

*Faculty of veterinary medicine Belgrade, University of Belgrade
Department for infectious diseases of animals and bee diseases FVM
Section of zoonoses Serbian Veterinary Association
Veterinary Institute `Niš` Niš
Association of epizootiologists and epidemiologists of Serbia*

**THIRD INTERNATIONAL
EPIZOOTIOLOGY DAYS
&
XV SERBIAN EPIZOOTIOLOGY DAYS

PROCEEDINGS**



*Hotel Radon , Niška spa
8.-11. May 2013.*

*Faculty of veterinary medicine Belgrade, University of Belgrade
Department for infectious diseases of animals and bee diseases FVM
Section of zoonoses Serbian Veterinary Association
Veterinary Institute Niš Niš
Association of epizootiologists and epidemiologists of Serbia*

**THIRD INTERNATIONAL
EPIZOOTIOLOGY DAYS
&
XV SERBIAN EPIZOOTIOLOGY DAYS**

PROCEEDINGS



Niska banja, Serbia, hotel ~RADON~, May 8.-11st, 2013.

ISBN: 978-86-81043-68-4

Publisher / Издавач

***Faculty of veterinary medicine Belgrade, University of Belgrade
Department for infectious diseases of animals and bee diseases FVM***

For the publisher / За издавача

Prof. dr Vlado Teodorović

Editor in Chief / Главни и одговорни уредник

dr Tamaš Petrović, viši naučni saradnik

Review / Рецензија

**Dr Tadej Malovrh, Institute of Microbiology and Parasitology, Veterinary
Faculty, University of Ljubljana, Slovenia**

**Prof dr Almedina Zuko, Veterinary faculty Sarajevo, Zmaja od Bosne 90,
Sarajevo, Bosnia and Herzegovina**

Technical Editor / Технички уредник

Prof dr Bosiljka Đuričić

Print / Штампа

Научна КМД

Тираж 200 примерака

Organizer / Организатор

Катедра за заразне болести животиња и болести пчела ФВМ, Београд
Секција за зоонозе СВД
ВСИ `Ниш` Ниш
Удружење епизоотиолога и епидемиолога Србије

Sponsor / Покровитељ:

Министарство за пољопривреду, шумарство и водопривреду Р.Србије - Управа за ветерину

Sponsor / Спонзор VETERINARSKI ZAVOD SUBOTICA a.d.
Ćlanica VICTORIA GROUP

Donator EKOSAN

Суорганизатори:

Регионални одбори ВКС за Нишки, Пиротски, Пчињски, Јабланички и Топлички округ

Organizational Committee

Председник/President: Проф. др Босилка Ђуричић

Потпредседник/Vice president: Др сц Милош Петровић
Проф др сц Новица Стајковић

Секретару/ Secretaries: др вет. мед. Ана Самоковлија
др вет.мед. Марија Манић

Секретаријум/Secretariate: Анђелковић Радивоје, Бабић Милорад, Видић Бранка, Валчић Мирослав, Вељковић Предраг, Влаховић Мира, Вукелић Оливера, Гргић Бојана, Дакић Зорица, Дачић Миролуб, Дебељак Зоран, Ђорђевић Игор, Ђуковић Вера, Живојиновић Милена, Живуљ Александар, Зуко Алмедина, Илић Хранислав, Игњатовић Радисав, Јакић Димић Добрила, Јанку Ђорђе, Јовановић Веселин, Јовановић Ненад, Катић -Радивојевић Софија, Лако Бранислав, Лаушевић Дејан, Љубић Божидар, Максимовић Слободан, Марић Јелена, Марковић Драгутин, Маринковић Зоран, Марушић Предраг, Масловарић Предраг, Медић Снежана, Милковић Миодраг, Митровић Новалина, Молнар Тибор, Недић Драго, Нешковић Милијана, Новаковић Зорица, Парлић Милан, Плавша Нада, Раденковић Дамњановић Брана, Радојичић Драгана, Раичевић Зоран, Рељић Мирјана, Рогожарски Драган, Самарцић Света, Сантрач Виолета, Сарић Милорад, Станков Срђан, Стокић-Николић Славонка, Стошић Оливер, Теодоровић Владо, Тиодоровић Бранислав, Томић Александар, Узелац Силва, Чеканац Радован, Шегуљев Зорица

Scientific Committee/Naučni odbor: Тамаш Петровић (председник), Никола Кнежевић, Стајковић Новица, Глигић Ана, Босилка Ђуричић, Иван Павловић, Радивојевић Снежана, Величковић Зоран, Миланко Шеклер

Honoryfic Committee./Počasni odbor: Белев Никола, Бобош Станко, Томашић Армин, Кранчић- Зец Ивана, Pugliese Antonio, Павловић Радован, Стојковић Миодраг

International Scientific Committee: Norbert Nowotny (Austria), Nedelcho Nedelchev, Georgi Georgiev, Iliа Tsachev, (Bulgaria), Carlo Valente, Vincenzo Cuteri (Italy), Davor Ojkić (Canada), Drago Nedić, Almedina Zuko (Bosnia and Herzegovina), Tadej Malovrh, Peter Hostnik (Slovenia), Vladimir Zlobin, Nikolaj Rudakov (Russia), Dejan Laušević (Montenegro), Jovan Bošnjakovski, Dine Mitrov (Macedonia), Željko Cvetnić, Vladimir Savić (Croatia), Doina Danes, Marina Spidou (Romania), Evanthia Petridou, Spiridon Kritas, Katerina Loukaki (Greece) Juan Carlos Saiz (Spain)

SEROLOGIC SURVEY OF WILD BIRDS IN SERBIA FOR THE PRESENCE OF WEST NILE VIRUS (WNV) INFECTION

Petrović T., Blázquez Ana-Belén, Lupulović Diana, Lazić Gospava, Fabijan D., Kapetanov M., Escribano-Romero Estela, Lazić S., Saiz Juan-Carlos

Abstract

West Nile virus (WNV) is a neurovirulent mosquito-transmissible *Flavivirus* with zoonotic potential, which is maintained in nature in an enzootic transmission cycle between avian hosts and ornithophilic mosquito vectors, although the virus occasionally infects other vertebrates, including humans and horses, in which it may cause sporadic disease outbreaks that may result fatal. WNV was first isolated in the Uganda (West Nile district) in 1937 and today is considered, after Denga virus, as second most widespread flavivirus in the world. In Europe the virus has been present for decades but, recently, the number, frequency and severity of outbreaks with neurological consequences for birds, humans and horses have increased dramatically throughout central and south Europe, constituting a serious veterinary and public health problem.

To evaluate the presence of WNV in Serbia, presence of specific anti-WNV antibodies has been examined in 92 blood sera from 30 migratory and resident wild bird species collected during 2012 in Vojvodina. Samples were collected from living-captured wild birds (some of them during bird-ringing activities), wild birds that died in a rehabilitation centre or from those found dead and sent to the centre. The presence of anti-WNV IgG antibodies was assayed by a validated ELISA based on WNV recombinant envelope E (rE) protein. All blood sera samples that tested positive by ELISA and a representative number of negative samples were assayed for the presence of anti-WNV specific neutralizing antibodies by Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT₉₀) on Vero cell cultures.

Out of 92 examined wild birds sera samples tested, WNV antibodies were detected by ELISA in 7 (7.6%) sera samples: 4 from Mute swans (*Cygnus olor*), 2 from a White-tailed eagle (*Haliaeetus albicillas*), and 1 from a Common pheasant (*Phasianus colchicus*). Five of them neutralized WNV in cell culture with low PRNT₉₀ values ranging from 22 to 58, except the White-tailed eagle with the highest P/N value (11.2) that had a PRNT₉₀ >160. None of ELISA positive blood sera samples neutralized Usutu virus (USUV) as another flavivirus confirmed in Europe. Obtained results confirm the circulation of WNV in wild birds in Serbia and remark the risk of infection for humans and horses, thus, pointing to the need of WNV surveillance programs implementation in Serbia.

** This study was supported by grant TR31084 from Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development*

Key words: West Nile virus, wild birds, ELISA serology, PRNT₉₀ neutralization, Serbia

Dr Tamas Petrović, dr Diana Lupulović, dr Milos Kapetanov, dr Sava Lazić, Lazić Gospava Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Serbia Fabijan D., Bird Protection and Study Society of Serbia, Novi Sad, Serbia ; Blázquez Ana-Belén., Escribano-Romero Estela, Saiz Juan-Carlos Department of Biotechnology, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid, Spain

СЕРОЛОШКА ИСТРАЖИВАЊА ПРИСУСТВА ИНФЕКЦИЈЕ ВИРУСОМ ЗАПАДНОГ НИЛА КОД ДИВЉИХ ПТИЦА У СРБИЈИ*

Петровић Т.¹, Blázquez Ana-Belén², Лупуловић Диана¹, Лазуић Госпава¹, Фабијан Д.³, Капетанов М.¹, Escribano-Romero Estela², Лазуић С.¹, Saiz Juan-Carlos²

Kratak sadržaj

Вирус Грознице западног нила (*WNV*) је неуровирулентан, комарцима преносиви Флавивирус зоонозног потенцијала, који се одржава у природи и ензоотски преноси између птица као домаћина и орнитофилних комараца као вектора. Такође, вирус повремено инфицира и друге кичмењаке, укључујући ту и човека и коње, код којих може изазвати обољење које некад може завршити смртним исходом. *WNV* је први пут изолован у Уганди (Вест Ниле округ) 1937. године, а данас се, након Денга вируса, сматра другим најраспрострањенијим флавивирусом у свету. У Европи је овај вирус присутан већ деценијама, али се недавно, број, учесталост и озбиљност епидемија са неуролошким последицама за птице, људе и коње драматично повећао у централној и јужној Европи, представљајући озбиљан проблем у ветеринарском и јавном здрављу.

У циљу утврђивања присуства *WNV* у Србији, испитано је присуство специфичних антитела против *WNV* код 92 крвна серума пореклом од 30 миграторних и немиграторних врста дивљих птица прикупљених током 2012. године на подручју Војводине. Узорци су прикупљени од живих-заробљених дивљих птица (неке од њих током поступка прстеновања), дивљих птица које су угинуле у рехабилитационом центру или од оних које су пронађене угинуле и послате у центар. Присуство анти-*WNV IgG* антитела је испитивано валидованим ЕЛИСА тестом базираном на рекомбинантном Е (*rE*) протеину омотача вируса. Сви узорци крвних серума који су дали позитивну реакцију у ЕЛИСА тесту, као и један број узорака са негативним налазом, су испитани и на присуство вирус специфичних неутрализационих антитела помоћу неутрализационог теста редукције плакова (*PRNT₉₀*) на култури *Vero* ћелија.

Од 92 испитана узорка крвних серума дивљих птица, присуство анти-*WNV IgG* антитела је утврђено ЕЛИСА тестом код (7,6%) узорака: 4 узорка серума лабудова (*Cygnus olor*), 2 узорка орла белорепана (*Haliaeetus albicillas*), и 1 узорка фазана

(*Phasianus colchicus*). Пет од ових узорака су неутралисала вирус западног нила на култури ћелија у ниском $PRNT_{90}$ титру који се кретао од 22 до 58, осим једног узорка орла белорепана, који је дао и највећи П/Н однос (11.2) у ЕЛИСА тесту, код кога је утврђен титар антитела преко 160 ($PRNT_{90} > 160$). Ниједан од ЕЛИСА позитивних узорака серума није неутралисао Усуту вирус (*USUV*) као други флавиовирус чије је присуство потврђено у Европи.

Добијени резултати потврђују циркулацију вируса западног нила код дивљих птица у Србији указујући на ризик од инфекције за људе и коње, као и на потребу спровођења имплементације програма надзора ове вирусне инфекције у Србији.

**Раd је реализован по пројекту TP31084 финансираном од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије*

Кључне речи: вирус западног нила, дивље птице, ЕЛИСА серологија, $PRNT_{90}$ неутрализација, Србија

Др Тамаш Петровић, др Диана Лупуловић, Госпава Лазић, др Милош Капетанов, др Сава Лазић Научни институт за ветеринарство "Нови Сад", Нови Сад, Србија; Фабијан Д. Удружење за заштиту и проучавање птица Србије, Нови Сад, Србија; Blázquez Ana-Belén, Escribano-Romero Estela Saiz Juan-Carlos, Департман за Биотехнологију, Национални институт за истраживања у пољопривреди и храни (ИНИА), Мадрид, Шпанија