УДК 619:616-07/616-084:636.4

ШЛЯХИ УДОСКОНАЛЕННЯ ВЕТЕРИНАРНИХ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ БОРОТЬБИ З ТЕШО- ТА ЕНТЕРОВІРУСНИМИ ХВОРОБАМИ СВИНЕЙ

Дерев'янко С.В.

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна
E-mail: biopreparat@mail.ru

У статті розглянуто питання удосконалення діагностики та специфічної профілактики тешо- й ентеровірусних хвороб свиней. Показано необхідність розробки ветеринарних імунобіологічних препаратів на основі природних поліантигенних і штучно створених рекомбінантних штамів вірусів з міжтиповими та міжвидовими антигенними властивостями, що дозволить захистити тварин від інфікування збудниками тешо- й ентеровірусів свиней різних серотипів та удосконалити діагностику інфекційних хвороб.

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

Тешо- та ентеровіруси відіграють значну етіологічну роль у захворюванні 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, окрім ентеровірусів, є парво-, реовіруси, гемаглютинуючий енцефаломієлітний вірус, *Bordatella bronchiseptica, Actinomyces pyogenes, Pasteurella multocida, Actinobacilus pleuropneumonie, Mycoplasma, Proteus mirabilis, Ervinia 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 прояву 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 збудники цих хвороб нових серотипів. У 1971 р. у результаті вивчення антигенних властивостей 72 європейських, американських та японських штамів ентеровірусів свиней (ЕВС), Dunne H. et al. згрупували їх у 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 рішення 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*, які віднесені до роду *Enterovirus* [38, 41].

R. Zell 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 виділяють 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 є ентеровіруси свиней 1-го серотипу [15] (згідно останньої міжнародної класифікації – тешовіруси свиней 1 серотипу, ТВС-1). Однак, німецькими дослідниками Loss K., Witte K. та Auerbach J. встановлено, що симптоми поліоенцефаломієліту у свиней можуть обумовлювати не тільки ЕВС першого серотипу, а й представники 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 – пневмоній [12, 22, 29, 32, 78] (згідно класифікації В.П. Романенко з співавт. [27]) Ентеровірусний гастроентерит свиней супроводжується пневмонією у 32 %, ураженням центральної нервової системи – у 20 % і мертвонародженням у свиноматок – у 25 % випадків [21], а пневмонія – іноді гастроентеритами [22, 29].

Таким чином, виходячи з літературних даних, 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, і у випадках, коли не вдалося виділити вірус, 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 комплементу [1, 28], дифузної преципітації [16, 43], імунофлюоресценції (РІФ) [20] та імуноферментний 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 імунофлуоресценції. Ними також розроблено метод прискореної ідентифікації вірусу. В основу методу 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 флуоресціюючі імуноглобуліни до них. Поєднуючи чутливість ІФ методу і специфічність РН вірусу, набори дозволяють вставити 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 збудників 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 тест-системи ІФА [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 вірусного антигену [5]. При цьому роботу доцільно зосередити таким чином: 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 у відповідності до міжнародних вимог [37].

Потребують удосконалення і вакцини. Вірусвакцина проти хвороби Тешена свиней на основі виробничого штаму «Перечинський-642» ентеровірусу свиней 1-го серотипу розроблена В.П. Романенко ще в 1979 р. Застосовується й інактивована вакцина на основі штаму «Закарпатський» ентеровірусу свиней 1-го серотипу, розроблена О.В. Сергеєвим у 1979 р. Для виготовлення цих вакцин використовують штами ентеровірусів свиней, виділені у 70-х рр. минулого сторіччя, які здатні захищати тварин від інфікування збудниками хвороби лише першого серотипу. Крім того, зважаючи на еволюційні зміни збудника, варто звернути увагу на антигенну спорідненість вакцинних та епізоотичних

штамів тешовірусів свиней. Так, за даними А.І. Бузун, існує два підтипи збудника хвороби Тешена свиней в межах першого серотипу. Виробничі (вакцинні та діагностичні) штами вірусів, виділенні в 60-70-х рр. XX століття, утворювали першу підгрупу, а епізоотичні штами, виділенні в 90-х рр. – другу. У перехресній реакції нейтралізації вірусу встановлено антигенну різницю між підгрупами, яка склала 10-15 %, а за коефіцієнтом нейтралізації підгрупи відрізнялися 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 з використанням нових штамів тешовірусів свиней «Навля-96» та «ХДЗВА-Б» [6, 7]. Проте, недоліком таких вакцин є те, що вони нездатні захищати 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.

Таким чином, 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. При аналізі літературних даних та результатів наших досліджень показано необхідність розробки засобів діагностики і специфічної профілактики на основі природних поліантигенних і штучно створених рекомбінантних штамів вірусів з міжтиповими та міжвидовими антигенними властивостями, що дозволить захистити тварин від інфікування збудниками тешо- й ентеровірусів свиней різних серотипів та удосконалити діагностику інфекційних хвороб свиней.

1. А.С. N 1086809 СССР, С 12 N 7/00 Способ диагностики энтеровирусного гастроентерита 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. N 1007226 СССР, 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. Электронная микроскопия вирусных инфекций поросят /Беланко Л.В., Ястребов А.С., Мирская Т.А. //Ветеринарная наука производству. – 1988. – № 26. – С. 12-16.

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

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

6. Пат. 65803 А, Україна, 7 А61К39/00. Асоційована вакцина інтрадермального застосування проти Тешенської хвороби та псевдосказу свиней //Бузун А.І., Головко В.О., Романенко В.П. та ін. /№ 2003054835; заявл. 27.05.2003, опубл. 15.04.2004, Бюл. № 4.

7. Пат. 67064 А, Україна, 7 А61К39/29, А61К39/04,.С12N1/20, С12N7/00. Вакцинний штам «Буча-ХДЗВА» *Teschovirus suis* збудник ензоотичного енцефаломієліту свиней (тешенської хвороби) //Бузун А.І., Головко В.О., Вербицький П.І., Бузун Л.В. /№ 2003065773; заявл. 23.06.2003, опубл. 15.04.2004, Бюл. № 4.

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

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

10. Бова Т.О. Методичні підходи до створення тест-системми для визначення антитіл до вірусу хвороби Тешена свиней на основі ТІФА /Бова Т.О., Дерев'янко С.В., Сорока В.І., Бокун А.О. //Наук. вісник Львівської нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького. – 2004. – Т. 6, № 2. – Ч. 1. – С. 3-8.

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

12. Романенко В.Ф. 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., Полевік О.І., Бабіч Н.В., Дерев'янко С.В., Романенко В.П. //Наук. вісник Львівської держ. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького. – 2000. – Т. 2. – Ч. 1. – С. 166-168.

14. Романенко В.П. Ентеровіруси і їх значення в патології свиней

/В.Ф. Романенко //Вісник аграрної науки. – 1996. – № 7. – С. 48-52.

15. Романенко В.П. Хвороба Тешена. – К.: Уро-жай, 1974. – 80 с.

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

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

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

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

20. Романенко В.Ф. Иммунофлуоресцентный метод диагностики энзоотического энцефаломиелита свиней /Романенко В.Ф., Прусс О.Г., Купневская Л.В. [и др.] //Ветеринария. – 1982. – № 4. – С. 69-70.

21. Романенко В.Ф. Этиология энтеровирусного гастроэнтерита свиней /Романенко В.Ф., Полевик Е.И. //Ветеринария. − 1992. − № 3. − С. 29-30.

22. Романенко В.П. Вірусологічні дослідження та критерії визначення етіології ентеровірусної пневмонії свиней /Романенко В.П., Пінчук І.М. //Вісн. аграрн. науки. − 1993. − № 4. − С. 25-27.

23. Романенко В.П. Деякі біологічні особливості поліантигенних штамів ентеровірусів свиней /Романенко В.П., Дерев'янко С.В. //Наук. вісник нац. аграрн. ун-ту. – 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 /Синицин В.А. /Нац. аграрн. ун-т. – К., 1999. – 38 с.

25. Слободенюк В.К. Диагностика смешаных инфекций при пневмонии свиней /В.К. Слободенюк [и др.] // Ветеринария. – 1984. – № 2. – С. 75-76.

26. Сорока В.І. Характеристика ентеровірусів, виділених від свиней /Сорока В.І., Полевік О.І., Дерев'янко С.В. //Ветеринарна медицина. – 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. Отримання специфічних сироваток до ентеровірусів свиней – збудників ентеровірусних інфекцій /Тацька В.Н., Старчеус А.П., Мельниченко О.М. //Вісн. Львівської держ. акад. вет. мед. ім. С.Ж. Гжицького. – 2000. – Т. 2, № 2. – Ч. 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 /Betts A.O. //Desiases of swine. − Jowa: State University, 1970. − Vol. 14. − P. 356-362.

32. Betts O.A. Maladies respiratore du pore /Betts A.O. //Am. med. vet. − 1972. − Vol. 116, № 4. − P. 289-302.

33. Buczek J. Serotypes of enteroviruses isolated from pigs in Poland /Buczek J., Koziol T. //Folia-Veterinaria. − 1991. − Vol. 35, № 1-2. − P. 89-97.

34. Dunne H.W. Classification of North American porcine Enteroviruses: a comparison with Europian and Japanese strains /Dunne H.W., Wang T.J., Ammermann E.H. //Infect. Immunol. − 1971. − Vol. 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.] //J. Japan Veterinary Med. Assoc. − 1990. − Vol. 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.] //J. Veterinary Med. Series B. − 1994. − Vol. 41, № 4. − P. 277-282.

37. Kaku Y. Genetic reclassification of porcine enteroviruses /Kaku Y., Sarai A. and Murakami Y. //J. Gen. Virol. − 2001. − Vol. 82. − P. 417-424.

38. Picornaviridae /King A.M.Q., Brown F., Christian [et al.] //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. – New-York, San Diego: Acad. Press, 2000. – P. 657-673.

39. Knowless N.J. Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: desciption of 3 new serotypes /Knowless N.J., Buckley L.S., Pereira H.G. //Arch. Virol. – 1979. – Vol. 62, № 3. – P. 201-208.

40. Zell R. Porcine teschovirus comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects /Zell R., Dauber M., Krumbolz A. [et al.] //J. Virol. – 2001. – Vol. 75, № 4. – P. 1620-1631.

41. Pringle C.R. Virus Taxonomy /Pringle C.R. //Arch. Virol. – 1999. – Vol. 144. – P. 421-429.

42. Honda E. 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 J. Veterinary Sci. – 1990. – Vol. 52, № 4. – P. 795-800.

43. Sulochana S. Immunodiffusion reactions ammong porcine enteroviruses and othe picornaviruses /Sulochana S., Derbyshire J.B. //Vet. Microbiol. – 1978. – № 2. – P. 205-212.

44. Witte K.H. Typisierung von 17 porzinen Enterovirusisolaten aus Polioenzephalomyelitisfallen der Jahre 1983-1991 /Witte K.H., Auerbach J., Loss K.U. [et al.] //Deutsche-Tierarztliche-Wochenschrift. – 1994. – Vol. 101, № 12. – P. 482-484.

ПУТИ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С ТЕШО- И ЭНТЕРОВИРУСНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ СВИНЕЙ

Деревянко С.В.

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН, г. Чернигов

В статье рассмотрен вопрос усовершенствования диагностики и специфической профилактики тешо- и ентеровирусних болезней свиней. Показана необходимость разработки ветеринарных иммунобиологических препаратов на основе естественных полиантигенних и искусственно созданных рекомбинантных штаммов вирусов с межтиповыми и межвидовыми антигенными свойствами, что позволит защитить животных от инфицирования возбудителями тешо- и энтеровирусов свиней разных серотипов и усовершенствовать диагностику инфекционных болезней свиней.

Ключевые слова: *тешовирусы свиней, энтеровирусы свиней, диагностика, профилактика, инфекционная болезнь.*

IMPROVEMENT WAYS OF IMMUNOLOGICAL PREPARATIONS AGAINST TESHO- AND ENTEROVIRUSES DISEASES OF PIGS

Derevjanko S.V.

Institute of Agricultural Microbiology UAAS, Chernihiv

The question of improvement of diagnostics and specific prophylaxis of tescho- and enterovirus diseases of pigs is reviewed. The necessity of development of veterinary immunobiological preparations on the basis of natural polyantigenic and the artificially created recombinant cultures of viruses with intertypical and interspecific antigen properties was demonstrated. That will allow animals protection against tesho- and enterovirus of different serotype infection and improve diagnostics of infectious diseases of pigs.

Key words: *Porcine teschovirus, Porcine enterovirus, diagnostics, preventive maintenance, infectious disease.*