

УДК 619:578.835.1

Л. М. МУЗИКІНА

Інститут ветеринарної медицини НААН

СЕРОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ЕНТЕРОВІРУСНИХ ХВОРОБ СВИНЕЙ

У статті представлений огляд методів серологічної діагностики ентеровірусів свиней, які використовуються для ідентифікації вірусів, а також визначення наявності та титрів антитіл в досліджуваних сироватках крові.

Ключові слова: серологічна діагностика, ідентифікація вірусів, антитіла.

Серологічні реакції імунітету увійшли в практику діагностики інфекційних хвороб в кінці XIX - початку XX століття. Реакції антигенів з антитілами називаються серологічними або гуморальними, тому що у них беруть участь специфічні антитіла, які знаходяться в сироватці крові. Використання реакцій імунітету з діагностичною метою засноване на специфічності взаємодії антигену з антитілом [1].

Для ідентифікації досліджуваного віруса велике значення має отримання активної специфічної в сироватки. В лабораторії імуногенетики ентеровірусів свиней ІВМ НААН специфічні сироватки на референтні штами ентеровірусів свиней ми отримуємо на кролях, а також на коні [2].

Ці сироватки використовують для ідентифікації вірусів за антигенною структурою за допомогою постановки серологічних реакцій (аглотинації, преципітації, нейтралізації, зв'язування комплементу та ін.). Отримані нами імунні діагностичні сироватки, оброблені флуоросцеїн-5-ізотіоціанатом (ФІТЦ), використовуються для експрес-діагностики ентеровірусних хвороб свиней методом імунної флуоресценції.

Серологічна діагностика інфекційних захворювань здійснюється за допомогою відомих антигенів. При цьому визначають наявність антитіл в сироватці крові хворої або обстежуваної тварини.

Наявність специфічних імунних сироваток (діагностичних) дозволяє встановити роду, виду та типу належність збудників хвороб свиней.

У лабораторній практиці з діагностичною метою використовують реакції аглотинації, преципітації, нейтралізації, зв'язування комплементу, гальмування гемаглотинації та ін.

Реакція нейтралізації (РН) є найбільш універсальною, високоспецифічною реакцією, тому вона слугує еталоном при оцінці інших реакцій в вірусології, і використовувалась в наших дослідках.

Вперше ентеровіруси свиней виділили С. Moscovici, А. Genervi, V. Mazzaraschio [3]. Широке вивчення ентеровірусів свиней розпочалось після надрукування праць [4] про виділення вірусів від свиней з клінічними ознаками ентеритів.

Починаючи з 1969 року, В.П. Романенко із співавторами проведені широкі дослідження по виявленню ентеровірусів в більшості областей України, а також в деяких областях інших республік колишнього СРСР, вивченню їх біологічних, фізико-хімічних, генетичних та інших властивостей [5, 6]. Проведена класифікація виділених ентеровірусів, в результаті якої встановлено 14 нових, раніше невідомих серотипів ентеровірусів свиней, які захищені авторськими свідоцтвами СРСР. Виділені від свиней ентеровіруси на підставі вивчення біологічних, фізико-хімічних, молекулярно-генетичних властивостей віднесені до роду Enterovirus, родини Picornaviridae [7].

В. П. Романенко у 1971 р. вперше встановив на території СРСР захворювання свиней на ензоотичний енцефаломієліт (хворобу Тешена) [8], встановив і науково обґрунтував дві нові, раніше невідомі хвороби свиней – ентеровірусний гастроентерит і ентеровірусну пневмонію свиней, які визнані в 1978 році ГУВ МСГ СРСР в якості нових нозологічних одиниць [9].

Дані хвороби свиней з масовим ураженням тварин, особливо молодих, діагностували в міжколгоспних свинокомплексах із збірним свинопоголів'ям. Хвороби супроводжувались масовим захворюванням і загибеллю тварин.

Етіологічно ентеровірусний гастроентерит обумовлюють: 2-й, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 19 і 20-й серотипи, а ентеровірусну пневмонію: 2, 3, 4, 5, 14, 16 і 17-й серотипи. Патогенні властивості 12, 15, 18, 21, 22 і 23-го серотипів ентеровірусів свиней поки що не визначені і потребують подальших досліджень [10].

Таким чином, в одних випадках в етіології захворювання свиней приймають участь різні серотипи ентеровірусів, а в різних захворюваннях – одні і ті ж серотипи ентеровірусів свиней. М. К. Ворошилова спостерігала подібне відносно ентеровірусних хвороб людей [11].

При постановці діагнозу будь-якої хвороби необхідно провести комплекс досліджень. Діагноз ставлять на основі епізоотологічних даних, клінічних особливостей перебігу хвороби, патологоанатомічних, гістологічних, вірусологічних та серологічних досліджень.

Точний діагноз ставиться тільки на основі результатів вірусологічних і серологічних досліджень.

У лабораторію направляють ректальні змиви, які збирають стерильним ватним тампоном і поміщають в пробірки з буферним розчином. Від вимушено забитих тварин відбирають шматочки вражених органів різних ділянок кишковика, а при підозрі на хворобу Тешена – шматочки головного і спинного мозку. Виділення вірусів проводять на перещеплюваних лініях культури клітин СНЕВ, ПТП, ВНК-21.

В. П. Романенко із співавт. розроблені та впроваджені у виробництво набори для діагностики ентеровірусних хвороб свиней: “Набір діагностиків ентеровірусного гастроентериту свиней”, на який одержано патент України і “Набір для діагностики ентеровірусної пневмонії свиней”, на який отримано Патент Російської Федерації [12, 13].

Для лабораторної діагностики ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней В.П. Романенко розроблено два діагностикуми: “Набір діагностиків ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для

методу імунофлуоресценції” та “Набір діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для реакції нейтралізації”.

“Набір діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для методу імунофлуоресценції” призначений для виявлення антигену (вірусу) в мазках-відбитках із патологічного матеріалу, або в культурах клітин, вирощених на покривних скельцях, заражених вірусом, виділеним з органів хворих тварин з підозрою на ензоотичний енцефаломієліт (хворобу Тешена) свиней. Для виявлення антигену вірусу ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней в умовах лабораторії використовують проби: надгортанний слиз, шматочки спинного мозку, довгастого та інших відділів головного мозку, вміст і стінку кишечника, лімфатичні вузли, шматочки внутрішніх органів і м'язів. До складу цього набору входить ліофільно висушений флуоресцентний імуноглобулін та нефлуоресцентна специфічна сироватка до вірусу хвороби Тешена свиней. Набір діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для методу імунофлуоресценції застосовують для експрес-діагностики захворювання. Даним методом діагноз отримують протягом декількох годин, при наявності в лабораторії люмінесцентного мікроскопа.

У разі нечіткого результату досліджень на ензоотичний енцефаломієліт (хворобу Тешена) свиней методом імунофлуоресценції проводять дослідження матеріалу за допомогою “Набору діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для реакції нейтралізації”, призначеного для ідентифікації вірусу хвороби Тешена свиней і титрування антитіл у сироватці крові тварин у реакції нейтралізації на культурах клітин в пробірках або на плашках. До його складу входять у ліофілізованому стані: антиген – авірулентний штам “Березнянський-652” вірусу ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней, нормальна сироватка крові коня або кроля, а також специфічна гіперімунна сироватка крові коня або кроля, отримана до референтного штаму “Березнянський-652” вірусу ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней.

Зазначені набори діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней відповідають сучасним вимогам нормативних документів, які діють в Україні щодо якості ветеринарних біопрепаратів, безпеки та охорони довкілля.

Одним із швидких методів діагностики ентеровірусних хвороб свиней є метод ретроспективного аналізу сироваток крові свиней, відібраних у вогнищах захворювання свиней. У наших дослідках відібрані проби сироваток крові від перехворілих, хворих і тих, що були з ними в контакті свиней, досліджували в реакції нейтралізації на культурах клітин з еталонними штамми ентеровірусів свиней та вірусу хвороби Тешена. Згідно рекомендацій [14], титри антитіл у сироватках крові свиней 1:32 і вище вважаються діагностичними.

При використанні готових діагностичних наборів для діагностики вище згаданих хвороб свиней нами швидко було встановлено діагноз та надано рекомендації по ліквідації виявлених ентеровірусних хвороб свиней.

Список використаної літератури

1. *Сюрин В. Н.* // Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных/ В.Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Б. В. Соловьев, Н. В. Фомина/М.: Агропромиздат – 1986 – С. 141-165.
2. Авт св-во № 1111286 В. П. Ромпаненко, Г. Г. Касьян, Л. В. Купневская “Способ получения сыворотки к вирусу болезни Тешена свиней” – 3 мая 1984 г.
3. *Moscovici C., Genervi A., Mazzaraschio V.* Izolamenta su coltura di Tissuti di un virus da enteric suina. Zooprofilassi, 1956, 1, 417-426.
4. *Enders J.F., Waller T.H., Robbins F.C.* Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues // Science, 1949.- V.109.-P.85-87.
5. *Романенко В. П.* Виділення ентеровірусів від свиней в деяких зонах УРСР// В. П. Романенко, О. Г. Прусс, В. М. Чаус/ Вісник с-г науки. - 1973. – №2 – С. 99-101.
6. *Романенко В. П.* Роль ентеровірусів в патології свиней// Мікробіол. журнал – 1973. - №3. – С. 400-401.
7. *Романенко В. Ф.* Классификация энтеровирусов свиней// В. Ф. Романенко, О. Г. Прусс, Н. В. Бабич, Е. И. Полевик, А. А. Бокун, И. Н. Пинчук/ Вісник аграрної науки. – 1993. - №1. – С. 94-101.
8. *Романенко В. П.* Хвороба Тешена// К.: Урожай. – 1974.- 80 с.
9. *Романенко В. Ф.* Энтеровирусный гастроэнтерит свиней // Ветеринария, М. - 1977. - №12. - с. 71-73.
10. *Романенко В. П.* Энтеровірусні хвороби свиней// Ветеринарна медицина України. – 2010. - №12. – С. 11-13.
11. *Ворошилова М. К.* История изучения энтеровирусных инфекций: выделение и классификация энтеровирусов //Энтеровирусные инфекции человека/ М.: Медицина, - 1979. – 357 с.
12. *Романенко В. П.* із співав. “Набір діагностикумів ентеровірусного гастроентериту свиней”. Патент України № 3687-ХІІ, Київ, 1993.
13. *Романенко В. Ф.* “Набор для диагностики энтеровирусной пневмонии свиней”. Патент Российской Федерации № 2006037, Москва, 1994.
14. *Романенко В. П.* с соавт. Рекомендации по диагностике и мерам борьбы с энзоотическим энцефаломиелитом (болезнью Тешена) свиней // Киев – 1992.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭНТЕРОВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ/ Л. Н. Музыкаина

В статье представлен обзор методов серологической диагностики энтеровирусов свиней, которые используются для идентификации вирусов, а также определения наличия и титров антител в исследуемых сыворотках крови.

Ключевые слова: серологическая диагностика, идентификация вирусов, антитела

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF ENTEROVIRUS DISEASES OF PIGS/L.
N. Muzykina

The paper presents an overview of the methods of serological diagnosis of enterovirus pigs, which are used for the identification of viruses, as well as determine the presence and titers of antibodies in the test serum.

Key words: serological diagnosis, identification of viruses, antibodies

Рецензент – кандидат ветеринарних наук **А. В. Розумнюк.**

Рукопис надійшов 26. 07. 2013р.