

УДК 619:616.98-036.22-07:
578.832.1А:[636.5+598.2]

© 2018

СУЧАСНА ЕПІЗООТИЧНА СИТУАЦІЯ ЩОДО ГРИПУ ПТИЦІ У СВІТІ ТА УКРАЇНІ (РОЗРОБКА ВІТЧИЗНЯНИХ ЗАСОБІВ МОНІТОРИНГУ, ДІАГНОСТИКИ)

Б.Т. Стегній¹, Д.В. Музика², О.В. Піщанський³

¹доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН

²доктор ветеринарних наук

^{1, 2}ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна

³Державний науково-дослідний інститут лабораторної
діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

e-mail: ¹admin@vet.kharkov.ua, ²dmuzyka77@gmail.com, ³dndildvse@vetlabresearch.gov.ua

Надійшла 29.08.2018

Мета. Проаналізувати сучасну епізоотичну ситуацію у світі та Україні щодо високопатогенного грипу птиці, провести моніторинг і розробити вітчизняні діагностичні тест-системи для серологічної діагностики грипу у свійської і дикої птиці. **Методи.** Статистичні, вірусологічні, імунологічні, молекулярно-генетичні. **Результати.** Перед проблемою високопатогенного грипу птиці нині стає більшість країн світу. Починаючи з 1955 р. 30 епізоотій високопатогенного грипу птиці різної інтенсивності було зафіксовано в усьому світі. Одна з найбільших епізоотій високопатогенного вірусу грипу H5N1 (з 1996 р. й донині) охопила майже весь Євроазійський континент, частину Африканського, була зареєстрована у 63-х країнах світу. Нині є складною епізоотична ситуація щодо вірусів грипу таких підтипів: H5N1, H5N2, H5N5, H5N6, H5N8, H7N9. Зараз в Україні епізоотична ситуація щодо високопатогенного грипу птиці стабільна і благополучна, але у 2005 – 2008 рр. у нашій країні було зареєстровано дві хвилі високопатогенного грипу птиці, викликані вірусом з антигенною формулою H5N1. Третю хвилю зареєстровано у 2016 – 2017 рр. Протягом усього цього часу науковці ННЦ «ІЕКВМ» брали активну участь у постановці діагнозу та протиепізоотичних заходах у тісній співпраці з Державною ветеринарною службою України. Фахівцями ННЦ «ІЕКВМ» у 2005 – 2008 та 2016 – 2017 рр. було ізольовано вірус високопатогенного грипу птиці підтипу H5N1 та H5N8, вивчено їхні біологічні властивості, антигенні характеристики, проведено секвенування та філогенетичний аналіз, який дав змогу встановити походження цих вірусів. **Висновки.** Установлено, що грип птиці та його високопатогенні варіанти є реальною загрозою для промислового та присадибного птахівництва з серйозними економічними наслідками. Першою ланкою у системі запобігання цьому захворюванню є моніторинг і своєчасна діагностика. Тому розробка вітчизняних діагностичних препаратів є вкрай потрібним та актуальним завданням.

Ключові слова: високопатогенний грип птиці, епізоотична ситуація, серологічна діагностика.

<https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201811-12>

У сучасному світі грип є однією з небезпечних інфекцій, які становлять серйозну загрозу для людства. Його вплив на птахівництво (знищення поголів'я птиці, карантинні та інші обмежувальні заходи, заборона торгівлі, додаткові ветеринарно-санітарні заходи) призводить до істотних економічних збитків як у розвинених країнах, так і в країнах, що розвиваються. Особливе місце грип займає як патоген, небезпечний для здоров'я людини, здатний викликати пандемію з тяжкими наслідками. Усе зазначене вище спонукає міжнародну наукову спільноту до постійного спостереження та вивчення цього захворювання, його епізоотології та епідеміології, особливостей біології та генетичної структури збудника. Інформація щодо потенційної можливості деяких вірусів грипу (особливо високопатогенних) долати міжвидовий бар'єр призвела до нової хвилі досліджень екології вірусу грипу, виявлення як нових типів вірусу грипу (вірусу грипу D у жуйних) [1], так і нових хазяїв вірусу грипу A (2 нових підтипи гемаглютиніну H17, H18 та нейромінідази N10-N11 виявлено у качанів у Південній Америці) [2]. Найбільшу увагу в світі приділяють саме вірусам грипу A, тому що особливо небезпечні високопатогенні віруси грипу належать саме до цього типу.

Віруси грипу типу A належать до родини *Orthomyxoviridae* [3, 4]. Дикі водоплавні та навколводні птахи є основним природним резервуаром вірусів грипу та відіграють головну роль у підтриманні циркуляції цього збудника [4]. Віруси грипу всіх відомих підтипів гемаглютиніну (H1-H16) та нейромінідази (N1-N9) виділено від диких птахів, що належать більш ніж до 100 видів 12 рядів. Проте найбільша кількість вірусів ізольована від представників *Anseriformes* (Гусеподібні) та *Charadriiformes* (Сивкоподібні) [5–8]. За класифікацією Міжнародного епізоотичного бюро згідно зі структурою сайту розрізання гемаглютиніну, а також здатністю викликати захворювання у птиці, віруси грипу поділяються на низько- та високопатогенні. Щодо низькопатогенних вірусів грипу, то нині доведено їхню широку світову циркуляцію у природному резервуарі. З усього величезного різноманіття вірусів грипу найбільше зацікавлення та увагу привертають

високопатогенні варіанти вірусу грипу, їхнє походження, еволюція, патогенез у свійських і диких тварин і птиці [3, 4, 9]. У системі контролю грипу птиці, зокрема і високопатогенного, ключовим є моніторинг циркуляції збудника серед свійської та дикої птиці, а також рання діагностика. Як для моніторингу, так і для ранньої діагностики потрібні сучасні, чутливі, специфічні діагностичні тест-системи. Враховуючи те, що вірус грипу здатний до швидких мутацій та реасортацій, слід постійно проводити ротацію антигенів з метою їх заміни на актуальніші.

Мета досліджень — проаналізувати сучасну епізоотичну ситуацію у світі та Україні щодо високопатогенного грипу птиці, провести моніторинг і розробити вітчизняні діагностичні тест-системи для серологічної діагностики грипу свійської і дикої птиці.

Матеріали та методи досліджень. Аналіз сучасної епізоотичної ситуації проводили за офіційними даними Держпродспоживслужби України та Міжнародного епізоотичного бюро (МЄБ) [10–12]. Ізоляцію та накопичення рідини, що вміщує вірус, проводили з використанням курячих ембріонів (КЕ) 9–10-добового віку. Серологічну ідентифікацію виділеного ізоляту проводили з використанням референтних сироваток виробництва Veterinary Laboratories Agency (Велика Британія) і ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини». Інактивацію цієї рідини проводили згідно із загальноприйнятими вимогами із застосуванням β -пропіолактону в кінцевій концентрації 0,05%. Перевіряли повноту інактивації способом 3-х послідовних «сліпих» пасажів на КЕ. Титр біологічної активності розраховували за формулою Ріда та Менча. Для імунізації птиці використовували інактивовану рідину з ад'ювантом Montanide Isa 70 VG у співвідношенні 30:70. Цю суміш вводили в м'язи стегна в дозі 0,5 см³ [13].

Результати досліджень. Проаналізувавши епізоотичну ситуацію щодо грипу у світі, встановлено, що з проблемою високопатогенного грипу птиці нині стикається більшість країн світу. Починаючи з 1955 р., 30 епізоотій високопатогенного грипу птиці різної інтенсивності зафіксовано

в усьому світі. Одна з найбільших епізотій високопатогенного вірусу грипу H5N1 (з 1996 р. до сьогодні) охопила майже весь Євразійський континент, частину Африканського, була зареєстрована у 63-х країнах світу [14].

Нині МEB традиційно фокусує свою увагу на вірусах грипу, які є високопатогенними або можуть ними стати. Зараз у світі зареєстровано циркуляцію та складну епізотичну ситуацію щодо вірусів грипу таких підтипів: H5N1, H5N2, H5N5, H5N6, H5N8, H7N9. За період із жовтня 2016 р. захворювання на високопатогенний грип птахів зареєстровано в 55-ти країнах, в яких зафіксовано 612 діючих спалахів серед свійських та 506 серед диких птахів. Загальна кількість знищеної сільськогосподарської птиці становить понад 5 млн 600 тис. гол.

Якщо проаналізувати регіональну ситуацію щодо грипу птахів, то найбільшу кількість уражених країн зафіксовано в Європі — 22 країни, що становить 41% від усіх країн у цьому регіоні. У свійських і диких птахів в Європі виявлено віруси з антигенними формулами: H5N5, H5N6, H5N8. Також в Європі найбільшою є кількість знищеної свійської птиці (понад 3 млн гол.). На другому місці з 9 (25%) найбільш ураженими країнами є Азія та Океанія. У цьому регіоні циркулюють віруси грипу з антигенними формулами H5N1, H5N2, H5N6, H5N8, H7N9, а кількість знищеної сільськогосподарської птиці становить майже 2,5 млн гол.

Нині в Україні епізоотична ситуація щодо високопатогенного грипу птахів стабільна і благополучна, але не треба забувати, що наша країна має великий природний резервуар вірусу грипу — диких птахів. Так, проведеними у ННЦ «ІЕКВМ» у 2001–2012 рр. моніторинговими дослідженнями встановлено циркуляцію низькопатогенних вірусів грипу серед 12-ти видів птахів фауни України в Азово-Чорноморському регіоні. З природного резервуару було ізольовано 69 вірусів грипу, які належать 15-ти із 16-ти відомих підтипів гемаглютиніну та до 7-ми із 9-ти відомих підтипів нейромінідази. Усього ізольовано 27 антигенних комбінацій, деякі з яких виявлено вперше. Також встановлено велике генетичне різноманіття цих вірусів та їх зв'язок з іншими географічними

регіонами (Європою, Південно-Східною Азією, Західним Сибіром) [15–17].

Щодо високопатогенного грипу птахів, то для України це також не нова інфекція. У 2005–2008 рр. у нашій країні зареєстровано дві хвилі високопатогенного грипу птахів, викликані вірусом з антигенною формулою H5N1. Перша хвиля епізоотії у 2005–2006 рр. охопила свійську птицю присадибних і невеликих промислових птахівничих господарств в АР Крим, Сумській обл., зоопаркову птицю в Одеському зоопарку. У цей період захворювання реєстрували також і в диких птахів у Херсонській обл. Другу хвилю спалахів ВПГП H5N1 зареєстровано у 2008 р. серед свійських і диких птахів в АР Крим. Отже, у період з листопада 2005 р. до березня 2008 р. на території України зареєстровано 45 спалахів, високопатогенних серед свійських і диких птахів. Нова, третя хвиля високопатогенного грипу птахів розпочалася в листопаді 2016 р., коли в Херсонській обл. було зафіксовано перші випадки захворювання птиці на високопатогенний грип. Ці спалахи викликані новим підтипом вірусу грипу H5N8. Спалахи захворювання реєстрували і в 2017 р., у результаті чого зареєстровано 9 спалахів високопатогенного грипу птахів H5N8 у Херсонській, Одеській, Чернівецькій, Тернопільській, Миколаївській обл. серед свійських, диких і зоопаркових птахів.

Протягом усього цього часу науковці ННЦ «ІЕКВМ» брали активну участь у постановці діагнозу та протиепізоотичних заходах у тісній співпраці з Державною ветеринарною службою України.

Фахівцями ННЦ «ІЕКВМ» у 2005–2008 та 2016–2017 рр. було ізольовано вірус високопатогенного грипу птахів підтипу H5N1 (штам А/курка/Сиваш/02/05) і H5N8 (штам А/гуска білолоба/АН/1-15-12/16), вивчено їхні біологічні властивості, антигенні характеристики. Проведено секвенування та філогенетичний аналіз, який дав змогу встановити походження цих вірусів і визначити ймовірні шляхи проникнення збудника з дикими птахами. У подальшому ці польові ізоляти після ретельного вивчення стали виробничими штамами для розробки та виготовлення антигенів для серологічної діагностики. Так, на основі штаму А/курка/Сиваш/02/05 H5N1,

вперше ізольованого та вивченого в Україні, розроблено першу вітчизняну діагностичну тест-систему «АвіФлуТест Н5Н1» для виявлення антитіл до вірусу грипу Н5Н1. За результатами виробничих випробувань та апробації тест-систему «АвіФлуТест Н5Н1» визнано специфічною, чутливою та зареєстровано в Україні (РП № 2743-14-0301-07). Цей препарат активно використовували для проведення моніторингових досліджень як у відділі вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ», так і в державних лабораторіях ветеринарної медицини. Колектив фахівців ННЦ «ІЕКВМ» не зупиняв подальші дослідження та для ширшого охоплення спектра підтипів вірусу грипу науковцями інституту розроблено тест-систему для виявлення антитіл до вірусу грипу А підтипів Н1-Н14 у РЗГА (також уперше в Україні). До складу цієї тест-системи введено вітчизняний штам низькопатогенного вірусу грипу А/чирянка/Джанкой/4-17-11/2010 підтипу Н5Н2. За результатами комісійних державних випробувань цю діагностичну тест-систему зареєстровано в Україні (РП № ВВ-00568-06-13). У зв'язку з появою нового епізоотичного штаму вірусу грипу підтипу Н5Н8, який за антигенною формулою та деякими біологічними властивостями відрізнявся

від попередніх штамів, виникла потреба розробки та виготовлення нового антигену для реакції затримки гемаглютинації. У результаті цілого ряду наукових досліджень спільно з Державним науково-контрольним інститутом лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи було отримано інактивованій антиген вірусу високопатогенного грипу птиці підтипу Н5Н8 зі штаму А/гуска білолоба/АН/1-15-12/16. Активність цього антигену у реакції гемаглютинації становила 1:64–1:128. Проведено імунізацію птиці та отримано специфічну сироватку крові до цього вірусу, яка мала активність 5–9 \log_2 . Також у ННЦ «ІЕКВМ» розроблено технологію очищення антигену вірусу грипу А для виявлення антитіл в ІФА. Випробувано 11 способів очищення вірусу грипу А, проведено підбір регламенту сенсibilізації, постановки та обліку реакції. Тест-система «АвіФлуТест-ІФА» специфічно реагує із сироватками, які містять антитіла до вірусів грипу А Н1-Н16, і не реагує з позитивними до параміксовірусів 1–9 сироватками та сироваткою без антитіл до вірусних хвороб птиці. Чутливість і специфічність тест-системи в лабораторних умовах — 100%. Цю тест-систему зареєстровано в Україні (РП ВВ-00847-06-17).

Висновки

За результатами аналізу сучасної епізоотичної ситуації щодо високопатогенного грипу птиці та ризиків для галузі птахівництва України встановлено, що грип птиці та його високопатогенні варіанти становлять реальну загрозу для промислового та присадибного птахівництва з серйозними економічними наслідками у разі проникнення збудника. Першою ланкою у системі запобігання цьому захворюванню є моніторинг, своєчасна діагностика і, в контексті цього, розробка вітчизняних діагностичних препаратів, що є вкрай потрібним та актуальним

завданням. Нині Україна благополучна щодо високопатогенного грипу птиці, розроблено вітчизняні засоби моніторингу та діагностики, які є чутливими та специфічними. У подальшому для підтримання стійкого епізоотичного благополуччя необхідним є проведення постійного епізоотологічного моніторингу циркуляції вірусів грипу у природному резервуарі з метою виявлення нових епізоотичних та антигенних варіантів вірусу грипу, що дасть змогу своєчасно розробляти та впроваджувати нові антигени та тест-системи для діагностики.

Стегний Б.Т.¹, Музыка Д.В.², Пищанский А.В.³

^{1,2}ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», ул. Пушкинская, 83, г. Харьков, 61023, Украина, ³Государственный

научно-исследовательский институт лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина; e-mail: ¹admin@vet.kharkov.ua,

²dmuzyka77@gmail.com, ³dndildvse@vetlabresearch.gov.ua

Современная эпизоотическая ситуация по гриппу птицы в мире и Украине (разработка отечественных средств мониторинга, диагностики)

Цель. Проанализировать современную эпизоотическую ситуацию в мире и Украине по высокопатогенному гриппу птицы, провести мониторинг и разработать отечественные диагностические тест-системы для серологической диагностики гриппа у домашней и дикой птицы. **Методы.** Статистические, вирусологические, иммунологические, молекулярно-генетические. **Результаты.** С проблемой высокопатогенного гриппа птицы сегодня сталкивается большинство стран мира. Начиная с 1955 г. 30 эпизоотий высокопатогенного гриппа птицы разной интенсивности были зафиксированы по всему миру. Одна из наибольших эпизоотий высокопатогенного гриппа H5N1 (с 1996 г. до сегодняшнего времени) охватила почти весь Евроазиатский континент, часть Африканского, была зарегистрирована в 63-х странах мира. Сейчас существует сложная эпизоотическая ситуация в отношении вирусов гриппа таких подтипов: H5N1, H5N2, H5N5, H5N6, H5N8, H7N9. Сейчас в Украине эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птицы стабильная и благополучная, но в 2005–2008 гг. в нашей стране было зарегистрировано две волны высокопатогенного гриппа птицы, которые были вызваны вирусом с антигенной формулой H5N1. Третья волна была зарегистрирована в 2016–2017 гг. На протяжении всего этого времени сотрудники ННЦ «ИЭКВМ» принимали активное участие в диагностике и противоэпизоотических мероприятиях в тесном сотрудничестве с Государственной ветеринарной службой Украины. Специалистами ННЦ «ИЭКВМ» в 2005–2008 и 2016–2017 гг. были изолированы вирусы высокопатогенного гриппа птицы подтипов H5N1 и H5N8, изучены их биологические свойства, антигенные характеристики, проведено секвенирование и филогенетический анализ, который дал возможность установить происхождение этих вирусов. **Выводы.** Установлено, что грипп птицы и его высокопатогенные варианты представляют реальную угрозу для промышленного и приусадебного птицеводства с серьезными экономическими последствиями. Первым звеном в системе предупреждения этого заболевания является мониторинг и своевременная диагностика. Поэтому разработка отечественных диагностических препаратов является крайне необходимой и актуальной задачей.

Ключевые слова: высокопатогенный грипп птицы, эпизоотическая ситуация, серологическая диагностика.

<https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201811-12>

Stegniy B.¹, Muzyka D.², Pishchanskyi O.³

^{1, 2}NSC «Institute of experimental and clinical veterinary medicine», Pushkinska Str., 83, Kharkiv, 61023, Ukraine, ³State research institute of laboratory diagnosis and veterinary-sanitary expertise, Donetska Str. 30, Kyiv, 03151, Ukraine; e-mail: ¹admin@vet.kharkov.ua, ²dmuzyka77@gmail.com, ³dndildvse@vetlabresearch.gov.ua

Modern эпизоотическая ситуация on avian influenza in the world and Ukraine (development of domestic means of monitoring and diagnostics)

The purpose. To analyze modern epizootic situation in the world and Ukraine on highly pathogenic avian influenza, to monitor and develop domestic diagnostics test-system for serological diagnosis of avian influenza at house and wild bird. **Methods.** Statistical, virologic, immunological, molecular-genetic. **Results.** Today the majority of countries face the problem of highly pathogenic avian influenza. 30 outbreaks of highly pathogenic avian influenza with different intensity were registered all over the world since 1955. One of the biggest epizootic outbreaks of H5N1 highly pathogenic influenza virus (from 1996 until now) covered almost whole Eurasia, part of Africa and was registered in 63 countries of the world. Now there is difficult epizootic situation concerning viruses of influenza of such subtypes: H5N1, H5N2, H5N5, H5N6, H5N8, and H7N9. Now in Ukraine epizootic situation on highly pathogenic avian influenza is stable and safe. But in 2005–2008 two waves of highly pathogenic avian influenza were registered in Ukraine, which were caused by virus with antigenic formula H5N1. The third wave was been registered in 2016–2017. During all that time scientists of NSC «IECVM» actively participate in diagnosing and anti-epizootic work in close cooperation with State veterinary service of Ukraine. Scientists of NSC «IECVM» in 2005–2008 and 2016–2017 isolated viruses of highly pathogenic avian influenza of subtypes H5N1 and H5N8, studied their biological properties and antigenic characteristics, carried out sequencing and phylogenetic analysis, which allowed determining origin of these viruses and identifying possible ways of pathogen's penetration with wild birds. **Conclusions.** It is determined that avian influenza and its highly pathogenic alternatives are of real threat for industrial and home poultry and may cause serious economic aftereffects. The first part in system of forestalling this disease is monitoring and duly diagnostics. Therefore development of domestic diagnostic preparations is of utmost importance.

Key words: highly pathogenic avian influenza, epizootic situation, serological diagnostics.

<https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201811-12>

Бібліографія

1. Ferguson L., Olivier A.K., Genova S. et al. Pathogenesis of Influenza D Virus in Cattle. *J. Virol.* 2016. № 12, 90. P. 5636–5642.
2. Mehle A. Unusual influenza A viruses in bats. *Viruses.* 2014. № 9. P. 3438–3449.
3. Alexander D.J., Capua I. SpringerLink (Online service) Avian influenza and Newcastle disease a field and laboratory manual. Milan. Springer. 2009. 186 p.
4. Swayne D.E. Avian influenza. Ames, Iowa., Blackwell. 2008. P. 123–143.
5. Suss J., Schafer J., Sinnecker H., Webster R.G. Influenza virus subtypes in aquatic birds of eastern Germany. *Arch. Virol.* 1994. № 1–2, 135. P. 101–114.
6. Hinshaw V.S., Air G.M., Gibbs A.J. et al. Antigenic and genetic characterization of a novel hemagglutinin subtype of influenza A viruses from gulls. *J. Virol.* 1982. № 3, 42. P. 865–872.
7. Hinshaw V.S., Webster R.G., Turner B. The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl. *Can. J. Microbiol.* 1980. № 5, 26. P. 622–629.
8. Olsen B., Munster V.J., Wallensten A. et al. Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science.* 2006. V. 312. Is. 5772. P. 384–388.
9. Spackman. Animal influenza virus. New York., Humana Press. 2014. Second edition. V. 1161. P. 265–276.
10. OIE Disease Information. World organisation for animal health. 25–1–2014.
11. Офіційний сайт Державної ветеринарної і фітосанітарної служби України. www.vet.gov.ua. 2014.
12. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. 2018. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home.
13. Athens G.A. A laboratory manual for the isolation, identification and characterization of avian pathogens. *American Association of Avian Pathologists.* 2008. 5th ed. 249 p.
14. Swayne D.E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza. *Avian Dis.* 2012. № 4 Suppl, 56. P. 818–828.
15. Muzyka D., Pantin-Jackwood M., Spackman E. et al. Avian influenza virus wild bird surveillance in the Azov and Black Sea regions of Ukraine (2010–2011). *Avian Dis.* 2012. № 4 Suppl, 56. P. 1010–1016.
16. Muzyka D., Pantin-Jackwood M., Starick E., Fereidouni S. Evidence for genetic variation of Eurasian avian influenza viruses of subtype H15: the first report of an H15N7 virus. *Arch. Virol.* 2016. № 3, 161. P. 605–612.
17. Muzyka D., Pantin-Jackwood M.J., Spackman E. et al. Isolation and genetic characterization of avian influenza viruses isolated from wild birds in the Azov-Black Sea region of Ukraine (2001–2012). *Avian Diseases.* American Association of Avian Pathologists. 14–3–2016. P. 365–377.