

МОНІТОРИНГ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ДИКИХ СВИНЕЙ В УКРАЇНІ

*М. Ситюк, кандидат ветеринарних наук,
старший науковий співробітник*

*Інститут ветеринарної медицини НААН
В. Місніченко. аспірант**

*В. Недосеков, доктор ветеринарних наук, професор
Національний університет біоресурсів
і природокористування України
nedosekov1@rambler.ru*

Представлені дані щодо проведення моніторингу вірусних хвороб в популяції диких свиней України (африканської чуми, репродуктивно-респіраторного синдрому, хвороби Ауескі, хвороби Тешена, цирковірусної інфекції), а також результати серологічних, вірусологічних, молекулярно-генетичних досліджень зазначених патогенів та представлені розробки з їх діагностики. Визначено показники серопревалентності з рівнем специфічних гуморальних антитіл в сироватках крові диких свиней до зазначених вище збудників інфекцій.

Ключові слова: дикі свині, африканська чума, репродуктивно-респіраторний синдром, цирковірусна інфекція, хвороба Ауескі, хвороба Тешена, серологічний моніторинг

В інфекційній патології свиней важливе місце займають захворювання вірусної природи, серед яких найбільш небезпечними в епізоотологічному відношенні є африканська та класична чума свиней, репродуктивно-респіраторний синдром, цирковірусна інфекція, хвороба Ауескі, хвороба Тешена та інші вірусні хвороби. Нині у свинарстві питанню інфекційної патології як у розрізі окремих захворювань, так і за різних асоційованих форм, належить домінуюча роль [1, 2, 3].

Детальний літературний аналіз показав, що моніторинговим дослідженням дикої фауни, в тому числі і диким свиням, приділяється значна увага, особливо, в країнах Європейської Спільноти (ЄС). Проте, на територіях країн СНД, у тому числі і в Україні ці дослідження повноцінно не проводяться [4, 5, 6]. В Україні моніторингові дослідження диких свиней проводилися співробітниками лише за класичної чуми свиней, де впродовж десяти років епізоотологічного нагляду та серологічних досліджень серед цих представників дикої фауни було визначено їх серопревалентність до вірусу КЧС на рівні 8,3 %.

Сучасна епізоотична ситуація потребує вивчення поширення вірусних хвороб свиней (африканської чуми, репродуктивно-респіраторного синдрому, цирковірусної інфекції, хвороби Ауескі, хвороби Тешена) у популяції диких свиней в Україні [3, 7].

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор В. В. Недосеков

З урахуванням вищезазначеного ми усвідомлюємо необхідність вивчення вірусної патології диких свиней на території України з визначенням їх ролі у поширенні збудників.

Мета досліджень – обґрунтувати систему епізоотологічного моніторингу вірусних хвороб свиней у популяції диких кабанів України (хвороби Ауескі, хвороби Тешена, цирковірусної інфекції свиней (ЦВІС), репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС), визначити серологічний статус їх популяції та молекулярно-генетичні особливості прояву.

Матеріали і методи досліджень. В роботі використовували патологічний матеріал від диких свиней (сироватки крові, фрагменти лімфоїдних органів (селезінка, лімфатичні вузли), ректальні змиви, слина), які були відстріляні на території мисливських угідь 375 адміністративних районів усіх областей України впродовж сезонів полювання 2001–2013 рр.

Епізоотологічні дослідження проводили за методикою І. О. Бакулова зі співавт. (1975). Відбір та підготовку сироваток крові та лімфоїдних органів для дослідження проводили відповідно до нашої методики (В. В. Недосєков зі співавт., 2013).

Специфічні антитіла у сироватках крові диких свиней: до вірусу хвороби Ауескі визначали мікрометодом реакції нейтралізації у нашій модифікації та методом ІФА згідно настанови із використання тест-системи «ІФА gE-VXA», НВП «Біо-Тест-Лабораторії», Україна; до вірусу РРСС та ЦВС 2 – імунопероксидазним тестом за реакції нейтралізації у нашій модифікації та ІФА, згідно настанови із використання діагностичних тест-систем «*INGEZIM PRRS UNIVERSAL*», Іспанія та «Цирко-Серотест», Росія.

Детекцію генетичного матеріалу проводили: ДНК ізолятів вірусу хвороби Ауескі методом ПЛР-РЧ із застосуванням реактивів, праймерів, розроблених у ВНДІВВіМ, м. Покров, Росія; РНК вірусу РРСС проводили методом ПЛР-РЧ за допомогою комерційних тест-систем виробництва «Ветбіохім», м. Москва, Росія, а також за допомогою комерційних тест-систем у НВІ м. Пулави, Польща; ДНК ЦВС 2 методом ПЛР-РЧ за допомогою комерційних тест-систем («Ветбіохім», м. Москва Росія та НВІ м. Пулави, Польща) та і валідованої методики ПЛР-РЧ.

Результати досліджень. Основою досліджень є наявність бази ізолятів збудників, які вивчаються в розрізі регіонів і термінів виділення. Тому за 2001–2013 рр. були проведені дослідження по створенню колекції патологічного матеріалу від відстріляних диких свиней (6840 зразків сироваток крові, 598 зразків лімфоїдних органів). У розрізі регіонів України та сезонів полювання нами визначено показники серопревалентності з рівнем специфічних антитіл в сироватках крові диких свиней до зазначених збудників вірусних інфекцій.

З патологічного матеріалу від диких свиней виділено ізоляти вірусів хвороби Ауескі (5), хвороби Тешена (1), цирковірусної інфекції (23), репродуктивно-респіраторного синдрому (2), африканської чуми (6), від домашніх свиней ізоляти вірусів хвороби Ауескі (1), хвороби Тешена (1) – та вивчені їх культуральні та молекулярно-генетичні властивості. Розроблено, валідовано та випробувано методику ПЛР-РТ для індикації ДНК цирко-

вірусу другого типу в патологічному матеріалі, що стало основою для розробки системи діагностики хвороб.

Для скринінгових досліджень вірусних хвороб свиней були розроблені діагностичні тести. Так, розроблено набір для діагностики хвороби Ауєскі мікрометодом реакції нейтралізації. Розроблено технологію виготовлення специфічних ФІТЦ-імуноглобулінів для імунофлюоресцентної діагностики африканської чуми свиней.

Для рутинної діагностики нами було удосконалено методику постановки імунопероксидазного тесту для серологічної та вірусологічної діагностики цирковірусної інфекції свиней, яка дозволяє проводити реакцію мікрометодом з використанням перещеплюваної культури клітин SK-6 (нирки свині) та маніпуляцій з фіксацією моношару клітин 96 % етиловим спиртом, що дозволило спростити постановку реакції та отримати високу результативність.

Для молекулярно-генетичної індикації цирковірусної інфекції були сконструйовані праймери PCV-2-F GCCACAGCCCTAACCTATGA PCV-2-R TCAGCCAAAGCTGATTCCCTT FAM-CTACTCCTCCCGCCATACAA-BHQ1 на ген, що кодує капсидний протеїн цирковірусу другого типу розміром 80 п.н., які використані за валідації методики ПЛР-РЧ для детекції ДНК ЦВС 2.

Проведені комісійні випробування даної тест-системи і показано високий рівень чутливості - 100 % виявлення ДНК ЦВС 2 у патологічному матеріалі за її концентрації від 5×10^4 ГЕ/см³ і вище, специфічність 100 % (виявлення виключно ДНК ЦВС 2 у патологічному матеріалі), що дозволяє її використання у системі діагностичних досліджень ЦВС.

На основі розроблених тест-систем проведено епізоотологічний моніторинг, якій довів, що загальний рівень серопревалентності досліджених ($n=6836$) диких свиней до вірусу хвороби Ауєскі за період 2001–2013 рр. становив 15,04 %, а в розрізі регіонів України цей показник був вищим у центральному регіоні – 18,78 %, порівняно з західним – 14,8 %, південним – 14,07 %, північним – 15,33 %, східним – 12,3 % регіонами. Титри антитіл у сироватках крові були: $\min - 3 \log_2$, $\max - 10 \log_2$, $M \pm m - 4,31 \pm 0,05 \log_2$, домінуючий – $3 \log_2$, що свідчить про високий рівень циркуляції вірусу у популяції диких свиней України.

В той же час стосовно ЦВС 2 доведено, що загальний рівень серопревалентності досліджених ($n=6820$) диких свиней вірусу за 2001–2013 рр. становив 31,51 %, а в розрізі регіонів України цей показник був майже аналогічним – західному 31,38 %, південному 32,59 %, північному 30,71 %, східному 30,1 %, центральному 33,07 %. Титри антитіл у сироватках крові були: $\min - 2 \log_2$, $\max - 10 \log_2$, $M \pm m - 5,3 \pm 0,04 \log_2$, домінуючий – $4 \log_2$.

Рівень серопревалентності домашніх свиней до ЦВС 2 також був подібним до диких свиней і становив 25,98 %, що свідчить про високий рівень циркуляції вірусу у популяції диких свиней України.

Крім монореакції у 455 (6,68 %) сироватках крові виявлено наявність специфічних антитіл до декількох патогенів у такому співвідношенні: одночасно проти двох патогенів – хвороби Ауєскі і хвороби Тешена – 119 (1,75 %),

хвороби Ауєскі і ЦВС 2 – 145 (2,13 %), хвороби Ауєскі і РРСС – 14 (0,21 %), хвороби Тешена і ЦВС 2 – 133 (1,95 %), ЦВС 2 і РРСС – 28 (0,41 %); одночасно проти трьох патогенів – хвороби Ауєскі, хвороби Тешена і ЦВС 2 – 7 (0,1 %), хвороби Ауєскі, ЦВС 2 і РРСС – 2 (0,03 %), що дає підставу стверджувати про асоційований перебіг інфекцій або інфікування диких свиней впродовж життя.

Висновки

Таким чином, нами розроблені тест-системи і запропонована система моніторингу вірусних хвороб диких свиней, яка включає аналіз епізоотичної ситуації, особливості прояву хвороб (Ауєскі, Тешена, цирковірусної інфекції, репродуктивно-респіраторного синдрому, африканської чуми) у популяції диких свиней, необхідну вибірку при відборі зразків, їх серологічні, вірусологічні, молекулярно-генетичні дослідження та розробку методології досліджень, яка дозволяє контролювати зазначені інфекції, що відповідає вимогам МЕБ.

Список літератури

1. Nedosekov V. Infectious animal pathology: problems and prospects / V. Nedosekov // International scientific electronic journal Earth Bioresources and Quality of Life. – 2012. – № 1. – Режим доступу: <http://gchera-ejournal.nubip.edu.ua/index.php/ebql/article/view/14>.
2. Недосеков В. В. Современная эпизоотология: эмерджентные и полимикробные болезни / В. В. Недосеков, Е. А. Краснобаев // Биоресурсы планеты: социальные, биологические, продовольственные и энергетические проблемы: мат. конф. – Киев, 2008. – С 190–197.
3. Ситюк М. П. Епізоотологічний моніторинг поширених вірусних хвороб свиней у популяції диких кабанів на території України / М. П. Ситюк. – Київ: Аграрна наука, 2014. – 135 с.
4. Гавриленко А. В. Епідемічна діарея свиней: підходи до профілактики та контролю / А. А. Гавриленко, В. В. Недосеков // Ветеринарна медицина України. – 2015. – № 8. – С. 7–10.
5. Макаров В. В. Доказательная эпизоотология (evidence based epizootology) / В. В. Макаров, В. В. Недосеков // Ветеринарна біотехнологія. – 2010. – № 17. – С. 143–150.
6. Makarov V. V. Epidemic polymorphism and control of African swine fever / V. V. Makarov, V. A. Grubyy, V. V. Nedosekov // International scientific electronic journal Earth Bioresources and Quality of Life. – 2013. – № 1. – Режим доступу: <http://gchera-journal.nubip.edu.ua/index.php/ebql/issue/current>.
7. African swine fever: how can global spread be prevented? / S. Costard et al. // Phil. Trans. R. Soc. – 2009. – V. 364 (1530). – P. 2683–2696.

МОНИТОРИНГ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ДИКИХ СВИНЕЙ В УКРАИНЕ

Н. Ситюк, В. Мисниченко, В. Недосеков

В статье изложены данные относительно обоснования системы мониторинга вирусных болезней в популяции диких свиней Украины (болезни Ауески, болезни Тешена, цирковиральной инфекции, репродуктивно-

респираторного синдрома африканской чумы), а также результаты серологических, вирусологических, молекулярно-генетических исследований указанных патогенов.

Определены показатели серопревалентности (за 2001–2013 гг.) с уровнем специфических антител в сыворотках крови диких свиней. Так, по результатам серологических исследований 6836 сывороток крови отобранных от диких свиней с территорий 375 районов, определено общую серопревалентность их к вирусу болезни Ауески на уровне 15,04 %, к вирусу болезни Тешена – на уровне 19,94 %, к цирковирусу второго типа – на уровне 31,51 %, к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней – на уровне 2,38 %. Из 270 исследованных образцов патологического материала от диких свиней, выявлено специфическую ДНК цирковируса 2-го типа у 80-ти образцах (41,0 %). Молекулярно-генетические исследования с секвенированием полного генома 23 изолятов цирковируса второго типа свидетельствуют о том, что филогенетически обозначенные изоляты принадлежат к 2-м генотипам и группам 1A, 1B, 1C, 2D.

Ключевые слова: дикие свиньи, африканская чума, репродуктивно-респираторный синдром, цирковирусная инфекция, болезнь Ауески, болезнь Тешена, серологический мониторинг

MONITORING VIRAL DISEASE OF WILD BOARS IN UKRAINE

M. Sytiuk , V.Misnichenko, V. Nedosekov

In work describes the new data about monitoring viral diseases in the population of wild pigs Ukraine (African swine fever, reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease, Teschen disease, circovirus infection), and the results of serological, virological, molecular genetic studies these pathogens and presents the development of their diagnosis.

During the period 2001–2013 in various regions of Ukraine in terms of districts, regions and hunting seasons set seroprevalent parameters the level of specific humoral antibodies in the blood serum of wild boars to the above pathogens. From pathological material of wild and domestic pigs were selected isolates of African swine fever, Teschen disease, circovirus infections, Aujeszky disease, reproductive and respiratory syndrome of pigs and learned their cultural and molecular genetic properties.

Keywords: *wild pigs, African swine fever, reproductive and respiratory syndrome, circovirus infection, Aujeszky's disease, Teschen disease, serological monitoring*