

## КОНТРОЛЬ ВІРУСУ РЕПРОДУКТИВНОГО ТА РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ ЗА ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ СЕРОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

О.А. Іващенко<sup>1,2</sup>, І.Г. Будзанівська<sup>1</sup>, І.В. Іващенко<sup>3</sup>, В.П. Поліщук<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка

<sup>2</sup> Центр ветеринарної діагностики

<sup>3</sup> Житомирський національний агроекологічний університет

*Висвітлено проблеми діагностики вірусу репродуктивного та респіраторного синдрому свиней (ВРПС). Досліджено зразки сироватки крові тварин з п'яти господарств України, в яких попередньо було встановлено наявність циркуляції ВРПС. Обґрунтовано доцільність проведення серологічного дослідження свиней 24-тижневого віку для первинного оцінення епізоотичної ситуації в господарстві загалом та розглянуто можливість його використання для комплексного аналізу епізоотичної ситуації в господарстві. Установлено оптимальні вікові групи для побудови інформативного серологічного профілю господарства, це: 4, 7, 10 та 15, 18 та 24-тижневі тварини. Встановлено динаміку зниження титру материнських антитіл та виявлено залежність між терміном інфікування та початковим рівнем материнських антитіл у 4-тижневому віці тварини.*

**Ключові слова:** вірус репродуктивного та респіраторного синдрому свиней (ВРПС), контроль епізоотичної ситуації, серологічний метод дослідження.

Нині вірус репродуктивного та респіраторного синдрому свиней (ВРПС) поширений у більшості країн-виробників свинини та продовжує залишатись одним із головних чинників репродуктивних втрат та респіраторних захворювань свиней [1]. ВРПС є представником роду *Arterevirus*, родини *Artereviridae*, порядку *Nidovirales*. Зважаючи на високий рівень варіабельності патогену, а також значне поширення ВРПС в Україні та світі [1, 2], впровадження комплексного підходу до його лабораторної діагностики є необхідним та важливим кроком у контролі цього вірусу та підвищенні біологічної безпеки продовольчого комплексу.

Вибір методу діагностики вірусу залежить від поставленої мети лабораторного дослідження та термінів інфікування тварин. Для встановлення термінів інфікування, поширеності збудника в популяції, контролю якості проведеної вакцинації, ефективності мір викорінення збудника використовують серологічні дослідження.

Серед серологічних методів дослідження найпоширенішим є непрямий імуноферментний аналіз (ІФА), цільовим антигеном в якому є N-протеїн. Це не єдиний антигенний детермінант ВРПС, на який спрямовується імунна протидія, проте він є найконсервативнішим за будовою, високо імуногенним та індукує ранню гуморальну дію в організмі тварини. Тест-системи ІФА, що містять в собі як антигенні детермінанти, окрім вірусного протеїну N, протеїни nsp-2 та nsp1, проявляють нижчу чутливість та меншу специфічність до обох генотипів вірусу РПС порівняно з N-кодуювальною ділянкою гена геному (70,6–95,6 порівняно з 84,9–100% відповідно) [3, 4]. Цей факт можна пояснити тим, що nsp-2-кодуювальний регіон є високоваріабельною ділянкою гена.

Безперечно, імуноферментний аналіз має низку переваг перед іншими методами, таких як швидкість, доступність, зручність у використанні, висока специфічність. Проте для інформативності цього методу дослідження необхідним є як вибір високочутливих серологічних тест-

систем, так і терміни відбору зразків та коректність інтерпретації результатів дослідження. Тому метою нашої роботи було вивчення динаміки рівня титрів антитіл в умовах серологічно позитивної реакції стада для встановлення термінів інфікування, а також інтенсивності та тривалості інфекційного процесу і встановлення оптимальних термінів відбору проб для первинного оцінювання епізоотичної ситуації та для аналізу динаміки інфекційного процесу в умовах циркуляції збудника у господарстві.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для виявлення рівня антитіл до ВРРСС відбирали зразки сироватки крові від тварин у віці 4, 7, 10, 15, 18 та 24 тижнів життя (з урахуванням технологічної групи тварин) [5] у 5 господарствах України, де попередньо було встановлено статус серологічно позитивного за ВРРСС стада. Для отримання достовірних результатів відбирали сироватку крові з одного господарства від свиней різних технологічних груп [6] у кількості не менше 12 зразків [7]. Під час дослідження було проаналізовано 360 зразків сироватки крові. Виявлення титру антитіл до ВРРСС у зразках сироватки крові здійснювали за допомогою ІФА з використанням діагностичної тест-системи HerdChek\*PRRS X3 фірми IDEEX (США). Реакцію визначали відповідно до настанови із застосування фірми-виробника тест-системи. Обчислення результатів проводили за допомогою програми Xchek.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Імуноглобуліни класу G до ВРРСС у сироватці крові інфікованої тварини можна детектувати вже на 7–10 день після інфікування, проте здебільшого пік титрів спостерігається на 30–50 день. Слід наголосити, що зниження титрів антитіл до негативного рівня спостерігається приблизно на 300-й день після інфікування [8]. Для побудови серологічних профілів господарства були запропоновані дві вікові групи — 9 та 16 тижнів життя тварин [9]. У віці 9 тижнів науковці пропонують аналі-

зувати динаміку зниження материнських титрів антитіл. Інформація щодо рівня антитіл до ВРРСС у 16-тижневому віці слугує для аналізу епізоотичної ситуації в господарстві загалом. Проте, на нашу думку, даних щодо рівня титрів антитіл за цією схемою буде недостатньо, оскільки цей тип побудови серологічного профілю не надає можливості встановлення технологічних чинників інфікування тварин (переведення тварин з однієї технологічної групи в іншу) та встановлення термінів їх інфікування. Крім того, в дослідженнях не залучені старші вікові групи, що значно зменшує інформативність результатів у розрізі аналізу первинного оцінювання епізоотичної ситуації за ВРРСС у господарстві загалом. Зважаючи на вище викладене, а також на особливості технології утримання тварин в умовах промислового господарства, для первинного аналізу статусу господарства (наявність/відсутність циркуляції патогену в стаді), на нашу думку, найдоцільніше відбирати зразки сироватки крові від свиней найстаршої вікової групи досліджень — 24 тижні життя.

Для встановлення можливих термінів інфікування необхідним є оцінювання рівня колостральних антитіл (материнських антитіл) та динаміки його зниження. Думки дослідників щодо цього питання розходяться — одні стверджують, що рівень материнських антитіл знижується впродовж 3–5 тижнів життя поросят [8], інші — називають більш пізні терміни зниження рівня колостральних антитіл, а саме, до 9-го тижня [9].

Під час дослідження ми оцінювали рівень колостральних антитіл (материнських антитіл) та динаміку його зниження. У зразках сироватки крові тварин у віці 4 тижнів з 5 різних господарств виявили колостральні антитіла різного рівня, що свідчить про циркуляцію цього вірусу в умовах утримання материнського стада та про контакт свиноматок з ним. Рівень колостральних антитіл у досліджуваних груп тварин різнився за основними показниками (мінімальний, максимальний та середній титри) (таблиця).

**Порівняльна динаміка рівня колостральних антитіл до ВРСС**

№ господарства	Титр антитіл* (МО/л)								
	Мінімальний			Середній			Максимальний		
	4 т**	7 т	10 т	4 т	7 т	10 т	4 т	7 т	10 т
1	4600	740	2800	4726	791	3896	4800	835	4700
2	2000	345	830	3240	591	976	4540	870	1100
3	890	1	123	1069	111	205	1987	345	343
4	123	890	2153	529	1203	2810	832	2314	3456
5	5678	1009	100	7677	2310	228	7654	3421	345

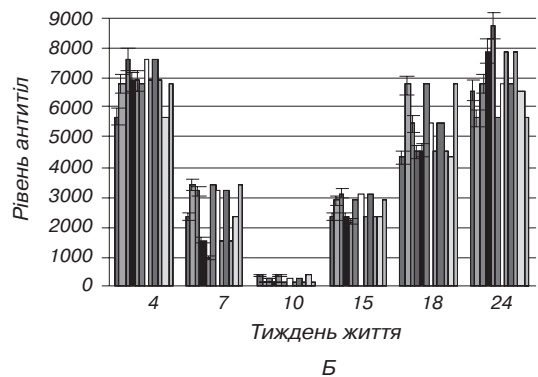
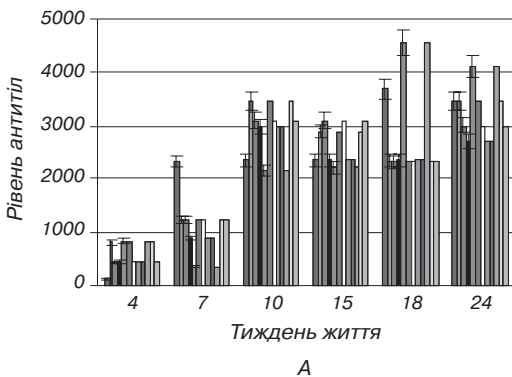
*Примітка:* \* титр вище від 844 розглядають як позитивний; \*\* т – тижні життя тварини.

Середній титр антитіл (показник групового гуморального імунітету) варіював у межах 529–4726 МО/л. Встановлено, що динаміка рівня колостральних антитіл у зразках сироватки крові досліджуваних поросят мала тенденцію до зниження і досягала нульового рівня у віці 4–10 тижнів життя залежно від початкового рівня антитіл (рисунок), що корелює з результатами інших дослідників [4, 9].

Під час моніторингових досліджень вивчали динаміку постінфекційного імунітету. Появу антитіл унаслідок контакту тварин з польовим вірусом реєстрували починаючи з 4-тижневого віку. Було виявлено залежність між рівнем колостральних антитіл першого місяця життя тварини та моментом її інфікування. За низького рівня антитіл у 4-тижневого віку серологічна конверсія ви-

никала у віці 10 тижнів. З огляду на ці дані, можна зробити висновок про інфікування тварин цього господарства приблизно на 6–7 тижнів їх життя.

На фоні відсутності колостральних антитіл у зразках сироватки крові поросят 4-тижневого віку (рисунок, А) було зафіксовано серологічну конверсію починаючи з 7 тижня, що свідчить про раннє інфікування (період лактації або відлучення) на фоні відсутності гуморального материнського імунітету та за циркуляції польового вірусу в умовах їх утримання. Високий рівень антитіл у віці 4 тижнів (середній титр 6777 МО/л) досягав нульового рівня у віці 10 тижнів, а сероконверсія внаслідок контакту з польовим вірусом виникала у віці 15 тижнів (рисунок, Б). За літературними даними, сероконверсія після інфікуван-



Динаміка рівня антитіл до ВРСС у зразках сироватки крові тварин з господарств: Донецької обл. (А), Запорізької обл. (Б)

ня виникає через 10–12 днів [5], тому з огляду на отримані результати, можна констатувати пізні інфікування (період відгодівлі). Отже, для встановлення термінів інфікування тварин ВРРСС та, відповідно, можливості застосування превентивних заходів для серологічних досліджень доцільно відбирати зразки сироватки крові тварин у віці 4, 7, 10 та 15 тижнів.

Під час аналізу зразків сироваток крові тварин у віці 18 та 24 тижнів оцінювали динаміку, рівень та однорідність титрів антитіл. В усіх господарствах, де проводили дослідження, спостерігалась динаміка росту рівня постінфекційних антитіл до 24-тижневого віку тварин, що свідчить про інтенсивність інфекційного процесу впродовж вказаного терміну. Слід наголосити, що за наявності високих титрів антитіл до ВРРСС у віці 15 тижнів можливим є виключення з серологічного профілю аналізу зразків сироватки крові від 18-тижневих тварин.

Крім того, важливим є аналіз не лише рівня антитіл до ВРРСС, але й ступінь їх однорідності в умовах однієї вікової групи. Однорідність титрів чітко корелює з клінічною стабільністю господарства за ВРРСС.

## ВИСНОВКИ

Впровадження ефективних методів діагностики захворювання є одним з інструментів боротьби з розповсюдженням ВРРСС серед тварин господарств України. Під час дослідження було встановлено оптимальні вікові групи для першого етапу оцінювання епізоотичної ситуації у господарстві. Також оптимізовано вікові групи тварин, необхідні для проведення серологічного профілювання господарства. Цей діагностичний підхід необхідний для встановлення динаміки інфекційного процесу (початок інфікування, тривалість, інтенсивність) в умовах господарства.

Визначено, що рівень материнських антитіл має тенденцію до зниження і досягає нульового титру до 4–10-тижневого віку тварин залежно від їх початкового рівня. Ці дані доповнюють раніше опубліковані результати щодо термінів зниження материнських антитіл. Також була виявлена

залежність між терміном інфікування та початковим рівнем материнських антитіл тварин у віці 4 тижнів.

Зважаючи на значну швидкість поширення, високий рівень варіабельності вірусу РРСС, неоднорідність клінічних проявів РРСС (залежно від штаму) та складність розробки схеми вакцинопрофілактики, наразі необхідним є комплексний аналіз стану господарств України з метою контролю РРСС в неблагополучних за ВРРСС господарствах, що дасть можливість впровадження ефективних та оптимальних заходів боротьби з ними.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Ivashchenko O.* The spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Ukraine / O. Ivashchenko // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. — 2012. — № 62. — С. 9–11.
2. Molecular epidemiology of PRRSV: A phylogenetic perspective / M. Shi, T.T.Y. Lam., C-C. Hon et al. // *Vir. Res.* — 2010. — Vol. 154. — P. 7–17.
3. Efficiency of serological kits of different manufacturers in detection of antibodies against PRRSV circulation in Ukraine / O. Ivashchenko, I. Budzaniiv'ska, I. Ivashchenko et al. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. — 2013. — № 65. — С. 32–34.
4. Antibody response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) nonstructural proteins and implications for diagnostic detection and differentiation of PRRSV types I and II / E. Brown, S.C. Lawson, Li, J. Welbon, R. Rowland // *Clinical and vaccine Immunology.* — 2009. — Vol. 16, No. 5. — P. 629–635.
5. *Rossow K.D.* Porcine Reproductive and respiratory syndrome / K.D. Rossow // *Vet. Pathol.* — 1998. — Vol 35. — P. 1–20.
6. World organization for modern health. PRRS: the disease, its diagnosis, prevention and control [Електронний ресурс] / Report of the OIE AD HOC group on reproductive and respiratory syndrome. — Paris. — 2004. — Режим доступу: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/PRRS\\_guide\\_web\\_bulletin.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/PRRS_guide_web_bulletin.pdf)
7. *Lipej Z.* An overview about PRRSS in Croatia / Z. Lipej, D. Novosel // The Balkan meeting on PRRS diagnostic. — Hrvatska, 2011. — P. 8–12.
8. *Ellingson Joshua Scott.* Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: diagnostic update and search for novel modified live vaccines: Dissertations Paper 6.06.13 / Ellingson Joshua Scott. — Iowa State University, 2013. — P. 10–30.
9. *Duinhof T.F.* Detection of PRRSV circulation in herds without clinical signs of PRRSV: Comparison of five age groups to assess the preferred age group and sample size / T.F. Duinhof, G. van Schaik, E.J.B van Esch // *Veterinary Microbiology.* — 2011. — Vol. 150. — P. 180–184.