

УДК 619:616-07/616-084:636.4

Дерев'яно С.В., канд. біол. наук, ст. н. с., Бова Т.О., канд. біол. наук, ©
Сорока В.І., канд. вет. наук, ст. н. с., biopreparat@mail.ru
Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН України, м. Чернігів

ЗАСОБИ ДІАГНОСТИКИ І СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ТЕШО-ТА ЕНТЕРОВІРУСНИХ ХВОРОБ СВИНЕЙ

У статті розглянуто питання діагностики, специфічної профілактики тешо- й ентеровірусних хвороб свиней та представлено літературні дані щодо цих проблем.

Ключові слова: ентеровіруси свиней, тешовіруси свиней, діагностика, профілактика, хвороба.

Тешо- та ентеровіруси відіграють значну етіологічну роль у захворюваннях свиней, що призводить до значних економічних збитків у сільському господарстві. Одним із найнебезпечніших серед них є ензоотичний енцефаломієліт (хвороба Тешена) свиней. Пневмонія, гастроентерит та пневмоентерит належать до найбільш поширених хвороб. Етіологічними агентами пневмоній, крім ентеровірусів, є парво-, реовіруси, гемаглютинуючий енцефаломієлітний вірус, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinomyces pyogenes*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma*, *Proteus mirabilis*, *Erwinia stewartii*, *Klebsilla pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* [12, 25, 29, 35], а гастроентеритів - корона-, ротавіруси, *Escherichia coli* [11, 21, 30] та їх асоціації.

Клінічні ознаки ентеровірусної пневмонії, гастроентериту та пневмоентериту подібні до перебігу інших респіраторних та шлунково-кишкових інфекцій. Вирішальне значення при встановленні діагнозу і проведенні лікувально-профілактичних заходів має лабораторна діагностика.

Однак, діагностика та специфічна профілактика ускладнюється великою кількістю серотипів тешо- та ентеровірусів свиней. Щорічно у різних країнах світу виділяються нові серотипи збудників цих хвороб. У 1971 р. за результатами вивчення антигенних властивостей 72 європейських, американських та японських штами ентеровірусів свиней (ЕВС), Dunne H. et al. звели їх до 8 серотипів (ЕВС 1-8) [34]. У 1979 р. Knowles N. et al. встановили 3 (ЕВС 9-11) [39], а в 1994 р. Auerbach J. et al. – 2 нових серотипи (ЕВС 12 і 13) [36]. Згідно з рішенням 11 Міжнародного конгресу з вірусології, який відбувся у 1999 році у Сіднеї, ЕВС 1-7 та 11-13 серотипів віднесено до виду *Porcine Teschovirus* і винесено в окремий рід *Teschovirus*. Ентеровіруси свиней 8 серотипу рекласифіковано як *Porcine Enterovirus A* та 9, 10 – *Porcine Enterovirus B* – до роду *Enterovirus* [38, 41].

Zell R. et al. встановили новий 11 серотип тешовірусів свиней [40]. До того ж, у 1993 р. В.П. Романенко з співавт. [27] встановили 14 нових серотипів

ЕВС, які поки що не увійшли до міжнародної класифікації. Слід зазначити, що на території України досить часто виділяються від свиней патогенні штами, які мають антигенну спорідненість з ЕВС 2-18 різних серотипів (так звані поліантигенні штами) [8,23], а іноді антигенно-відмінні від ЕВС відомих серотипів [26].

Збудником хвороби Тешена раніше були ентеровіруси свиней 1-го серотипу [15], а зараз, згідно з останньою міжнародною класифікацією, – тешовіруси свиней 1 серотипу (ТВС -1).

Однак, німецькими дослідниками (Loss K., Witte K. et al., Auerbach J. et al.) встановлено, що симптоми поліоенцефаломієліту у свиней можуть обумовлювати не тільки ЕВС-1, а й 2, 4, 5, 6, 9 та 10 серотипів [36, 44].

Доведено етіологічну роль ентеровірусів 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 20, 23 серотипів у виникненні гастроентеритів у свиней [17, 18, 21, 31] та ЕВС 2, 3, 4, 5, 6, 8, 15, 16, 17, 21, 22 серотипів – у виникненні пневмоній [12, 22, 29, 32, 78] (згідно з класифікацією В.П. Романенко з співав. [27]) Ентеровірусний гастроентерит свиней супроводжується пневмонією в 32 %, ураженням центральної нервової системи – у 20 % і мертвонародженням у свиноматок у 25 % випадків [21], а пневмонія – іноді гастроентеритами [22, 29].

Таким чином, з огляду на літературні дані, не встановлено чіткої кореляції між антигенними та патогенними властивостями тешо- та ентеровірусів свиней. Так, однакові клінічні симптоми можуть обумовлювати віруси різних серотипів і, навпаки, віруси одного серотипу можуть обумовлювати як пневмонії, так і гастроентерити та пневмоентерити або бути апатогенними.

Лабораторна діагностика тешо- ентеровірусних хвороб свиней передбачає ідентифікацію вірусу кожного серотипу окремо і проводиться різними методами. Найбільш достовірними є виділення вірусу і його ідентифікація в реакції нейтралізації (РН) [2, 9, 12, 14, 33]. Для підтвердження діагнозу, а у випадках коли не вдалося виділити вірус, то для його постановки проводять ретроспективний аналіз парних сироваток крові, відібраних у періоди гострого перебігу хвороби та реконвалесценції [19].

Поряд з РН вірусу для ідентифікації збудника та виявлення віруснейтралізуючих антитіл у сироватках крові застосовують реакції зв'язування комплекменту [1, 28], дифузної преципітації [16, 43], імуофлюоресценції (РІФ) [20] та імуоферментний аналіз (ІФА) [24, 42], електронну мікроскопію [3], полімеразну ланцюгову реакцію [37].

В.П. Романенко з співавт. [2] розробили та впровадили у практику ветеринарної медицини набори діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней, ентеровірусної пневмонії й ентеровірусного гастроентериту в реакції віруснейтралізації і прямої імуофлюоресценції. Ними також розроблено метод прискореної ідентифікації вірусу, в основу якого покладено принцип одночасного виділення, титрування та типування вірусу в РН у культурі клітин. Набори діагностикумів ентеровірусної пневмонії та ентеровірусного гастроентериту включають, відповідно, антигени 9-ти і 13-ти

серотипів ЕВС, специфічні сироватки та флюоресціюючі імуноглобуліни до них. Поєднуючи чутливість ІФ методу і специфічність РН вірусу, набори дозволяють встановити точний діагноз за 2-7 днів та ідентифікувати збудника на рівні серотипу. Недоліком цих наборів є велика кількість виробничих штамів, необхідних для виготовлення компонентів набору, що робить їх громіздкими та трудомісткими при використанні.

Інші набори містять меншу кількість компонентів, але спрямовані на виявлення віруснейтралізуючих антитіл та ідентифікацію лише найбільш поширених серотипів [28].

Вирішити цю проблему дозволяють штами ентеро- та тешовірусів з поліантигенними властивостями. За результатами численних досліджень нами було зроблено висновок, що міжтипові антигенні зв'язки цих штамів обумовлені спільними родовими антигенними детермінантами [8, 23]. Так, на їх основі розроблено новий набір діагностикумів ентеровірусних пневмоентеритів свиней, який включає лише 2 штами вірусів та сироватки крові до них [13]. Набір дозволяє виявляти в РН антитіла та ідентифікувати збудників ентеровірусних пневмоентеритів свиней усіх відомих серотипів. Однак, практика потребує експресних методів діагностики.

Цим вимогам відповідають імуноферментні тест-системи [10, 24]. Вони характеризуються високою чутливістю, дозволяють виявляти антитіла на ранніх стадіях розвитку хвороби та своєчасно ставити діагноз. Потребують вдосконалення та широкого впровадження імуноферментні тест-системи з виявлення та ідентифікації антигену [5]. При цьому роботу доцільно зосередити в двох напрямках: для прискореного виявлення тешо- і ентеровірусів варто застосовувати гіперімунні поліклональні сироватки крові, одержані до поліантигенних штамів, а для ідентифікації вірусу на рівні серотипу (ідіотипу) – моноклональні антитіла.

Є потреба в інтенсифікації розробки засобів прискореної діагностики на основі молекулярно-генетичних методів із застосуванням праймерів до консервативних ділянок геному для ідентифікації вірусів на рівні виду та праймерів до варіабельних ділянок – на рівні серотипу. Розроблені тест-системи будуть використані як для діагностики хвороб, так і в наукових цілях для класифікації вірусів відповідно до міжнародних вимог [37].

Потребують удосконалення і вакцини. Так, вірусвакцина проти хвороби Тешена свиней на основі виробничого штаму «Перечинський-642» розроблена В.П. Романенко ще в 1979 р. Застосовується й інактивована вакцина на основі штаму «Закарпатський», розроблена О.В. Сергеевим в 1979 р. Для виготовлення цих вакцин використовують штами, виділені у 70 роках минулого сторіччя, які здатні захищати тварин від інфікування збудниками хвороби лише першого серотипу. Крім того, зважаючи на еволюційні зміни, варто звернути увагу на відповідність антигенних властивостей вакцинних та епізоотичних штамів тешовірусів свиней.

Так, за даними А.І. Бузуна, існує два підтипи збудника хвороби Тешена свиней в межах першого серотипу. Виробничі (вакцинні та діагностичні)

штами вірусів, виділені в 60-70 роках ХХ століття, утворювали першу підгрупу, а епізоотичні штами, виділені в 90-х рр. – другу. У перехресній реакції нейтралізації вірусу встановлено антигенну різницю між підгрупами, яка склала 10-15 %, а за коефіцієнтом нейтралізації підгрупи відрізнялись більш як на 52 % [4]. Така антигенна відмінність виробничих та епізоотичних штамів вірусів може призвести до прориву імунітету щеплених тварин. У зв'язку з цим, автором запропоновано вакцини із використанням нових штамів «Навля-96» та «ХДЗВА-Б» [6, 7]. Проте, недоліком таких вакцин є те, що вони не забезпечують захист тварин від зараження тешовірусами інших серотипів.

Щодо вакцин проти інших тешо-, ентеровірусних хвороб, то вони широкого впровадження не набули, оскільки здатні захищати тварин лише від деяких серотипів збудників.

Висновки. Існуючі засоби специфічної профілактики дозволяють контролювати епізоотичну ситуацію щодо окремих збудників тешо- й ентеровірусних хвороб свиней. Однак, нові умови господарювання, антигенна відмінність епізоотичних штамів, еволюційна мінливість вірусів вимагають удосконалення підходів до конструювання засобів діагностики та специфічної профілактики тешо- й ентеровірусних хвороб свиней. Аналізуючи літературні дані та результати наших досліджень, виникає необхідність розробки засобів діагностики специфічної профілактики на основі природних поліантигенних та штучно створених рекомбінантних штамів вірусів з міжтипovими та міжвидовими антигенними властивостями, що дозволить захистити тварин від інфікування збудниками ентеро- та тешовірусів свиней різних серотипів та удосконалити діагностику інфекційних хвороб свиней.

Література

1. А.С. 1086809 СССР, С 12 N 7/00 Способ диагностики энтеровирусного гастроэнтерита свиней путем постановки реакции длительного связывания комплемента / Собко А.И., Старчеус А.П., Прискока В.А. и др. № 3483612/30-15; Заявлено 17.08.82.

2. А.С. СССР N 1007226, МКИ А 61 в 10/00, С 12 N 1/04. Способ диагностики энтеровирусных болезней свиней // В.Ф. Романенко, О.Г. Прусс, Н.В.Бабич и др. (СССР) - № 2873644/30-15; заявл. 25.01.80; опубл. 23.11.82. - 4 с.

3. Беланко Л.В., Ястребов А.С., Мирская Т.А. Электронная микроскопия вирусных инфекций поросят // Ветеринарная наука производству.- 1988.- № 26.- С.12-16.

4. Бузун А.И., Бабкин М.В. Подтиповые различия среди штаммов и изолятов возбудителя болезни Тешена // Ветеринарна медицина.- 2000. - Т.78 (I).- С.23-28.

5. Виявлення тешовірусного антигену з використанням сендвіч варіанту імуноферментного аналізу / Бова Т.О., Сорока В.І., Дерев'яно С.В. Бокун А.О. // Тези доповідей Х з'їзду Товариства мікробіологів України. - 15-17 вересня, 2004. – С. 351.

6. Пат. України 65803, 7 А61К39/00. Асоційована вакцина інтрадермального застосування проти Тешенської хвороби та псевдо сказу свиней // Бузун А.І., Головка В.О., Романенко В.П. та інші. № 2003054835; заявл. 27.05.2003, опубл. 15.04.2004. – № 4.– 2004.

7. Деклараційний патент України 67064, 7 А61К39/29, А61К39/04, С12N1/20, С12N7/00, Вакцинний штамп «Буча-ХДЗВА» Teschovirus suis збудник ензоотичного енцефаломієліту свиней (тешенської хвороби) // Бузун А.І., Головка В.О., Вербицький П.І., Бузун Л.В. № 2003065773; заявл. 23.06.2003, опубл. 15.04.2004. – № 4.– 2004.

8. Дерев'яно С.В. Поліантигенні властивості штамів ентеровірусів свиней // Ветеринарна медицина України. – 1998. – №4. – С. 21.

9. Диагностики болезни Тешена свиней / Романенко В.Ф., Прусс О.Г., Полевик Е.И. и др. // Ветеринария. - 1988. - № 11. - С. 65.

10. Методичні підходи до створення тест-системи для визначення антитіл до вірусу хвороби Тешена свиней на основі ТІФА / Бова Т.О., Дерев'яно С.В., Сорока В.І., Бокун А.О. // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. - 2004. - Т.6, № 2.- Ч.1.- С.3-8.

11. Прискока В.А. Смешанные энтеро-, корона- и ротавирусные инфекции и их особенности. "Ветеринария", 1990, № 1. - С.35-36.

12. Проблема диагностики пневмонии свиней энтеровирусной этиологии / В.Ф. Романенко, А.А. Бокун, Н.В. Бабич, И.Н. Пинчук // Ветеринария. - 1992. - № 4. - С.25-27.

13. Розробка набору діагностикумів ентеровірусних пневмоентеритів свиней на основі штамів вірусів з поліантигенними властивостями / Сорока В.І., Полевик О.І., Бабич Н.В., Дерев'яно С.В., Романенко В.П. // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. - 2000. - Т.2. - Ч.1. - С.166-168.

14. Романенко В.П. Ентеровіруси і їх значення в патології свиней // Вісник аграрної науки. - 1996. - № 7. - С. 48-52.

15. Романенко В.П. Хвороба Тешена / К.: Урожай, 1974. - 80 с.

16. Романенко В.П., Касьян Г.Г. Діагностична цінність реакції дифузійної преципітації в агаровому гелі при ензоотичному енцефаломієліті (хвороба Тешена) свиней // Труды 4 съезда Украинского микробиологического общества. - К. - 1975. - С. 642.

17. Романенко В.Ф. Инфекционные желудочно-кишечные болезни свиней. - М., 1984. - 158 с.

18. Романенко В.Ф. Энтеровирусный гастроэнтерит // Справочник по болезням свиней. - К.: "Урожай", 1981. - С. 46-49.

19. Романенко В.Ф., Прусс О.Г. Ретроспективный анализ сывороток, как метод диагностики энтеровирусных заболеваний свиней // Микробиологічний журнал. - К., 1973. - № 3. - С. 401-402.

20. Романенко В.Ф., Прусс О.Г., Купневская Л.В. и др. Иммунофлуоресцентный метод диагностики энзоотического энцефаломиелиита свиней // Ветеринария. - М, 1982. - № 4. - С. 69-70.
21. Романенко В.Ф., Полевик Е.И. Этиология энтеровирусного гастроэнтерита свиней // Ветеринария. – 1992. – № 3. – С. 29-30.
22. Романенко В.П., Пінчук І.М. Вірусологічні дослідження та критерії визначення етіології ентеровірусної пневмонії свиней // Вісник аграрної науки. – 1993. – № 4. – С. 25-27.
23. Романенко В.П., Дерев'янку С.В. Деякі біологічні особливості поліантигенних штамів ентеровірусів свиней // Науковий вісник національного аграрного університету. – 2001. – № 36. – С. 80-83.
24. Синицин В.А. Технологія виготовлення діагностикумів для імуноферментного аналізу та застосування їх в лабораторних дослідженнях: Автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.03 / Київ. Національний аграрний університет. - К., 1999. - 38 с.
25. Слободенюк В.К. с соавт. Диагностика смешанных инфекций при пневмонии свиней / "Ветеринария".- 1984.- № 2.- С. 75-76.
26. Сорока В.І., Полевик О.І., Дерев'янку С.В. Характеристика ентеровірусів, виділених від свинець // Ветеринарна медицини. – 2003. – № 82. – С. 531-534.
27. Таксономия энтеровирусов свиней / Романенко В.Ф., Полевик Е.И., Прусс О.Г. и др.// Ветеринария. - 1993. - № 5. - С. 26-29.
28. Тацька В.Н., Старчеус А.П., Мельниченко О.М. Отримання специфічних сироваток до ентеровірусів свиней – збудників ентеровірусних інфекцій// Вісник львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.Ж.Гжицького - 2000 р. Т.2 (№2), част.1. - С. 182-184.
29. Этиология энзоотической пневмонии свиней / Романенко В.Ф., Бокун А.А., Бабич Н.В. и др. // Ветеринария. – 1988. – № 2. – С. 35-37.
30. Animal coronavirus and enterovirus yield increases due to retinoic acid supplement // Sobko A., Tatskaya V., Kvatchoff V. et al. // Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress.- Bangkok (Thailand). - 1994. - P. 524.
31. Betts A.O. Porsine enteroviruses // Desiases of swine.-Jowa State University.-1970.-V.14, P.356-362.
32. Betts O.A. Maladies respiratoire du pore // Am. med. vet.- 1972. - V.116, №4.- P.289-302.
33. Buczek J., Koziol T. Serotypes of enteroviruses isolated from pigs in Poland // Folia-Veterinaria. - 1991. - V.35, № 1-2. - P.89-97.
34. Dunne H.W., Wang T.J., Ammermann E.H. Classification of North American porcine Enteroviruses: a comparison with European and Japanese strains // Infect.Immunol. - 1971. - V.4, № 5. - P. 619-631.
35. Epidemiological survey of diseases in fattening pigs on farms breeding their own pigs / Hirahara T., Yasuhara H., Izumida A. et al. // Journal of the Japan Veterinary Medical Association. - 1990.- V.43, № 9.- P.639-645.

36. Grouping of porcine enteroviruses by indirect immunofluorescence and description of two new serotypes / Auerbach J, Prager D., Neuhaus S. et al. // Journal of Veterinary Medicine. Series B. - 1994. - V.41, № 4. - P.277-282.
37. Kaku Y., Sarai A. and Murakami Y. Genetic reclassification of porcine enteroviruses // J. Gen. Virol.- 2001. - V.82. - P. 417-424.
38. King, A.M.Q., Brown, F., Christian, et al. Picornaviridae. In "Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses". / Eds Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., et al. - Academic Press, New-York, San Diego.- 2000.- P. 657-673.
39. Knowless N.J., Buckley L.S., Pereira H.G. Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes // Arch. Virol. - 1979.- V. 62, № 3.- P. 201-208.
40. Porcine teschovirus comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects / Zell R., Dauber M., Krumbolz A. et al. // J. Virol. – 2001. – V.75, № 4. – P. 1620-1631.
41. Pringle C.R. Virus Taxonomy // Arch. Virol.- 1999.- V. 144. - P. 421-429.
42. Relation of serological- and CPE-classification of porcine enteroviruses to the classification by immunoperoxidase (IP) staining, and observation of CPE of IP staining method / E.Honda, I.Watanabe, K.Okazaki, T.Kumagai // Japanese Journal of Veterinary Science.- 1990.- V.52, № 4.- P.795-800.
43. Sulochana S., Derbyshire J.B. Immunodiffusion reactions among porcine enteroviruses and other picornaviruses // Vet. Microbiol. - 1978. - № 2. - P.205-212.
44. Typisierung von 17 porzinen Enterovirusisolationen aus Polioenzephalomyelitisfällen der Jahre 1983-1991 / Witte K.H., Auerbach J., Loss K.U. , et al. // Deutsche-Tierärztliche-Wochenschrift. - 1994. - V.101, №12. - P.482-484.

Summary

Derevjanko S.V., Bova T.O., Soroka V.I., biopreparat@mail.ru
Institute of agricultural microbiology of NAAS of Ukraine, Chernihiv, Ukraine
DIAGNOSTIC AIDS AND SPECIFIC PREVENTIVE MAINTENANCE
TESCHOVIRUS AND ENTEROVIRUS ILLNESSES OF PIGS

In article it is considered questions of diagnostics, specific preventive maintenance tescho - and Enterovirus illnesses of pigs and it is presented literary data on these problems.

Key words: *Porcine Teschovirus, Porcine Enterovirus, diagnostics, preventive maintenance, illness.*

Стаття надійшла до редакції 15.03.2010