

**ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ІМУНОПРОФІЛАКТИКИ  
ЦИРКОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У СВИНЕЙ****\*Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара (м. Дніпропетровськ)****\*\*Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю****агропромислового комплексу Дніпропетровського державного аграрного університету  
(м. Дніпропетровськ)****zizoma@i.ua**

Роботу було виконано у межах держбюджетної теми №1-294-15, що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара, № державної реєстрації 0115U002385.

**Вступ.** Перші відомості про патогенний цирковірус свиней з'явилися в 1991 р., коли в Канаді було виявлено нове захворювання – синдром мультисистемного виснаження от'ємишів (СМВО). У поросят 6-14-тижневого віку спостерігали виснаження, задишку, діарею, жовтушність шкіри. Отримані згодом дані дозволили охарактеризувати новий вірус, як цирковірус свиней 2-го типу. Вивчення ролі цирковірусів (ЦВС) в інфекційній патології свиней, свідчить про участь ЦВС-2 у патогенезі таких захворювань, як СМВО, дерматит і синдромом нефропатії (ДСНП). До цього списку також відносять конгенітальний (вроджений) тремор, некротизуючі і проліферативні плевропневмонії, ексудативні епідерміти та ентерити. Існують припущення про здатність ЦВС-2 викликати порушення репродуктивних функцій у свиноматок [5,8].

Виникненню даного комплексу захворювань сприяє розвиток змішаних інфекцій ЦВС-2 з іншими патогенами вірусної та бактеріальної природи [3,5].

Перші відомості про наявність цирковірусу в популяціях свиней були отримані А. В. Щербаковим у 2000 р. Проте, у вітчизняній літературі відсутні дані про біологічні властивості ізолятів цирковірусу свиней 2-го типу, циркулюючих у популяціях домашніх свиней [7,6].

Залишаються не з'ясованими питання клінічного прояву хвороб, асоційованих з цирковірусами при змішаних інфекціях. Патологічні зміни при поліетіологічному інфекційному процесі за участю ЦВС є надзвичайно різноманітними. У зв'язку з цим необхідно їх детальне вивчення для встановлення епідемічного значення [4].

Дані, отримані дослідниками за останні кілька років свідчать про існування ще одного представника сімейства цирковірусів. Цей вірус був виділений в Японії в 1997 р. у людини з посттрансфузійним гепатитом і названий ТТ-вірусом (TTV – *Transfusion transmitted virus*). Подальше вивчення молекулярних і біофізичних властивостей вірусу дозволило становити аналогію у будові віріонів ТТВ з цирковірусами

тварин. Проте, геном ТТВ, представлений молекулою одноланцюгової ДНК із вмістом 37503852 нуклеотидів, що дещо більше розміру типового для цирковірусу тварин. Рішенням Міжнародного Комітету з Таксономії вірусів ТТ-вірус входить до складу роду *Anellovirus* родини *Circoviridae*. Дослідження ТТВ показали, що даний агент має повсюдне поширення. За останніми даними ТТ-вірус знайдений у домашніх тварин (свині, кішки, собаки, курки, вівці), приматів, екзотичних тварин (*Tupaia belangeri chinensis*, *Saguinus oedipus*, *Aotes trivirgatus*) [9].

У зв'язку з цим проблема цирковірусної інфекції у свиней є достатньо актуальною як для оцінки епідемічної ситуації, так і для розробки заходів специфічної імунопрофілактики і терапії. Вже з'явилися вакцини для імунізації свиней проти цирковірусної інфекції, що дозволяють проводити профілактику захворювання. Однією з цих є вакцина Циркофлекс.

**Метою даного дослідження** була перевірка ефективності імунізації свиней вакциною Циркофлекс для профілактики цирковірусної інфекції.

**Об'єкт і методи дослідження.** Основним об'єктом дослідження було вивчення процесу формування імунітету у поросят інфікованих цирковірусом, та імунізованих вакциною Циркофлекс. Для цього були відібрані поросята 4-тижневого віку для 2-х дослідних та 2-х контрольних груп по 15 особин у кожній. В дослідних групах поросят прищеплювали в 5-тижневу віці однією дозою (1,0 мл) вакцини Інгельвак Циркофлекс (Берінгер Інгельхайм, Німеччина), поросят у контрольних групах не вакцинували. Поросят дослідних і контрольних груп утримували і виходували в різних вольєрах одного господарства.

Уся експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ).

Для визначення концентрацій імуноглобулінів у крові поросят застосовували імуноферментний аналіз (ІФА) із використанням тест-системи «Ingezim Circovirus IgM/IgG © 11.PCV.K2» (Ingenasa, Іспанія) [2].

Для відбору проб для ІФА здійснювали забор крові у поросят на 4-, 6-, 10-, 14-, 18-, 22-ому тижнях. Відбирали кров у кількості 5-7 мл у стерильні пробірки. Для відстоювання сироватки пробірки з кров'ю витримували 30 хв. при температурі 25°C, а потім при 4°C. Через 10-12 годин зливали сироватку в інші пробірки. Сироватка була прозорою, без ознак гемолізу. Для визначення ефективності вакцинації порівнювали показники концентрацій IgM та IgG у поросят контрольних та дослідних груп.

Була проведена статистична обробка результатів визначення середньостатистичних значень концентрацій IgM та IgG із використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel 2007, «Biostat-4».

**Результати дослідження та їх обговорення.** Головною метою даної роботи було дослідження ефективності імунізації свиней вакциною Циркофлекс для профілактики цирковірусної інфекції. Вакцинацію проводили на 5 тижні життя поросят. Для цього в першому дослідженні відбирали поросят методом репрезентативної вибірки у дослідну та контрольну групи по 15 особин. У контрольній групі поросят не вакцинували. Спостереження за тваринами і відбір крові для визначення антитіл проводили паралельно в обох групах протягом 22-х тижнів.

Як видно з **рис. 1 і 2**, в усіх свиней контрольної та дослідної груп на 4-му тижні (ще до вакцинації) спостерігалися великі початкові концентрації у крові специфічних IgG.

Це можна пояснити декількома причинами. По-перше, IgG могли з'явитися у новонароджених поросят завдяки передачі антитіл від інфікованої свиноматки через плаценту. Другою причиною могло бути зараження поросят вертикальним шляхом під час пологів від інфікованої свиноматки або побутовим шляхом під час вигодовування до вакцинації у перші 4 тижні.

Аналіз даних, представлених на **рис. 2**, ще раз підтверджує припущення відносно того, що всі поросята (дослідної та контрольної груп) були завчасно інфіковані, ще перед початком експерименту. Після вакцинації на 6-ому тижні життя в крові поросят дослідної групи спостерігається незначне підвищення концентрації IgM, очевидно за рахунок активації нових, ще

не сенсibilізованих В-лімфоцитів, однак у наступні тижні вона почала знижуватись.

Що стосується IgG, то з 4-го по 14-ий тиждень спостерігається різке зниження його концентрацій. Це можна пояснити тим, що вакцина була введена вже зараженим поросяткам та після її введення антигени вакцини нейтралізували ті антитіла, які були присутні у крові тварин с перших тижнів їх життя.

Вакцина Циркофлекс містить протективний антиген ORF2 цирковірусу другого типу (PCV-2) у кількості від 1 до 3,75 ВА (Відносна Активність за тестом ELISA у порівнянні з еталонною активністю) в одній щеплювальній дозі (1 мл). Вакцина містить також допоміжний компонент – карбомер (ад'ювант) в ізотонічному розчині хлориду натрію [1].

Згідно з анотацією на вакцину, Циркофлекс викликає формування імунної відповіді у свиней до цирковірусу 2-го типу приблизно через 2 тижні після застосування, що зберігається не менше 4 місяців [1].

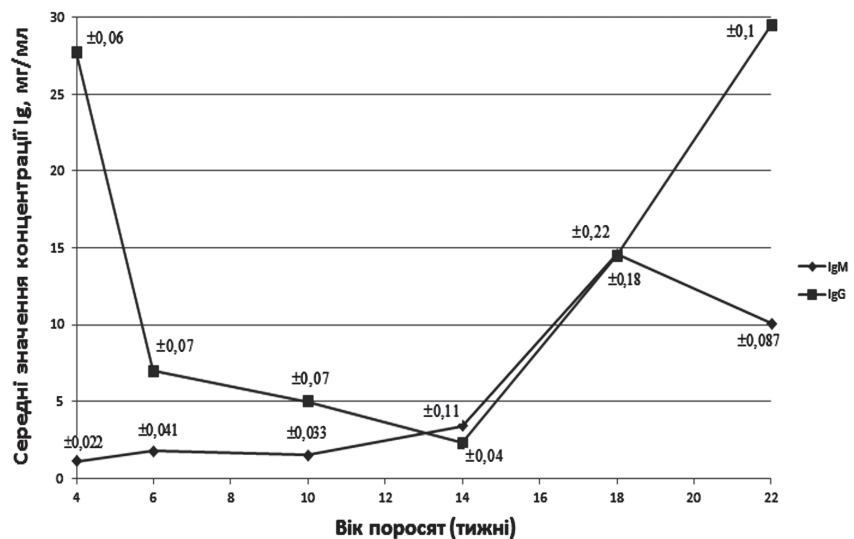


Рис. 1. Динаміка утворення антитіл (IgM та IgG) у свиней контрольної групи (1-й експеримент)

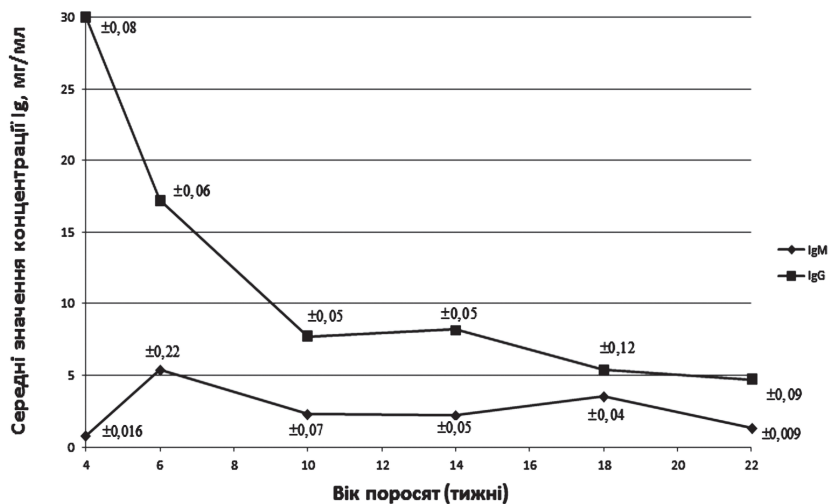


Рис. 2. Динаміка утворення антитіл (IgM та IgG) у свиней дослідної групи (1-й експеримент)

У зв'язку з тим, що при 1-му дослідженні до дослідної та контрольної груп увійшли, можливо, вже інфіковані поросята, то ефективність вакцинації була недостатньо високою. Тому, перед проведенням наступного дослідження (експеримент 2) здійснювали перевірку дослідних тварин на наявність імуноглобулінів проти цирковірусу. В дослідження відбирали тільки здорових поросят. Як і в 1-му експерименті, до контрольної та дослідної груп входили по 15 тварин. Вакцинацію проводили в дослідній групі також на 5-му тижні.

На **рис. 3 і 4** представлені дані про накопичення імуноглобулінів в сироватках крові тварин контрольної та дослідної груп.

Як видно з **рис. 3**, у поросят контрольної групи в процесі спостереження з 6-го по 22-ий тиждень концентрація імуноглобулінів змінювалась незначно.

При аналізі динаміки накопичення антитіл у вакцинованих поросят дослідної групи (**рис. 4**) було

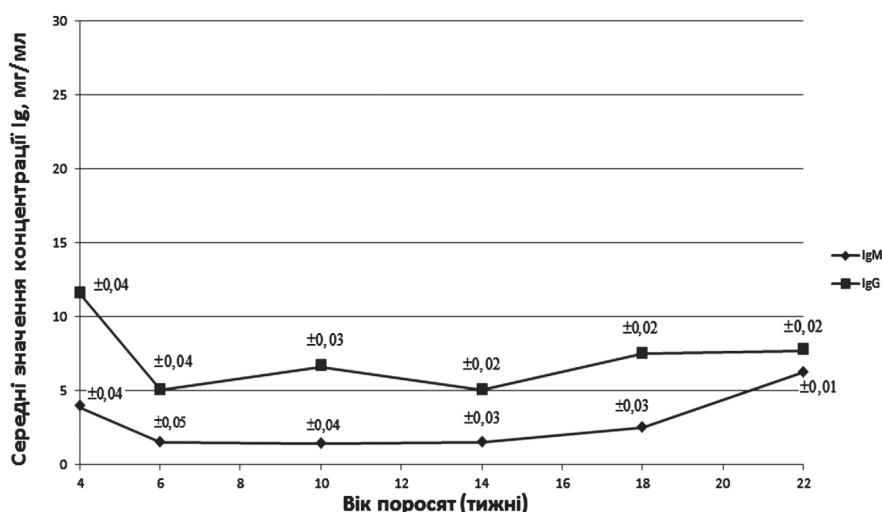
встановлено, що максимальна кількість IgM виявлялась на 6-му тижні життя тварин (1-й тиждень після імунізації вакциною Циркофлекс). Далі протягом 4-х тижнів (до 10-го тижня) вона падала і наступні 12 тижнів, до кінця експерименту, була низькою. Що стосується IgG, то максимальний його рівень був відмічений на 14-му тижні. До 14-го тижня відбувалося поступове підвищення концентрації IgG, а після 14-го тижня – поступове зниження.

Отримані результати свідчать про нормальний імунізаторний процес, оскільки IgM є маркером первинної імунної відповіді і в нормі з'являється вже на першому-другому тижнях після імунізації. Після появи більш пізніх антитіл – IgG, кількість IgM падає. Таким чином можна стверджувати, що вакцинація здорових тварин є ефективною і сприяє формуванню тривалого імунітету.

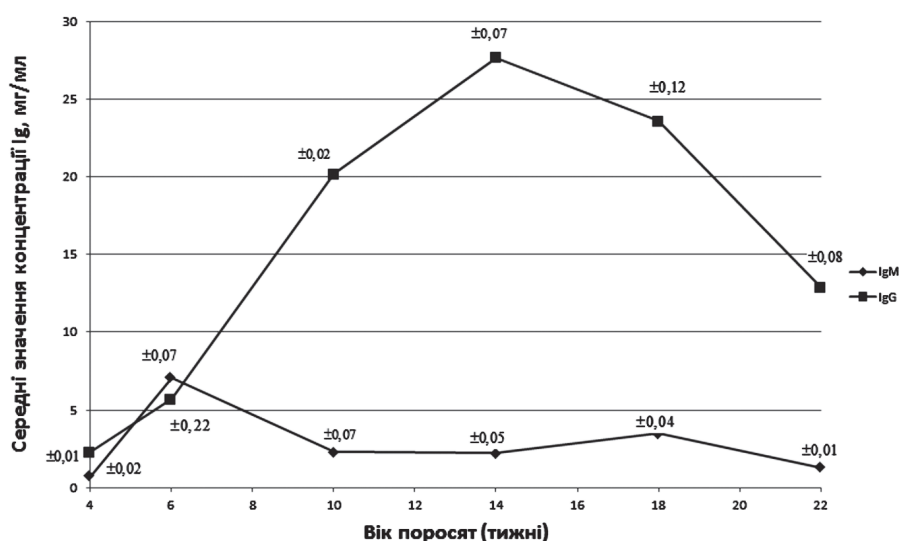
Проте, слід відмітити, що на 18-му тижні відбулося невелике підвищення концентрації IgM. Це може свідчити про повторний контакт поросят з вірусом (**рис. 4**).

Порівнявши ефективність вакцини Циркофлекс при імунізації хворих (у першому експерименті) та здорових (у другому експерименті) поросят звертає на себе увагу різниця в динаміці змін пулу IgG та IgM. Так, при імунізації завчасно інфікованих поросят рівень імуноглобулінів у крові тварин знижувався із-за нейтралізації антитіл антигенами введеної вакцини. Це є показником низької ефективності імунізації. В 2-му експерименті, де проводили вакцинування здорових тварин, спостерігали класичну динаміку розвитку первинної імунної відповіді після введення вакцини Циркофлекс, а саме: спочатку, після імунізації дещо підвищується концентрація IgM, а вже через 3 тижні починається різке підвищення концентрації IgG, що свідчить про ефективність імунізації.

Ураховуючи отримані нами дані, можна рекомендувати великим фермерським господарствам, які займаються вирощуванням свиней, перед проведенням вакцинації завчасно проводити моніторинг на наявність у поросят побутової імунізації



**Рис. 3** Динаміка утворення антитіл (IgM та IgG) у свиней контрольної групи (2-й експеримент)



**Рис. 4.** Динаміка утворення антитіл (IgM та IgG) у свиней дослідної групи (2-й експеримент)

цирковірусом. Якщо вона має місце, то введення вакцини проводити не слід, бо це тільки знижує вже набутий імунітет.

### Висновки

1. При постанові першого експерименту, коли мала місце, як виявилось, побутова імунізація, у поросят контрольної групи з самого початку визначались високі титри IgM та IgG. У дослідної групи, ще до імунізації, також були достатньо високі рівні IgM та IgG. Тому імунізація свиней дослідної групи привела до негативних наслідків, а саме, до практично повного виключення імунітету, який очевидно сформувався у поросят трансплацентарним або аліментарним шляхом.

2. При постанові другого експерименту, коли перед імунізацією проводився імунологічний аналіз крові на наявність IgM та IgG і для дослідження від-

бирались тільки здорові тварини, було встановлено високу ефективність імунізації свиней вакциною Циркофлекс. Про це свідчили підвищення рівнів IgM та IgG після вакцинації у свиней дослідної групи.

3. Перед проведенням імунізації треба завчасно проводити моніторинг на наявність у поросят побутової імунізації цирковірусом. Якщо побутова імунізація поросят має місце, то імунізацію вакцинами проводити не слід, бо це тільки знижує вже набутий імунітет поросят.

### Перспективи подальших досліджень

Оскільки в ветеринарній практиці починають застосовувати вакцини різних виробників, то на наступному етапі роботи буде проведено порівняння ефективності імунізації свиней вакцинами Інгельвак Циркофлекс (Берінгер Інгельхайм, Німеччина) та Suvaхyn PCV2 («Zoetis», США).

## Література

1. Анотація до вакцини Інгельвак Циркофлекс (Берінгер Інгельхайм, Німеччина).
2. Анотація до тест-набору ІФА (Ingensa, Іспанія).
3. Дягилев К. К. Цирковірусна інфекція свиней і боротьба з нею / К. К. Дягилев // Совершенствование технологии производства свинины на комплексах и фермах промышленного типа Минской области: науч.-практ. конф. / РНИУПИЭВ. – Минск, – 2003. – С. 39-43.
4. Орлянкин Б. Г. Респираторные нарушения свиней / Б. Г. Орлянкин // Мат. международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных». ГНУ ВИЭВ, 2006. – С. 135-138.
5. Сатина Т. А. Цирковірусні інфекції свиней / Т. А. Сатина // Обзор литературы / ФГУ ВНИИЗЖ. – Владимир, – 2003. – 101 с.
6. Серомониторинг инфекционных болезней среди диких кабанов в центральном федеральном округе России / С. А. Кукушкин [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных / ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ»). Т.4. – Владимир. – 2006. – С. 233-237.
7. Тимина А. М. Выявление и дифференциация цирковірусів свиней методом мультиплексної ПЦР / А. М. Тимина, А. В. Щербаков, В. Ф. Ковалишин // Труды Федерального центра охраны здоровья животных / ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ»). Т.4. – Владимир. – 2006. – С. 91-99.
8. Alan G. M. Porcine circovirus: a review / G. M. Alan, J. A. Ellis // J. Vet. Diagn. Invest. – 2000. – Vol. 12, N 1. – P. 13-14.
9. Prevalence of swine Torque teno virus in post weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs / T. Kekalainen [et al.] // J. General Virology. – 2006. – Vol. 87. P. 833-837.

УДК 578.74+636.4.033

### ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ІМУНОПРОФІЛАКТИКИ ЦИРКОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У СВИНЕЙ

Онопрієнко М. В., Соколова І. Є., Масюк Д. М., Вінніков А. І.

**Резюме.** Показана ефективність імунізації здорових поросят вакциною Циркофлекс, що підтверджується даними про наростання титрів антитіл протягом 6-22 тижнів. Показано також негативний вплив імунізації при введенні вакцини поросят, які були завчасно інфіковані цирковірусом. Це було підтверджено суттєвим зниженням концентрації IgG після вакцинації. У відношенні цирковірусної інфекції вперше було показано необхідність обов'язкового визначення вихідних концентрацій специфічних антитіл у свиней перед імунізацією.

**Ключові слова:** цирковірус свиней, цирковірусна інфекція, імуноферментний аналіз, імуноглобуліни, імунізація, вакцина.

УДК 578.74+636.4.033

### ОЦЕНКА ЭФЕКТИВНОСТИ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У СВИНЕЙ

Онопrienko M. B., Sokolova I. E., Masjuk D. N., Vinnikov A. I.

**Резюме.** Показана эффективность иммунизации здоровых поросят вакциной Циркофлекс, о чем свидетельствуют данные о нарастании титров антител в течение 6-22 недель. Показано также негативное влияние иммунизации при введении вакцины поросят, которые до иммунизации были инфицированы цирковірусом. Это было подтверждено существенным снижением концентрации IgG после вакцинации. В отношении цирковірусной инфекции впервые показана необходимость обязательного определения исходных концентраций специфических антител у свиней перед иммунизацией.

**Ключевые слова:** цирковірус свиней, цирковірусная инфекция, иммуноферментный анализ, иммуноглобулины, иммунизация, вакцина.

UDC 578.74+636.4.033

### ESTIMATION OF IMMUNE PREVENTION EFFICACY OF CIRCOVIRUS INFECTION OF PIGS

Onopriienko M. V., Sokolova I. E., Masuk D. N., Vinnikov A. I.

**Abstract.** The graduation devoted to study of efficacy of pig immunization with Circoflex vaccine to prevent the circovirus infection.

The first information about pathogenic porcine circovirus appeared in 1991, when in Canada was discovered a new disease – a syndrome of multi-tag piglets' exhaustion (SMPE). Exhaustion, shortness of breath, diarrhea, jaundice skin were watched in pigs at the age from 6 to 14 weeks. The received data let discover new virus as swine circovirus type 2. It was shown that circovirus play main role in pathogenesis of diseases such as SMVO, dermatitis and nephropathy syndrome (DSNP). The list also includes congenital tremor, proliferative and necrotizing pleuropneumonia, epidermiditis and exudative enteritis. There are assumptions about the ability of TSVS 2 to break reproductive functions in sows.

*Object of research* was study of immunity response in pigs infected by circovirus and immunized with vaccine Circoflex. The pigs of 4 weeks age were selected for 2 experimental and 2 control groups of 15 animals each. The piglets in experimental groups were vaccinated at 5 week of age by one dose (1.0 ml) of the vaccine Inhelvak Cyrkofleks (Boehringer Ingelheim, Germany). The piglets in control groups were not vaccinated. The pig of experimental and control groups were breastfed and kept in different cages of one household.

To determine the concentrations of antibodies in blood of pigs enzyme immunoassay test (ELISA) «Ingezim Circovirus IgM / IgG ® 11.PCV.K2» (Ingenasa, Spain) was used. A samples of blood for ELISA were received from pigs in 4-, 6-, 10-, 14-, 18-, 22-nd weeks. The blood in amount of 5-7 ml was placed in sterile tubes. To separate serum from blood cells the test tubes were endured 30 minutes at 25°C and then at 4°C. The serum after 10-12 hours of standing was carried into other tubes. Serum was transparent, hemolysis not was discovered.

To analyse of vaccination efficacy the concentrations of IgM and IgG in piglets blood of control and experimental groups were compared.

A statistical treatment of average values of IgM and IgG concentrations was carried out with software Microsoft Excel 2007, «Biostat-4».

The *methods of research* are: biological, immunological, ELISA for determining the concentration of IgM and IgG, statistical methods.

The *results of research* are: efficiency of immunization of healthy pigs with Circoflex vaccine was showed, as a result the growth of IgM and IgG titers during 6-22 weeks was observed. It was also shown negative influence of vaccine injection to infected pigs. This was confirmed by a significant decrease in the concentration of IgG, which was initially high before vaccination. A necessity of determination of concentrations of specific antibodies in pigs before immunization was first showed regarding to circovirus infection.

Results, that were got, can be used for the development of practices creation principles of immunization schemes.

The work is interesting for veterinarian, medicals, microbiologist and virologist.

**Keywords:** Cyrcovirus of pigs, Cyrcovirus infection, ELISA, Immunoglobulin, Immunization, Vaccine.

Рецензент – проф. Цебржинський О. І.

Стаття надійшла 24.10.2015 року