

Оцінка ризику антимікробних препаратів щодо розвитку антибіотикорезистентності потребує конкретних професійно-технічних навичок від менеджерів та оцінювачів ризику за допомогою МЕБ та країн-членів ЄС державам, які прагнуть вступити до Європейського співтовариства. Оцінка ризику повинна виконуватися командою висококваліфікованих спеціалістів і проводитися у постійній широкій консультації менеджерів та оцінювачів ризику із науковими установами та державними виконавчими структурами ветеринарної та гуманної медицини.

Список літератури

1. Ковалець Магдалена. Антибіотики – бомба уповільненої дії // Лабораторна діагностика. – 2002. – № 3. – С. 29-31.
2. Tollefson L., Altekruze S.F., Potter M. E. Therapeutic antibiotics in animal feeds and antibiotic resistance // Rev. Sci. Tech. – 1997. – Vol. 16. – P. 709-715.
3. Закон України "Про ветеринарну медицину".
4. Vose, et al. Antimicrobial resistance: risk analysis methodology for the potential impact on public health of antimicrobial resistant bacteria of animal origin. In: Review of Science and Technology. – Vol. 20(3), – P.811-827. Office of International Epizootics. Paris, 2001.
5. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health, Commission on Life Sciences, and National Research Council. 1983. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. National Academy Press, Washington, D.C.
6. National Academy of Sciences Committee on Drug Use in Food Animals // The use of drugs in food of animals: Benefits and risks. National Academy Press, Washington D.C.
7. Сидоренко С.В. Происхождение, эволюция и клиническое значение антибиотикорезистентности // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – Т 44. – № 12. – С. 19- 22.
8. United States Department of Agriculture, Economic Research Service, Food Consumption Data.
9. United States Department of Agriculture (USDA), Food Safety and Inspection Service (FSIS), Progress Report on *Salmonella* Testing of Raw Meat and Poultry Products, 1998-2001.
10. Tran J.H., Jacoby G.A. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance // Proc. Nat. Acad. Sci., – 2002. – Vol. 99. – P. 5638-5642. 11. Brunder W., Karch H. Genome plasticity in Enterobacteriaceae // Int. J. Med. Microbiol. – 2000. – Vol. 290. – P. 153-165.
11. Madsen L., Aarestrup F.M., Olsen J.E. Characterisation of streptomycin resistance determinants in Danish isolates of *Salmonella typhimurium* // Veter.Microbiol. – 2000. – Vol.75, – № 1. – P. 73-82.
12. Willson P.J. Haemophilus, Actinobacillus, Pasteurella: Meehanisms of resistance and antibiotic therapy // Canad. J. veter. Res. – 1990. – Т. 54. – P. 73-77.
13. Guidance for Industry Evaluating the Safety of Antimicrobial New Animal Drugs with Regard to Their Microbiological Effects on Bacteria of Human Health Concern. DRAFT GUIDANCE. – U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine September. – 6, 2002.

ANTIBIOTIC RESISTANCE AS RISK ASSESSMENT COMPONENT FOR HUMAN

Muzyka V.P.

State scientific research control institute of veterinary medicinal products and feed additives, Lviv

Taking into account the strategic direction of Ukraine towards the association with European Union the implementation of norms and standards of new antimicrobial medicinal product registration is very important. It gives an opportunity to qualitatively classify antimicrobial medicinal product for animals due to its impossible potential influence on the development of antibiotic resistance in humans. The article presents the data about risk assessment and factors that can negatively influence the consumers' health manufactured products from such animals.

Keywords: antibioticresistantce, risk assessment.

УДК 636.09:579.882:598.265(477)

ВИЯВЛЕННЯ CHLAMYDIA AVIUM У СИНАНТРОПНИХ ГОЛУБІВ УКРАЇНИ

Романишина Ю.Р., Скрипник В.Г.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,
м. Київ, e-mail: yuliaromanyshyna@gmail.com

Скрипник А.В.

Блек енд Вітч Спешіал Проджектс корп., м. Київ

У статті наведено результати дослідження превалентності орнітозу серед синантропних голубів міст Києва та Білої Церкви (Київської області) методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Визначено, що 11,1 % птахів є переносниками Chlamydia psittaci та 4,6 % - Chlamydia avium. Стверджується, що обидва патогени спричиняють безсимптомне хламідієносійство у 17,1 %, при цьому C. psittaci зустрічається у 12,4% та C. avium у 4,7% клінічно здорових птахів

Ключові слова: полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі, хламідіоз, синантропні голуби, Chlamydia avium, Chlamydia psittaci.

Голуб сизий (*Columba livia*) – поширений на деяких континентах птах, що походить від одомашненого дикого скелястого голуба, який з часом знову здичавів і повернувся у напівсвійську

(синантропну) форму. Голуба сизого часто можна побачити у містах біля житла людей та у паркових зонах. На відміну від своїх диких родичів синантропні голуби збираються у великі зграї, особливо на смітниках. Ці птахи часто асоціюються із розповсюдженням небезпечних для людей захворювань, у тому числі і орнітозу (псіттакозу або хламідіозу птахів), який пов'язують із внутрішньоклітинним паразитом родини *Chlamydiaceae Chlamydia psittaci* (раніше відомий як *Chlamydophila psittaci*) [1]. У 1941 році Меуер вперше описав два випадки зарження людини від синантропних голубів. Інфікування людини зазвичай відбувається через безпосередній контакт або аерогенно, у тому числі через вдихання інфікованого пилу. Певну роль у поширенні орнітозу серед птахів відіграють кровосисні ектопаразити, що, можливо, являються механічними переносниками хламідій. Збудник, потрапляючи до сприйнятливого організму, викликає порушення діяльності органів дихання та шлунково-кишкового тракту. У людей орнітоз може перебігати безсимптомно або ж із розвитком системних захворювань та пневмонії; характерними ознаками псіттакозу є гарячка, головний біль, міалгія, непродуктивний кашель та утруднене дихання [2].

На сьогоднішній день *C. psittaci* була виявлена більш як у 465 видів птахів [3]. За результатами досліджень протягом 1966–2005 років в 11 європейських країнах серопозитивними виявлялись 19,4–95,6 % голубів [4]. Спроби культивування збудника у культурі клітин були вдалимими у 2–42,3 %, а у курячих ембріонах – від 0 до 57,1 % випадків. За досліджень методами ПЛР та ПЛР у реальному часі *C. psittaci* було виявлено у 3,4–50 % зразків біологічного матеріалу голубів [5, 6]. Разом з тим у птахів вдавалось виявити й інші види хламідій: *C. abortus*, *C. pecorum* та *C. trachomatis* [7, 8]. Наукові публікації останніх років свідчать про циркуляцію серед птахів атипичних штамів хламідій, деякі з яких за результатами молекулярно-генетичних досліджень відокремлено у самостійні види [9].

Мета роботи. Вивчити превалентність та видовий склад хламідій, що циркулюють серед синантропних голубів міст Києва та Білої Церкви (Київська область) шляхом виявлення ДНК збудників у біологічному матеріалі методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі.

Матеріали та методи. Протягом 2012–2013 років було відібрано біологічний матеріал (клоакальні, кон'юнктивальні та назофарингіальні зішкрібки) від 135 голубів міст Києва та Білої Церкви. Матеріал відбирався за допомогою одноразових стерильних зондів-тампонів або цитологічних щіток і поміщався у пробірки типу «Eppendorf» із 1 мл ізотонічного розчину NaCl. До моменту дослідження проби зберігались за температури -80 °C [10].

Експериментальна частина була проведена у Національній референс-лабораторії Німеччини та Референс-лабораторії МEB з хламідіозу, Федеральний дослідний інститут ім. Фрідріха Лефлера (FLI, Єна, Німеччина), на базі якого функціонує Національна референс-лабораторія. Усі етапи досліджень були проведені згідно протоколів, що затверджені у Референс-лабораторії МEB.

Виділення геномної ДНК. Для виділення ДНК використовували комерційний набір High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostics відповідно до настанови по застосуванню.

ПЛР у реальному часі. На першому етапі всі зразки відібраного матеріалу досліджували на наявність збудника родини *Chlamydiaceae* у полімеразній ланцюговій реакції у реальному часі [10]. З цією метою використовували TaqMan Universal MasterMix (Applied Biosystems, Weiterstadt) і праймери і зонд специфічні ділянці гену 23S рибосомальної РНК [11]. На другому етапі всі позитивні зразки досліджували на наявність ДНК *C. psittaci* (праймери та зонд підібрані до ділянки *ompA* гену) [12], *C. avium* (*enoA* гену) [13] та *C. gallinacea* (16S гену) [14].

Результати досліджень. У результаті дослідження проб від 135 голубів ДНК хламідій було виявлено у 21 клінічному зразку, що становить 15,6 % від загальної кількості досліджених проб. Ці дані корелюють із дослідженнями європейських вчених [5, 6]. При подальшій видовій ідентифікації хламідій було виявлено, що 15 птахів (11,1 % від числа усіх досліджених голубів) були інфіковані *C. psittaci*, 6 (4,5 %) - *C. avium* та жодного випадку інфікування *C. gallinacea* (рис. 1).

Поряд з тим, раніше нами було встановлено, що 17,1 % усіх клінічно здорових голубів виявляються носіями збудника, що вказує на частий латентний перебіг інфекції [15].

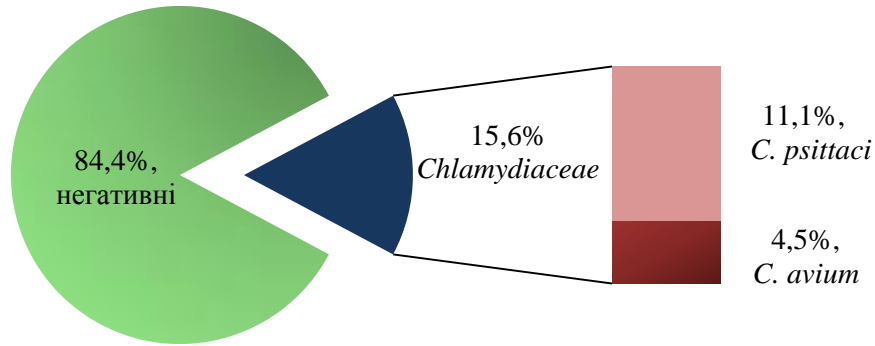


Рис. 1. Превалентність хламідіозу серед синантропних голубів міст Києва та Білої Церкви (Київська обл.)

Проведені нами дослідження свідчать, що 13 птахів із 105 клінічно здорових голубів (12,4 %) інфіковано *C. psittaci*, 5 (4,7 %) – *C. avium* (табл. 1). Отже, обидва збудники можуть спричиняти безсимптомне носійство серед синантропних голубів.

Таблиця 1 – Результати лабораторного (ПЛР у реальному часі) дослідження клінічно здорових синантропних голубів міст Києва та Білої Церкви (Київська обл.)

Група тварин	Кількість тварин у групі	Ідентифіковано ДНК збудника				Всього інфіковано тварин	
		<i>C. psittaci</i>		<i>C. avium</i>		Гол.	%
	Гол.	%	Гол.	%			
Клінічно здорові тварини	105	13	12,4	5	4,7	18	17,1

Також встановлено той факт, що в розрізі структури хламідіозів синантропних голубів у містах Києві та Білій Церкві, частка *C. psittaci* становить 71,4 %, у той час як частка *C. avium* складає 28,6 % (рис. 2).

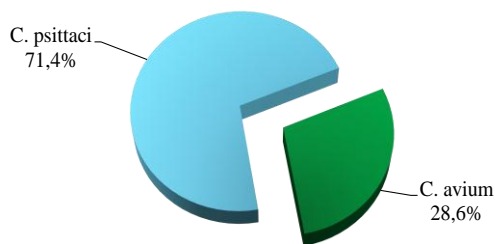


Рис. 2. Структура хламідіозів серед синантропних голубів міст Києва та Біла Церква (Київська обл.)

Висновки. 1. Уперше на території України виявлено збудника хламідіозу птиці виду *C. avium*.

2. Превалентність хламідіозів у синантропних голубів міст Києва та Білої Церкви (Київська обл.) становить 15,6 %. При цьому 4,5 % голубів являються носіями *C. avium*, 11,1 % голубів цих міст є переносниками *C. psittaci*

3. У структурі хламідіозів напівсвійських голубів 71,4 % займає *C. psittaci*, 28,6 % – *C. avium*.

4. Встановлено, що клінічно здорові голуби можуть бути носіями як *C. psittaci* (12,4 %), так і *C. avium* (4,7 %).

З огляду на отримані результати доцільним вбачається подальше вивчення виду *C. avium*, зокрема патогенності збудника для птахів і ссавців, оскільки питання на даний час залишається нез'ясованим.

Список літератури

1. Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved / R. Stephens, G. Myers, M. Eppinger, P. Bavoil // *FEBS Immunology and Medical Microbiology* - 2009. – Vol. 55. – P. 115 – 119.
2. H Beeckman D. Zoonotic Chlamydomphila psittaci infections from a clinical perspective / D. Beeckman, D. Vanrompay // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2009. – Vol. 15(1). – P. 11 - 17.
3. Kaleta E.F. Avian host range of Chlamydomphila spp. based on isolation, antigen detection and serology / E.F Kaleta., E.M. Taday // *Avian Pathology*. – 2003. – Vol.32(5). - P. 435 - 461.
4. Harkinezhad T. Chlamydomphila psittaci infections in birds: A review with emphasis on zoonotic consequences / T. Harkinezhad, T. Geens, D. Vanrompay // *Veterinary Microbiology*. - 2009 - Vol. 135 – P. 68 - 77.
5. Chlamydomphal infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications / S. Magnino, D. Haag-Wackernagel, I. Geigenfeind, S. Helmecke, A. Dovc, E. Prukner-Radovcić, E. Residbegović, V. Ilijeski, K. Laroucau, M. Donati, S. Martinov, E. Kaleta // *Veterinary Microbiology*. – 2009. – Vol. 135(1-2). – P. 54 – 67.
6. Prevalence of Chlamydomphila psittaci in Fecal Droppings from Feral Pigeons in Amsterdam, The Netherlands / E. R. Hedema, S. ter Sluis, J. A. Buys, C. M. Vandebroucke-Grauls, J. H. van Wijnen, and C. E. Visser // *Applied And Environmental Microbiology*. – 2006. – Vol. 72(6). – P. 4423 - 4425.
7. More than classical Chlamydia psittaci in urban pigeons / K. Sachse, S. Kuehlewind, A. Ruettinger, E. Schubert, G. Rohde // *Veterinary Microbiology*. – 2012. – Vol. 157 (3-4). – P. 476 - 480.
8. Ксьонз І. М. Епідеміологічний моніторинг хламідійної інфекції тварин і птахів у різних регіонах України / І. М. Ксьонз // *Наук. Вісник НУБіПУ*. – 2012. - Випуск 172, Част. 2, Сер. «Вет. медицина, якість і безпека продукції тваринництва». – С. 77 - 83.
9. Chlamydien im Rinderbestand – ein Wolf im Schafspelz? / P. Reinhold, B. Kaltenboeck, C. Ostermann, K. Sachse // *Tierärztl. Umschau*. – 2013. – Vol. 68. – 515 - 527.
10. Романишина Ю. Р. Способи відбору зразків для дослідження хламідіозу птахів / Ю. Р. Романишина, В. Г. Скрипник, А. В. Скрипник // *Наукові пошуки молоді у III тисячолітті «Сучасні проблеми ветеринарної медицини» : тези доповідей міжнародної наук.-практ. конф. вчених, аспірантів та докторантів, 16–17 травня 2013 р., м. Біла Церква*. – Біла Церква, 2013. – С. 9-10.
11. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies / R. Ehrlich, P. Slickers, S. Goellner, H. Hotzel, K. Sachse // *Molecular and Cellular Probes*. – 2006. - Vol. 20(1). – P. 60-63.
12. New real-time PCR tests for species-specific detection of Chlamydomphila psittaci and Chlamydomphila abortus from tissue samples / A. Pantchev, R. Sting, R. Bauerfeind, J. Tyczka, K. Sachse // *The Veterinary Journal*. - .2009. – Vol. 181(2) – P. 145-150.
13. A Real-Time PCR Assay for the Detection of Atypical Strains of Chlamydiaceae from Pigeons / A. Zocevic, F. Vorimore, N. Vicari, J. Gasparini, L. Jacquin, K. Sachse, S. Magnino, K. Laroucau // *PLOS One*. – 2013. - Vol. 8(3). – P. 1-5.
14. Molecular characterization of atypical Chlamydia and evidence of their dissemination in different European and Asian chicken flocks by specific real-time PCR / A. Zocevic, F. Vorimore, C. Marhold, D. Horvatek, D. Wang, B. Slavec, Z. Prentza, G. Stavrianis, E. Prukner-Radovcić, A. Dovc, V. Siarkou, K. Laroucau. // *Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol. 14(8). – P. 2212-2222.
15. Романишина Ю. Р. Використання полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі як елементу епізоотологічного моніторингу хламідіозу птахів / Ю. Р. Романишина // *Ветеринарна біотехнологія: бюлетень* – К. : Дорадо-Друк, 2014. - № 24. – С. 228-235.

DETECTION OF CHLAMYDIA AVIUM IN FERAL PIGEONS IN UKRAINE

Romanyshyna Yu. R., Skrynyk V.G.,

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv

Skrynyk A.V.

Black and Veatch Special Projects Corp., Kyiv

The purpose of this work was to study the biodiversity of chlamydia in feral pigeons in Kiev and Bila Tserkva by means of real-time polymerase chain reaction assay.

Materials and methods. Cloacal, conjunctival, and nasopharyngeal swabs were collected from 135 pigeons in cities of Kiev and Bila Tserkva (Kiev region). A commercial High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Germany) was used for DNA extraction. For real-time PCR TaqMan Universal MasterMix (Applied Biosystems, Weiterstadt) as well as primers and probes designed for segments of 23S, 16S and enoA genes described by Ehrlich et al. (2006) and Zocevic et al. (2012, 2013) were used.

Results. The Chlamydia DNA was found in 21 out of 135 clinical samples from pigeons, which constitutes 15,6% of all samples tested. Fifteen birds (11,1 % of the total number of pigeons tested) were infected with C. psittaci, and 6 (4,5%) were infected with C. avium. Thus, of the total number of birds in which the Chlamydia DNA was detected 71,4% were found to be carriers of C. psittaci and 28,6% – of C. avium. Thirteen of 105 clinically healthy pigeons (12,4%) were found to be infected with C. psittaci and 5 (4,7%) – with C. avium.

Conclusions. 1. The pathogenic Chlamydia species C. avium was detected on the territory of Ukraine, and 4,5% of feral pigeons of Kiev and Bila Tserkva (Kiev region) were determined to be the carriers of this pathogen. This study also showed that 11,1% of pigeons are C. psittaci carriers.

2. C. psittaci and C. avium constitute 71,4% and 28,6% respectively in the structure of chlamydiosis in feral pigeons.

3. Clinically healthy pigeons can be carriers of both C. psittaci (12,4%) and C. avium (4,7%).

Keywords: real-time polymerase chain reaction, chlamydiosis, feral pigeons, Chlamydia avium, Chlamydia psittaci.