

# ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 619:598.2/.9:578

П.И. Барышников  
P.I. Baryshnikov

## ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ ДИКИХ ПТИЦ В СТЕПНОЙ ОБЛАСТИ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

### VIRAL INFECTIONS IN WILD BIRDS IN THE STEPPE AREA OF THE ALTAI REGION

**Ключевые слова:** вирусные инфекции, дикие птицы, грипп, болезнь Ньюкасла, инфекционный ларинготрахеит, инфекционная бурсальная болезнь.

**Keywords:** viral infections, wild birds, influenza, Newcastle disease, infectious laryngotracheitis, infectious bursal disease.

Приведены результаты изучения инфицированности диких птиц вирусами гриппа, болезни Ньюкасла, инфекционной бурсальной болезни и инфекционного ларинготрахеита в степной области Алтайского края. Для изучения инфицированности диких птиц этими вирусами использовали сыворотки крови из 15 районов степной области Алтайского края. Исследовано 477 проб от 26 видов диких птиц перелётной (утка серая, чибис, черныш, лысуха, чирок, кряква, шилохвость, нырок, гоголь, широконоска, свиязь, пеганка, гусь серый, цапля, кулик, гагара, хохол, выпь, грач, чайка серебристая), кочующей (синица большая, дрозд рябинник) и осёдлой (ворона серая, голубь сизый, воробей домовый, сорока) групп. При этом от птиц перелётной группы использовано 374, кочующей – 25 и осёдлой – 78 проб. На грипп, болезнь Ньюкасла и инфекционную бурсальную болезнь исследовано по 330, а на инфекционный ларинготрахеит – 147 проб. Наличие специфических антител определяли конкурентным и прямым методами иммуноферментного анализа (ИФА) в разведении сывороток от 1:50 до 1:6400. При серологическом исследовании сывороток крови у диких птиц степной области Алтайского края обнаружены антитела к вирусам гриппа (25,2%), болезни Ньюкасла (69,1%), инфекционной бурсальной болезни (30,3%) и инфекционного ларинготрахеита (70,7%). В 110 (33,3%) пробах сыворотки крови установлены специфические антитела к 2 и более возбудителям вирусных инфекций: к вирусам гриппа, болезни Ньюкасла и инфекционной бурсальной болезни – в 24 (21,8%) пробах от 8 видов птиц только перелётной группы; к вирусам гриппа и болезни Ньюкасла – в 27 (24,5%) пробах от птиц 9 видов только перелётной группы; к вирусам гриппа и инфекционной бурсальной болезни – в 5 (4,5%) пробах от птиц 4 видов перелётной и 1 – кочующей групп; к вирусам болезни Ньюкасла и инфекционной бурсальной болезни – в 54 (49%) пробах от птиц 10 видов перелётной, 1 – кочующей и 3 – осёдлой групп.

The paper presents the research results on the infection in wild birds with the viruses of influenza, Newcastle disease, infectious bursal disease and infectious laryngotracheitis in the steppe area of the Altai Region. To study the infection of wild birds with these viruses, blood serum samples from 15 districts of the steppe area of the Altai Region were tested. Altogether 477 samples from the following birds were tested: 26 species of migratory wild birds (gadwall, plover, bluebill, coot, teal, mallard, pintail, pochard, garrot, shoveler, wigeon, shelduck, gray goose, heron, sandpiper, loon, tufted duck, bittern, rook, silver gull); nomadic birds (great titmouse, fieldfare) and resident birds (hooded crow, rock pigeon, house sparrow, magpie). The following number of samples from different groups was tested: migratory bird group – 374 samples, nomadic group – 25 samples, and resident group – 78 samples. To detect influenza, Newcastle disease and infectious bursal disease 330 sample for each disease were tested; and infectious laryngotracheitis – 147 samples. Specific antibodies were detected by competitive and indirect methods of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with serum dilution from 1:50 to 1:6400. The serologic testing of blood sera of wild birds of the steppe area of the Altai Region detected the following antibodies: anti-influenza viruses antibodies (25.2%), Newcastle disease (69.1%), infectious bursal disease (30.3%) and infectious laryngotracheitis (70.7%). In 110 (33.3%) samples of blood serum, specific antibodies to 2 or more pathogens of viral infections were detected: to influenza viruses, Newcastle disease and infectious bursal disease – in 24 (21.8%) samples from 8 migratory bird species; to influenza viruses and Newcastle disease – in 27 (24.5%) samples from 9 migratory bird species; to influenza viruses, and infectious bursal disease – in 5 (4.5%) samples from 4 migratory bird species and 1 nomadic species; to viruses of Newcastle disease and infectious bursal disease – in 54 (49%) samples from 10 migratory bird species, 1 nomadic species and 3 resident species.

**Барышников Пётр Иванович**, д.в.н., проф., зав. каф. «Микробиология, эпизоотология, паразитология и ветсанэкспертиза», Алтайский государственный аграрный университет. Тел.: (3852) 31-39-70. E-mail: agau@asau.ru.

**Baryshnikov Petr Ivanovich**, Dr. Vet. Sci., Prof., Head, Chair of Microbiology, Epizootology, Parasitology and Veterinary Inspection, Altai State Agricultural University. Ph.: (3852) 31-39-70. E-mail: agau@asau.ru.

### Введение

Резервуаром возбудителей многих инфекционных болезней, представляющих опасность для животных и человека, в природе являются дикие птицы. Они могут быть инфицированы возбудителями как бактериальных [1-3 и др.], так и вирусных [3-6 и др.] болезней. При этом наибольшее значение имеют представители перелетных видов, распространяющие инфекции за счет сезонных миграций [4, 7 и др.].

Общепризнанно, что эколого-географические особенности территории являются важнейшим фактором в развитии эпизоотического процесса. В этом отношении юг Западной Сибири, Алтайский край являются территорией, на которой в весенне-летне-осенний период сосредотачивается многомиллионное поголовье пернатых мигрантов из разных уголков мира. В связи с этим обследование диких птиц на возбудителей инфекционных болезней, изучение их ассоциированного течения в местах обитания на территории степной области Алтайского края весьма актуально в научном и практическом отношении как с эпизоотологической, так и эпидемиологической точки зрения.

**Цель** исследования – изучить инфицированность диких птиц вирусами гриппа, болезни Ньюкасла, инфекционной бурсальной болезни и инфекционного ларинготрахеита в степной области Алтайского края.

### Объекты и методы

Сыворотки крови от диких птиц для исследования на грипп (Г), болезнь Ньюкасла (БН), инфекционную бурсальную болезнь (ИББ) и инфекционный ларинготрахеит (ИЛТ) получали в Алтайской краевой ветеринарной лаборатории из 15 районов степной области Алтайского края: Волчихинский, Благовещенский, Угловский, Ключевской, Михайловский, Хабарский, Романовский, Мамонтовский, Завьяловский, Новичихинский, Рубцовский, Алейский, Кулундинский, Егорьевский, Славгородский. Исследовано 477 проб от 26 видов диких птиц перелётной (утка серая, чибис, чернеть, лысуха, чирок, кряква, шилохвость, нырок,

гоголь, широконоска, свиязь, пеганка, гусь серый, цапля, кулик, гагара, хохол, выпь, грач, чайка серебристая), кочующей (синица большая, дрозд рябинник) и осёдлой (ворона серая, голубь сизый, воробей домовый, сорока) групп [8 и др.]. При этом от птиц перелётной группы использовано 374, кочующей – 25 и осёдлой – 78 проб. На грипп, болезнь Ньюкасла и инфекционную бурсальную болезнь исследовано по 330, а на инфекционный ларинготрахеит – 147 проб.

Наличие специфических антител определяли конкурентным методом иммуноферментного анализа (ИФА) в разведении сывороток 1:50. Все положительные пробы далее исследовали непрямым методом ИФА в разведениях от 1:100 до 1:6400. Сыворотки крови на ИББ исследованы только в разведении 1:50 конкурентным методом ИФА. Анализ ассоциированного течения вирусных инфекций был проведён по результатам исследования 330 проб сыворотки крови от птиц перелётной, кочующей и осёдлой групп на грипп, болезнь Ньюкасла и инфекционную бурсальную болезнь.

Исследования сывороток проведены во Всероссийском НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии (г. Покров, Владимирская область).

### Результаты исследований

Специфические антитела к вирусу гриппа были обнаружены в 83 (25,2%) пробах (табл.). В группе перелётных птиц их количество составило 70 (30,8%) с титрами антител от 1:50 до 1:6400. Наиболее высоких значений (1:1600 – 1:6400) они достигали у утки серой и чернети, а с пробами 6 видов птиц (грач, свиязь, кулик, цапля, нырок, выпь) был получен отрицательный результат. В группе кочующих видов птиц антитела были обнаружены в 6 (24%) пробах только от синицы большой в титре 1:50 – 1:100. В группе осёдлых видов птиц антитела обнаружены в 7 (8,9%) пробах от вороны серой, голубя сизого и воробья домового с титром 1:50 – 1:100, а с пробами от сороки получен отрицательный результат.

Результаты обследования диких птиц на вирусные инфекции

Группа птиц	Исследовано проб	Результат исследования, положительные пробы/%			
		Г	БН	ИЛТ	ИББ
Оседлые	78	7/8,9	54/69,2	н.и.	24/30,8
Кочующие	25	6/24	9/36	н.и.	6/24
Перелётные	374	70/30,8	165/72,7	104/70,7	70/30,8
Итого	477	83/25,2	228/69,1	104/70,1	100/30,3

Примечание. Н.и. – не исследовано.

Специфические антитела к вирусу болезни Ньюкасла были обнаружены в 228 (69,1%) пробах. В группе перелётных видов птиц их количество составило 165 (72,7%) с титром антител от 1:50 до 1:6400. Наиболее высоких значений он достигал у чайки серебристой, гуся серого, грача, широконоски, лысухи, утки серой, чернети, шилохвостки и чирка, а в пробах от свиязи был получен отрицательный результат. В группе кочующих видов птиц антитела обнаружены в 9 (36%) пробах от синицы большой и дрозда рябинника в титрах 1:50-1:100. В группе осёдлых видов птиц антитела обнаружены в 54 (69,2%) пробах в титрах от 1:50 до 1:3200. При этом наиболее высокого значения он достигал у вороны серой и голубя сизого.

Специфические антитела к вирусу инфекционной бурсальной болезни были обнаружены в 100 (30,3%) пробах. В группе перелётных видов птиц их количество составило 70 (30,8%) проб, а в пробах у 6 видов (цапля, выпь, грач, свиязь, гоголь, нырок) антитела отсутствовали. В группе кочующих видов птиц антитела были обнаружены в 6 (24%) пробах от синицы большой и дрозда рябинника. В группе осёдлых видов птиц антитела были обнаружены в 24 (30,8%) пробах от голубя сизого, воробья домового и сороки, а у вороны серой они отсутствовали.

Специфические антитела к вирусу инфекционного ларинготрахеита обнаружены в 104 (70,7%) пробах от птиц перелётной группы. При этом наиболее высоких титров (до 1:3200-1:6400) они достигали у утки серой, чернети, лысухи, чирка и гуся серого, а от чибиса проба была отрицательной.

В 110 (33,3%) пробах сыворотки крови установлены специфические антитела к 2 и более возбудителям вирусных инфекций. При этом антитела к вирусам гриппа, болезни Ньюкасла и инфекционной бурсальной болезни обнаружены в 24 (21,8%) пробах от 8 видов птиц только перелётной группы. К вирусам гриппа и болезни Ньюкасла они были в 27 (24,5%) пробах от птиц 9 видов только перелётной группы. К виру-

сам гриппа и инфекционной бурсальной болезни антитела выявлены в 5 (4,5%) пробах от птиц 4 видов перелётной и 1 – кочующей групп. К вирусам болезни Ньюкасла и инфекционной бурсальной болезни антитела установлены в 54 (49%) пробах от птиц 10 видов перелётной, 1 – кочующей и 3 – осёдлой групп.

Наиболее высокий уровень инфицированности вирусом гриппа установлен у птиц в Егорьевском, Угловском, Рубцовском, Михайловском и Волчихинском районах, вирусом болезни Ньюкасла – Михайловском, Угловском и Рубцовском районах, вирусом инфекционной бурсальной болезни – Егорьевском, Михайловском и Романовском районах, а вирусом инфекционного ларинготрахеита – Волчихинском, Ключевском, Хабаровском и Завьяловском районах.

#### Выводы

У диких птиц степной области Алтайского края при серологическом исследовании сывороток крови обнаружены антитела к вирусам гриппа (25,2%), болезни Ньюкасла (69,1%), инфекционной бурсальной болезни (30,3%) и инфекционного ларинготрахеита (70,7%). В 110 (33,3%) пробах сыворотки крови установлены специфические антитела к 2 и более возбудителям вирусных инфекций. Наиболее высокий уровень инфицированности вирусами гриппа установлен у птиц в Егорьевском, Угловском, Рубцовском, Михайловском и Волчихинском, болезни Ньюкасла – Михайловском, Угловском и Рубцовском, инфекционной бурсальной болезни – Егорьевском, Михайловском и Романовском и инфекционного ларинготрахеита – Волчихинском, Ключевском, Хабаровском и Завьяловском районах.

#### Библиографический список

1. Агольцов В.А. Кандидоз, аспергиллез и мукороз животных (диагностика и меры борьбы): автореф. дис. ... докт. вет. наук. – Н. Новгород, 2006. – С. 12.
2. Багряцова А.Л. Микробиологический мониторинг синантропных птиц в г. Улан-

Удэ и п. Майск Курумканского района Республики Бурятия: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Барнаул, 2005. – 18 с.

3. Барышников П.И., Бондарев А.Ю., Новиков Б.В. Инфекционные болезни диких птиц в лесостепной области Алтайского края // Ветеринария. – 2012. – № 6. – С. 28-31.

4. Белоусова Р.В., Сюрин В.Н. Роль перелетных птиц в распространении вирусов в природе: лекция. – М., 1977. – 53 с.

5. Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Грошева Г.А. Лабораторная диагностика болезней птиц: справочник. – М.: Агропромиздат, 1989. – 256 с.

6. Vellegas P. Viral diseases of the respiratory system // Poultry Science. – 1998. – Vol. 77 (8). – R. 1143-1145.

7. Львов Д.К., Ильичев В.Д. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекций. – М.: Наука, 1979. – 271 с.

8. Яхонтов А.А. Зоология для учителя. Хордовые / под ред. А.В. Михеева. – М.: Просвещение, 1985. – 256 с.

#### References

1. Agoltsov V.A. Kandidoz, aspergillez i mukoroz zhivotnykh (diagnostika i mery

bor'by): avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk. – N. Novgorod, 2006. – S. 12.

2. Bagryatsova A.L. Mikrobiologicheskiy monitoring sinantropnykh ptits v g. Ulan-Ude i p. Maysk Kurumkansogo rayona Respubliki Buryatiya: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk. – Barnaul, 2005. – 18 s.

3. Baryshnikov P.I., Bondarev A.Yu., Novikov B.V. Infektsionnye bolezni dikikh ptits v lesostepnoy oblasti Altayskogo kraya // Veterinariya. – 2012. – № 6. – S. 28-31.

4. Belousova R.V., Syurin V.N. Rol pereletnykh ptits v rasprostranении virusov v prirode: lektsiya. – M., 1977. – 53 s.

5. Korovin R.N., Zelenskiy V.P., Grosheva G.A. Laboratornaya diagnostika bolezney ptits: spravochnik. – M.: Agropromizdat, 1989. – 256 s.

6. Vellegas P. Viral diseases of the respiratory system // Poultry Science. – 1998. – Vol. 77 (8). – R. 1143-1145.

7. Lvov D.K., Il'ichev V.D. Migratsii ptits i perenos vozbuditeley infektsiy. – M.: Nauka, 1979. – 271 s.

8. Yakhontov A.A. Zoologiya dlya uchitelya. Khordovye / pod red. A.V. Mi-kheeva. – M.: Prosveshchenie, 1985. – 256 s.



УДК 619:578.835.1

А.И. Боронбаева, Р.З. Нургазиев, Е.Д. Крутская  
A.I. Boronbayeva, R.Z. Nurgaziyev, Ye.D. Krutskaya

### ОПТИМИЗАЦИЯ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА ЯЩУРА ТИПА О

### REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION OPTIMIZATION TO DETERMINE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS OF TYPE O

**Ключевые слова:** вирус ящура, ПЦР, ПЦР в реальном времени, праймер, типизация.

На начальной стадии экспериментов по оптимизации ПЦР в реальном времени исполнителями для каждого типа вируса ящура подбирались и оптимизировались праймеры. Анализировались продукты амплификации ПЦР. Установлено, что в исследованных пробах из двух предполагаемых типов вируса (О, А) присутствовал только тип О. Для усиления специфичности ПЦР в классическом варианте была обработана концепция повышения ее специфичности и проверена экспериментально. Усовершенствованная ПЦР в реальном времени проявила высокую чувствительность, специфичность и воспроизводимость. Сконструированные праймеры рекомендованы для диагностики ящура, вызванного вирусом типов А и О.

**Keywords:** foot-and-mouth disease virus, polymerase chain reaction (PCR), real-time PCR, primer, type assignment.

At the initial stage of the experiments on real-time PCR optimization, the primers for each type of foot-and-mouth disease virus were selected and optimized. PCR amplification products were analyzed. It was found that in the tested samples of two suspected virus types (O, A) the type O only was present. To enhance the specificity of PCR in the classic version, the concept of increasing its specificity was processed and verified experimentally. Improved real-time PCR showed high sensitivity, specificity and reproducibility. The designed primers are recommended for the diagnosis of foot-and-mouth disease caused by virus types A and O.