

УДК 636.09:591.42:636.1:616-071

В. А. СИНИЦИН, доктор ветеринарних наук,

С. А. НИЧИК, доктор ветеринарних наук,

Р. О. КАПРАЛЮК

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

ІМУНОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ В ПРОФІЛАКТИЦІ ТА ЛІКВІДАЦІЇ КЛАСИЧНОЇ ЧУМИ СВИНЕЙ

Проведені дослідження по вивченню значення та ролі імунологічного моніторингу в профілактиці та ліквідації класичної чуми свиней з застосуванням імуноферментного аналізу та методу флуоресцентних антитіл.

Ключові слова: класична чума свиней, епізоотологія, лабораторна діагностика, імуноферментний аналіз.

Класична чума свиней (КЧС) є висококонтагіозним захворюванням свиней серед усіх вікових груп, яке викликається вірусом з різним ступенем вірулентності. Сучасна лабораторна діагностика КЧС залишається актуальним питанням для її вирішення.

Відомо, що розвиток епізоотологічного процесу залежить від біологічних особливостей мікроорганізму і його взаємовідношень з макроорганізмом. При цьому вирішальну роль відіграє вірулентність збудників та імунологічна реактивність мікроорганізму.

Метою роботи було вивчити значення і роль імунологічного моніторингу в профілактиці та ліквідації класичної чуми свиней, який включає індикацію збудника в патологічних матеріалах та контроль імунного фону.

Матеріали і методи досліджень. Вірусологічні дослідження за визнаними методиками проводились з використанням наборів діагностикумів КЧС для реакції флуоресцентних антитіл (МФА) виробництва Росії та наборів діагностикумів КЧС для реакції імуноферментного аналізу (ІВМ УААН, Україна).(1, 2, 13)

Результати досліджень. Дослідження проводились у наступних напрямках: по-перше, це індикація і ідентифікація антигенів вірусу класичної чуми свиней у патологічному матеріалі від хворих свиней. Матеріали з 56 господарств України паралельно досліджували за допомогою імуноферментного методу та методу флуоресцентних антитіл. У 10-х випадках негативні результати співпадали в обох методах. В матеріалах з семи господарств у ІФА одержані позитивні результати, в МФА (мазках-відбитках) – негативні, але після проведення пасажів цього патматеріалу в культурі клітин ПК-15 також були позитивні результати.(3, 4)

Аналіз ефективності МФА – мазків-відбитків, МФА – з інокуляцією культури клітин РК-15 результатами ІФА показав, що використані лабораторні методи достатньо чутливі і специфічні при індикації антигенів вірусу класичної чуми свиней у патологічному матеріалі. Проте слід відмітити, що використання МФА з наступними пасажами дослідного матеріалу в культурі клітин РК-15 є більш ефективним. Позитивні результати лабораторних досліджень підтверджено клінічними, гематологічними, патологоанатомічними дослідженнями.

Другий напрямок досліджень це застосування методу імуноферментного аналізу для індикації антигенів вірусу КЧС у вірусній сировині при виробництві та застосуванні вакцини проти КЧС. Визначення кореляції титру антигену вірусу КЧС у вакцині с послідуєчими результатами дослідів з контрольним зараженням. (6, 7)

Найбільш активними серії вірус-вакцини були із штаму “ЛК”, яка була в межах від 1:100 до 1:1000. При титрі в ІФА 1:100 і вище вакцина забезпечувала захист свиней від захворювання класичною чумою.

Імунологічний моніторинг передбачає також індикацію збудника КЧС в об'єктах ветеринарного нагляду. Результати проведених серій дослідів показали можливість проводити індикацію вірусу КЧС методом імуноферментного аналізу за 3-4 години.

Практичний досвід роботи та наукові дослідження показують, що вакцинація проти КЧС не завжди і не в усіх тварин створює імунітет достатнього напруження. Користувалися живими культуральними вакцинами зі штамів ЛК, ЛК-К ВНДІВВіМ, КВГНКІ ветпрепаратів і лапінізованою вакциною "Лапест" Польського виробництва. (12, 14)

У зв'язку з низькою резистентністю щеплених тварин та незадовільною годівлею в ряді випадків спостерігали підвищену реактогенність деяких серій вакцин. Тому слід використовувати тільки такі серії, які пройшли контроль на нешкідливість та імуногенність загальноприйнятими методами. Щоб досягти високої специфічної ефективності живих вакцин проти КЧС, важливо дотримуватися вимог настанов щодо їх застосування. Техніка вакцинації повинна передбачати підготовчий етап, щеплення й післявакцинальне спостереження. В підготовчий період потрібно провести клінічний огляд поголів'я, яке підлягає щепленню, відібрати санітарний брак, розрахувати необхідну кількість вакцини, забезпечити асептичні умови для роботи.

Ефективність профілактичних заходів у господарствах перевіряють за допомогою постійного серологічного контролю рівня специфічних антитіл до вірусу КЧС у тварин різних технологічних груп. Для цього використовують реакцію непрямої гемаглютинації (РНГА), реакцію нейтралізації флуоресціюючих бляшок (РНФБ) із застосуванням штаму Ші-Мінь вірусу КЧС, адаптованого до культур клітин РК-15.

В ІВМ НААН розроблено експресний метод кількісної індикації специфічних антитіл та антигенів, вірусу КЧС у реакції імуноферментного

аналізу (ІФА), створено набір діагностиків класичної чуми свиней для імуноферментного аналізу. До його складу входять полістиролові мікропланшети на 96 лунок, сенсibilізовані очищеним та концентрованим антигеном вірусу КЧС, завдяки чому можна досліджувати сироватки крові свиней за 2-3 години.

Аналіз методом ІФА здійснюють у непрямому варіанті, у лунки сенсibilізованих мікропланшет вносять по 0,1 см³ специфічної (позитивної до КЧС), контрольної (негативної) та дослідні сироватки і проводять їх подвійне розведення. По тому мікропланшети інкубують 1 год при 37°C, відмивають і додають по 0,1 см³ антивидового пероксидазного кон'югату, інкубують та вносять субстратний розчин (хромоген) і спостерігають забарвлення ферментативної реакції. Результати реакції обліковують візуально, враховуючи інтенсивність забарвлення, або на автоматичному спектрофотометрі фірми "Флоу" (Великобританія).

Для вивчення ефективності профілактичних заходів проти КЧС відбирають проби сироваток крові у тварин різних технологічних груп господарств України. Напруження імунітету проти класичної чуми свиней контролюють за титром специфічних антитіл у сироватці крові, враховуючи тип вакцинного препарату, схему його застосування, вік та стан тварин.

За титром специфічних антитіл критеріями оцінки напруження імунітету були такі показники: I група - відсутність імунітету, сприйнятливість до можливого зараження - $0 - 2 \log_2 (0 - 1:4)$, імунітет слабого напруження - $3 - 4 \log_2 (1:8 - 1:16)$, імунітет достатнього напруження проти КЧС - $5 \log_2 (1:32 \text{ і вище})$.

Найвищі показники рівня антитіл при дослідженні виявилися в основних свиноматок та кнурів. Однак у деяких господарствах ці дані не збігались через порушення схем профілактичних заходів та низьку якість вакцинних препаратів.

Найвищий рівень специфічних антитіл до вірусу класичної чуми свиней одержано у разі використання вакцини Лепест (Польща), ЛК ВНДІВВіМ. Тварини з титром антитіл 1:32-1:128 витримували контрольне зараження вірусом КЧС штаму Ші-Мінь. (10, 11)

Імунітет проти КЧС у поросят-сисунів забезпечують колостральні антитіла, які надходять з молозивом. Рівень специфічних антитіл залежить від їх кількості у свиноматки. У відлученого молодняку, одержаного від вакцинованих свиноматок, наявність специфічних колостральних антитіл запобігає формуванню поствакцинального імунітету.

Отже, в результаті проведених досліджень розроблено набір діагностичних компонентів для імуноферментного аналізу при класичній чумі свиней. Метод імуноферментного аналізу пройшов міжвідомчу комісійну перевірку та виробничі іспити в обласних лабораторіях ветеринарної медицини України та СНД. Головним управлінням ветеринарної медицини затверджено нормативну технічну документацію на виробництво та контроль набору діагностиків (ІФА-КЧС, ТУУ 46-15;045-94). Для конт-

ролю ефективності здійснення профілактичних заходів у свинарських господарствах потрібний постійний серологічний контроль за рівнем специфічних антитіл проти КЧС у тварин різних технологічних груп.

У 2004 році на базі Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів м. Київ проведено згідно «Положенню про проведення контролю та нагляду за якістю ветеринарних препаратів, субстанцій, готових кормів та кормових добавок, та засобів ветеринарної медицини, які застосовуються в Україні, що затверджено наказом Державного департаменту ветеринарної медицини № 39 від 28.05.03 р. та зареєстровано в Міністерстві юстиції України за №480/7801 від 12.06.03р., випробування вітчизняного «Набору діагностикумів класичної чуми свиней для імуноферментного аналізу» серія №7 з метою перевірки чутливості, специфічності та методики апаратного обліку. При випробуванні використовували стандартизовані позитивні сироватки до вірусу класичної чуми свиней, які були вакциновані різними вакцинами КЧС (АСВ, ЛК, ЛК-М) та відібрані на 10, 14, 15, 18, 19 добу, а також були використані негативні сироватки від невакцинованих тварин. Попередньо зразки сироваток перевірені та стандартизовані в тест-системі фірми IDEXX (США)

Чутливість «Набору діагностикумів класичної чуми свиней для імуноферментного аналізу» виробництва інституту ветеринарної медицини м. Київ, визначали у відсотках по співвідношенню позитивно реагуючих сироваток до дійсно позитивних сироваток і складала 98 %. (8, 9)

Специфічність визначалась у відсотках по співвідношенню негативно реагуючих сироваток до дійсно негативних сироваток і складала 100%.

Таким чином встановлено, що розроблений вітчизняний «Набір діагностикумів КЧС для ІФА» є високочутливим та специфічним і відповідає вимогам ТУ У.

Висновки. У результаті проведених досліджень науково обґрунтована та експериментально розроблена система імунологічного моніторингу при КЧС, яка включає комплекс діагностичних тестів, які забезпечують індикацію збудника захворювання в патологічному матеріалі, об'єктах доквілля, прижиттєве виявлення хворих чумою носіїв вірусу, визначення імунного фону при КЧС.

Список використаної літератури

1. Вишняков И. Ф. Классическая чума свиней / И. Ф. Вишняков, Н. К. Мищенко, В. В. Куриннов и др. // Ветеринария – 1998. – №11. С. 16-22.
2. Кирилов В.И. Результаты изучения напряженности иммунитета при классической чуме свиней в хозяйствах Украины с помощью метода иммуноферментного анализа / В. И. Кирилов, А. И. Собко, М. П. Голик, В. А. Синицин //Классическая чума свиней - неотложные проблемы науки и практики: Матер. науч.-практ. конф. ВИИВВиМ. –Покров,1995. -С.91.
3. Куриннов В. В. Средства и методы дифференциальной лабораторной диагностики классической чумы свиней / Куриннов В. В. //Вестн. РАСХН. –

1999. – №3. – С. 55-59.

4. *Синицин В. А.* Діагностика класичної чуми свиней методом імуноферментного аналізу / Синицин В. А. // Вет. медицина України. – 1999. – №1. – С. 14-15.

5. *Синицин В. А.* Серологічний контроль ефективності профілактики класичної чуми свиней / Синицин В. А. // Тваринництво України. – 1996. – №2. – С. 17

6. *Синицин В. А.* Метод імуноферментного аналізу для діагностики класичної чуми свиней / Синицин В. А. // Вісник Білоцерківського Державного аграрного університету. – Біла Церква. – 1998. -Вип.7. -Ч.1 - С.85-88.

7. *Синицин В. А.* Діагностика класичної чуми свиней методом імуноферментного аналізу / Синицин В. А. // Сільські обрії. – 1995. – N 1-2. – С.38-39.

8. *Синицин В. А.* Набір вітчизняних препаратів для експресної діагностики класичної чуми свиней / Синицин В. А., Прискока В. А., Собко А. І. // Аграрна наука – виробництво – К., УААН. – 1998. – N 3. – С.20.

9. *Синицин В. А.* Розробка методу імуноферментного аналізу для контролю напруги імунітету при вакцинації свиней проти класичної чуми свиней, хвороби Ауескі та бешихи / В. А. Синицин, А. І. Собко, В. А. Прискока, М. Г. Остапець, Є. В. Резуненко, В. І. Кирилов, Л. А. Пантелейчук, О. Я. Трясоруб // Тез. доп. наук.-практ. конф. "Збереженість молодняка с.-г. тварин – запорука розвитку тваринництва України". – Харків, 1994. – С.45-46.

10. *Синицин В. А.* Діагностика классической чумы свиней методом иммуноферментного анализа / Синицин В. А. // Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы: Матер. Междунар. науч. конф. – Харьков, 1995. -С.263-266.

11. *Синицин В. А.* Діагностика классической чумы свиней методом иммуноферментного анализа / Синицин В. А. // Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики: Матер науч.-практ. конф. ВИИИВВиМ. – Покров, 1995. -С.75.

12. *Сюрин В. Н.* Вирусные болезни животных. / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. – М.: ВНИГИБП, 1998. – 918 с.

13. *Clavijo A.* Development and evolution of a novel antigen capture assay for the detection of classical Swine fever virus antigens. / A. Clavijo, E. M. Zhou, S. Vydelynhum, R. Heckert. // Veter. Microbiol. – 1998. – Vol. 60, № 2/4. – p. 155-168.

14. *Priskoka V. A.* The use of immunofermentive analysis for antigen determination in classical swine fever (CSF) vaccines / V. A. Priskoka, I. K. Avalosjeva, V. A. Synycyn // Proc. Third ESVV Symposium on pestivirus Infection, Netherlands, Lelystad. – 1996. – P. 112.

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В ПРОФИЛАКТИКЕ
ТА ЛИКВИДАЦИИ КЛАСИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ / В. А. Синицин,
С. А. Нычик, Р. О. Капралюк.**

Проведены исследования по изучению значения и роли иммунологического мониторинга в профилактике и ликвидации классической чумы свиней с использованием диагностикумов для метода иммуноферментного анализа и метода флуоресцирующих антител.

Ключевые слова: классическая чума свиней, эпизоотология, лабораторная диагностика, иммуноферментный анализ.

**IMMUNOLOGICAL MONITORING IN THE PREVENTION AND
ERADICATION OF CLASSICAL SWINE FEVER/ V. Sinitsin, S. Nychyk,
R. Kapraluk.**

The studies have been carried out on the importance and role of immunological monitoring in hog cholera prophylaxis and eradication using diagnosticums for ELISA and fluorescent antibody test.

Key words: classical swine fever, epizootiology, laboratory diagnostics, ELISA test.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук В. В. Уховський

Рукопис надійшов 24. 07. 2013р.