусів грипу А, а також для характеристики відмінностей в антигенній реактивності між ізолятами грипу. Крім того, дані РЗГА зазвичай використовуються для антигенної картографії, спостереження за вірусом грипу, епідеміології та відбору штамів для створення вакцин. Для кількісного визначення антитіл РЗГА є швидким і недорогим методом; окрім джерела еритроцитів, не потрібне дороге або незвичайне лабораторне обладнання, а результати можна отримати протягом кількох годин. Історично РЗГА також слугував основним методом ідентифікації підтипів і досі широко використовується [5, 8].

РЗГА продовжує використовуватися в лабораторіях охорони здоров'я та дослідницьких лабораторіях, а також виробниками вакцин як основний метод глобального сероепідеміологічного спостереження за грипом для визначення розподілу та поширеності грипу в певних популяціях, антигенної характеристики вірусів грипу [9]. РЗГА — це відносно недорога процедура, що використовує стандартне лабораторне обладнання, менш технічна, ніж молекулярні тести, і легко виконується протягом кількох годин [7].

Група вчених розробила першу в галузі високопродуктивну систему для автоматичного визначення титру РЗГА. Ця система сприяє стандартизації аналізу РЗГА та забезпечує розуміння кінетики потоку еритроцитів як функції стану аглютинації, штаму вірусу, виду еритроцитів та умов аналізу. Можливість присвоєння кількісних значень станам аглютинації відкриває нові способи аналізу даних РЗГА, такі як апроксимація кривої реакції інгібування, що може підвищити точність титру понад дискретні значення сучасних методів. Завдяки отриманим результатам конкорданції, автоматизований аналіз гемаглютинації може зменшити потребу у візуальному огляді, що приведе до прямої економії робочого часу, пов'язаного з навчанням та перекваліфікацією аналітиків [6].

Мета роботи. Проаналізувати методи дослідження і статистичні дані результатів серологічного епізоотологічного контролю циркуляції вірусу грипу типу А підтипу H5 в певних популяціях птиці на території Харківської області за період 2013–2018 років.

Матеріали та методи. Для серологічного моніторингу використовували два варіанти серологічного дослідження сироваток крові птиці різних видів: ІФА і РЗГА. Реакції ставили за загальноприйнятими методиками. Сироватки крові відбиралися у птиці усіх птахогосподарств області та в приватних присадибних господарствах. Дослідження проводилися у вірусологічному відділі Харківської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів.

Результати. За даними квартальних звітів вірусологічного відділу Харківської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів за період 2013–2018 років (окрім 2015 року) було досліджено 34 818 проб сироваток крові птиці різних видів методами ІФА та РЗГА з метою виявлення противірусних антитіл до вірусу грипу типу А підтипу H5. Близько 60 % проб сироваток отримані від птиці птахогосподарств, 40 % — сироватки крові птиці присадибних господарств і декоративної птиці Харківського зоопарку та окремих індивідуальних власників. Основним видом досліджуваної птиці були кури різних вікових груп, значно менше проведено досліджень сироваток крові гусей і качок, а також сироватки крові птиці інших видів.

Для виявлення противірусних антитіл у 2013 році використовували два методи: ІФА та РЗГА. Причому імуноферментним аналізом досліджували лише сироватки крові курей, надісланих із птахофабрик. Так, з 5 824 проб сироваток різних видів птиці 20,6 % були досліджені за допомогою ІФА, інші — реакції затримки гемаглютинації (РЗГА). У подальшому усі сироватки крові незалежно від виду птиці і форми господарства досліджувалися лише за допомогою РЗГА.

За досліджуваний період різні птахопідприємства різного типу і потужності направляли сироватки крові птиці для контролю наявності антитіл проти вірусу грипу. Усього за 6 років ми

знайшли відомості про матеріал від курей з 34 підприємств Харківської області, від гусей — з 14, від качок — з 7, від індиків — з 3 господарств.

Майже 40 % сироваток крові птиці було отримано з 9 крупних птахофабрик, а саме: ТОВ «Курганський бройлер», ТОВ «Завод Точмаш», ТОВ ПК «Слобожанщина», ТОВ ТБ «Богодухівська птахофабрика», СПРАТ «Охоче», СТОВ «Старовірівський птахокомплекс», ПАТ «Крос-птахофабрика «Зоря», ФГ «ФВ», ТОВ «Голден Крос», ПП «Леман». Розподіл матеріалів за видами птиці представлений на рис. 1.

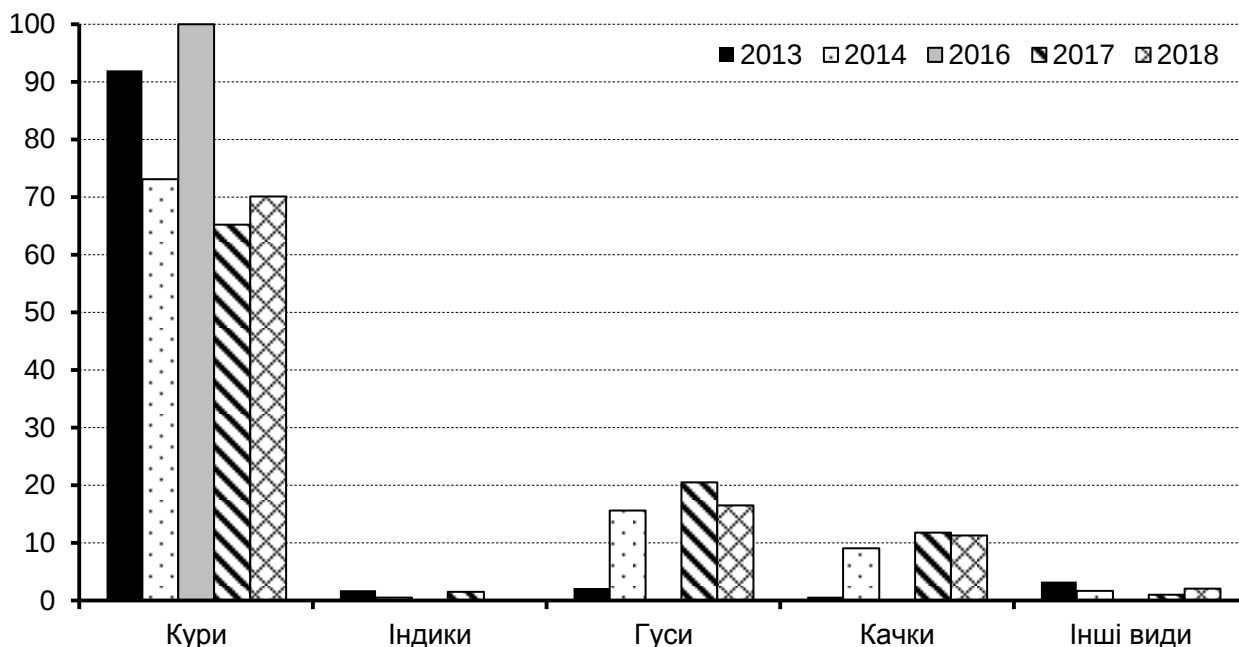


Рис. 1. Частки (у %) досліджених сироваток крові птиці різних видів з птахофабрик Харківської області (2013, 2014, 2016–2018 рр.).

Дані рис. 1 підтверджують, що основним видом досліджуваної птиці птахофабрик є кури: частка сироваток крові курей становила від 65,2 до 100 %, значно менше проб отримували від гусей (2,2–20,5 %), качок (0,7–11,3 %), індиків (0,5–1,8 %) та інших видів птиці (1,0–3,3 %). Серед декоративних видів реєстрували сироватки крові від папуг, куріпок, голубів, фазанів, павичів, цесарок, лебедів та птиці Харківського зоопарку. «« »»

Сироватки крові індиків направлялися з ПФ «Агроімпекс», ІП НААНУ «Бірки» та ТОВ «Сонячна поляна». Серед господарств, де розводили гусей, найбільше сироваток крові направлялися з ТОВ «Агротон», ПАТ АФ «8 Березня», ФГ «Рассолова», СТОВ «Івашківський інкубатор», ФОП «Гопкало», ПП «Леман», ТОВ «Агроінвест» та ФОП «Назаров». На ці господарства припадає 84,4 % досліджених сироваток крові. Господарств, які займалися розведенням качок, лише сім, найбільші з них ПП «Леман», ТОВ СП «Агротон» і ФОП «Гопкало», бо 85,4 % проб було доставлено з цих господарств.

Матеріал для дослідження відбирали також у птиці, яку утримували у присадибних господарствах Харківської області (табл. 1).

З даних табл. 1 видно, що усі райони області, а також міста Люботин і Харків досліджували птицю присадибних господарств на наявність антитіл проти вірусу грипу. Розподіл матеріалів за видами птиці в присадибних господарствах представлений на рис. 2.

Дані рис. 2 показують, що з присадибних господарств основним видом досліджуваної птиці є кури: частка сироваток крові курей становила від 78,4 до 92,4 %, значно менше проб отримували від гусей (4,3–12,9 %), качок (2,3–6,1 %), індиків (1,5–2,3 %) та інших видів птиці (0,8–1,8 %). Серед декоративних видів реєстрували сироватки крові від папуг, голубів і куріпок. Сироватки крові гусей направлялися із Золочівського, Красноградського та Печенізького районів, сироватки крові качок — з Богодухівського, Валківського та Красноградського районів, сироватки крові індиків — з Сахновщинського району.

Таблиця 1 — Динаміка надходжень проб сироваток крові птиці з приватних господарств Харківської області (2013–2018 роки)

№	Райони та міста області	Роки					Усього
		2013	2014	2016	2017	2018	
1	Балаклійський район	425	118	40	294	0	1177
2	Барвінківський район	124	151	60	0	90	426
3	Близнюківський район	110	210	70	80	160	630
4	Богодухівський район	100	100	35	5	55	290
5	Борівський район	100	94	35	70	54	353
6	Валківський район	100	190	75	80	116	290
7	В.-Бурлуцький район	162	100	50	100	72	484
8	Вовчанський район	215	200	70	140	101	726
9	Дворічанський район	100	0	40	80	60	280
10	Дергачівський район	372	158	55	130	48	763
11	Зачепилівський район	100	80	30	30	60	300
12	Зміївський район	130	135	30	0	20	315
13	Золочівський район	0	240	50	100	100	490
14	Ізюмський район	170	70	50	110	120	520
15	Кегичівський район	95	90	35	75	70	365
16	Коломацький район	137	0	60	105	100	367
17	Краснокутський район	155	115	51	100	60	481
18	Красноградський район	250	128	45	75	92	565
19	Куп'янський район	274	140	55	0	0	469
20	Лозівський район	240	214	90	296	80	920
21	Н.-Водолазький район	97	110	50	90	64	411
22	Печенізький район	44	33	10	20	0	97
23	Первомайський район	140	133	55	165	80	573
24	Сахновщинський район	158	120	50	100	75	503
25	Харківський район	140	0	100	105	40	385
26	Чугуївський район	85	80	30	70	44	309
27	Шевченківський район	217	65	37	60	55	434
28	м. Люботин	25	10	5	5	10	50
29	м. Харків	150	10	0	0	10	170

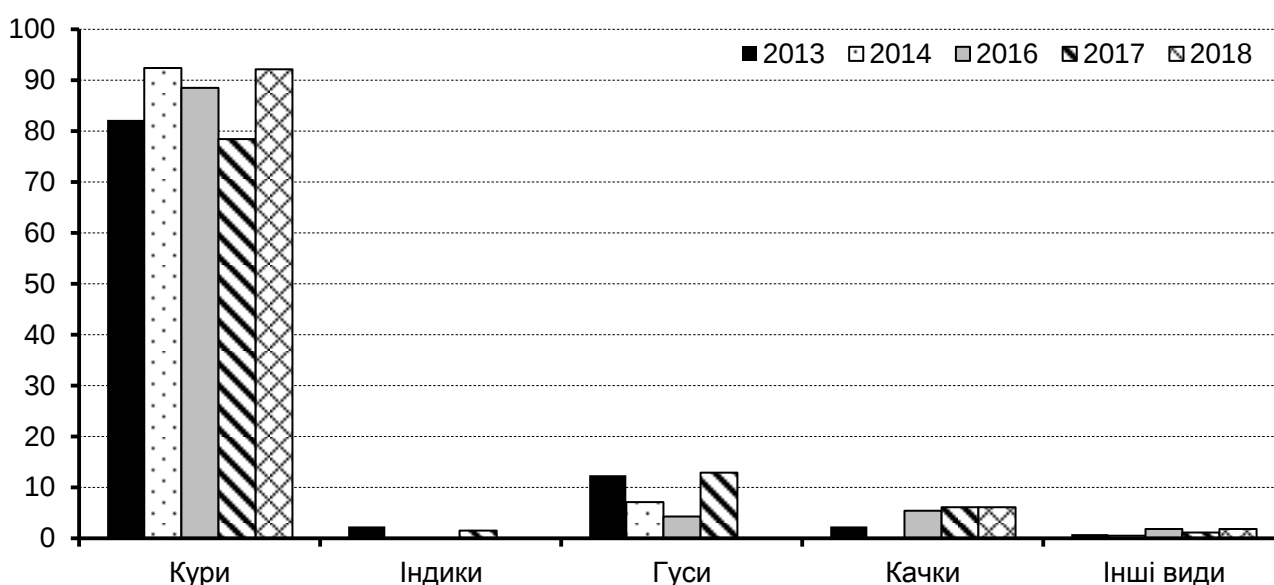


Рис. 2. Частки (у %) досліджених сироваток крові птиці присадибних господарств Харківської області (2013, 2014, 2016–2018 рр.).

Із порівняння видового складу досліджуваної птиці птахопідприємств та приватних господарств видно, що картина аналогічна: частка курей є найбільшою, а серед птиці інших видів доволі багато гусей та качок.

Підводячи підсумок статистичного аналізу, можна стверджувати, що основні види домашньої птиці максимально охоплені дослідженнями щодо виявлення антитіл проти вірусу грипу, причому впродовж усього періоду не було виявлено позитивних результатів (табл. 2).

Таблиця 2 — Результати серологічного контролю циркуляції вірусу грипу типу А підтипу Н5 в різних популяціях птиці на території Харківської області за період 2013–2018 років

Вид птиці	Птахофабрики			Присадибні господарства			Усього	
	проб	%	результат	проб	%	результат	проб	%
Кури	17058	82,3	–	11024	78,2	–	28082	80,7
Індики	137	0,6	–	55	0,4	–	192	0,6
Гуси	2054	9,9	–	1743	12,4	–	3797	10,9
Качки	1051	5,1	–	1151	8,2	–	2201	6,3
Декоративна птиця	283	1,4	–	122	0,8	–	395	1,1
Птиця зоопарку	140	0,7	–	–	–	–	140	0,4
Усього	20723	100	–	14095	100	–	34818	100

Примітка: «–» — негативний результат.

Як видно з табл. 2, усі досліджувані сироватки крові птиці усіх видів з усіх господарств Харківської області дали негативний результат щодо антитіл проти вірусу грипу типу А підтипу Н5. Отже, дані табл. 2 свідчать про благополуччя щодо грипу типу А підтипу Н5 птахогосподарств усіх форм власності Харківської області. Достатнім можна вважати також охопт птиці різних видів: кури, індики, гуси, качки, декоративна та зоопаркова птиця.

Українські та зарубіжні вчені використовують реакцію затримки гемаглютинації для виявлення антитіл до різних антигенних варіантів вірусу грипу птиці типу А. Цей метод за тривалий час його використання не втратив своєї актуальності, бо дозволяє отримувати якісні результати не лише за чутливістю методу, а й простотою його виконання, швидкістю та невисокою вартістю дослідження.

Висновки. 1. Епізоотологічний моніторинг щодо високопатогенного грипу птиці типу А підтипу Н5 на території Харківської області України у 2013–2018 роках проводився методами імуноферментного аналізу та реакції затримки гемаглютинації, які застосовували для виявлення протівірусних антитіл в сироватках крові птиці різних видів із господарств різних форм власності.

2. Досліджували сироватки крові курей (80,7 %), гусей (10,9 %), качок (6,3 %), декоративної птиці (1,1 %), індиків (0,6 %) та птиці Харківського зоопарку (0,4 %).

3. Отримані негативні результати серологічних досліджень підтверджують стабільність благополучної епізоотичної ситуації стосовно грипу птиці типу А підтипу Н5, що вказує на відсутність циркуляції вірусу у популяціях дослідженої птиці різних видів.

Перспективи подальших досліджень. Наступним етапом нашої роботи стане подальший аналіз епізоотичної ситуації щодо грипу птахів у господарствах Харківської області.

Список літератури

1. Гладій М. В., Стегній Б. Т., Музика Д. В., Болотін В. І. Ризики транскордонного заносу емерджентних захворювань тварин і птиці в Україну та проблеми біобезпеки і біозахисту в контексті концепції «Єдине здоров'я». *Ветеринарна медицина*. 2018. Вип. 104. С. 28–34. URL: https://jvm.kharkov.ua/sbornik/104/VetMed_104.pdf.
2. Данілочкін К. М., Дрожже Ж. М., Піщанський О. В., Свідерський В. С. Епізоотичний аналіз захворювання птахів на грип в Україні в 2016–2017 рр. *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. Вип. 32(1). С. 324–329. DOI: [https://doi.org/10.31073/vet_biotech32\(1\)-43](https://doi.org/10.31073/vet_biotech32(1)-43).
3. Музика Д. В., Неволько О. М., Герілович А. П., Стегній А. Б., Новожицька Ю. М., Рула О. М., Ткаченко С. В. Високопатогенний грип птиці у світі та Україні. *Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 103. С. 198–201. URL: https://jvm.kharkov.ua/sbornik/103/3_45.pdf.

4. Стегній Б., Музика Д., Піщанський О. Сучасна епізоотична ситуація щодо грипу птиці у світі та Україні (розробка вітчизняних засобів моніторингу, діагностики). Вісник аграрної науки. 2018. Т. 96, № 11. С. 87–92. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201811-12>.
5. El-Husseiny M. H., Pushko P., Tretyakova I., Hagag N. M., Abdel-Mawgod S., Shabaan A., Bakry N. R., Arafa A. S. A novel application of virus like particles in the hemagglutination inhibition assay. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, No. 16. P. 8746. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25168746>.
6. Nguyen M., Fries K., Khoury R., Zheng L., Hu B., Hildreth S. W., Parkhill R., Warren W. Automated imaging and analysis of the hemagglutination inhibition assay. *Journal of Laboratory Automation*. 2016. Vol. 21, No. 2. P. 287–296. DOI: <https://doi.org/10.1177/2211068215610061>.
7. Pedersen J. C. Hemagglutination-inhibition assay for influenza virus subtype identification and the detection and quantitation of serum antibodies to influenza virus. *Animal Influenza Virus* / Ed. E. Spackman. New York, NY : Humana Press, 2014. P. 11–25. (Methods in Molecular Biology, Vol. 1161). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0758-8_2.
8. Spackman E., Sitaras I. Hemagglutination inhibition assay. *Animal Influenza Virus* / Ed. E. Spackman. New York, NY : Humana Press, 2020. P. 11–28. (Methods in Molecular Biology, Vol. 2123). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_2.
9. Young S., Pinsky B. A. Hemagglutination Inhibition Assay for Quantitative Measurement of Antibody Responses to Influenza Virus. *ClinMicroNow*. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781683670438.cmp0134>.

**SEROLOGICAL CONTROL OF INFLUENZA VIRUS CIRCULATION
IN THE POULTRY POPULATION IN KHARKIV REGION**

Harahulya G. I., Momot A. M.

State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

Severin B. S., Veretsun A. L.

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

The avian influenza monitoring system in Ukraine involves constant research on the circulation of the virus. This research is carried out in accordance with the State Plan for Monitoring Infectious Diseases of Poultry to detect the disease and prevent its spread. The delayed hemagglutination inhibition (HI) assay can detect or quantify antibodies to influenza A viruses of different subtypes. HI is a rapid and inexpensive method that does not require expensive or unusual laboratory equipment, and results can be obtained within a few hours. This study examines the findings from monitoring blood serum samples of poultry to track the circulation of avian influenza type A, subtype H5, on various types of farms in Kharkiv Region of Ukraine. From 2013 to 2018, epizootiological monitoring was carried out using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the hemagglutination inhibition assay (HI). These assays were used to detect antiviral antibodies in poultry blood serum. We conducted a statistical analysis of the number of blood serum samples tested and the species composition of poultry on both commercial and homestead farms in the region. In total, we analyzed 34,818 blood serum samples from farm poultry, which included chickens (80.7%), geese (10.9%), ducks (6.3%), and turkeys (0.6%). Additionally, ornamental bird species, including pigeons, parrots, partridges, guinea fowl, peacocks, pheasants, and swans, made up 1.5% of the samples. Throughout the monitoring period, all serological studies yielded negative results, confirming a favorable epizootic situation regarding avian influenza type A, subtype H5, and indicating that the highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus was absent in the bird populations studied in Kharkiv Region. The next phase of our research will involve further analysis of the epizootic situation concerning bird flu on farms in Kharkiv Region

Keywords: hemagglutination inhibition assay, ELISA, poultry, ornamental birds