

УДК 636.09:616.98:599.731.1:578.82/.83:57.083.33(477)

М. П. СИТЮК, кандидат ветеринарних наук
Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

СКРИНІНГ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДИКИХ КАБАНІВ З ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ НА ПРЕДМЕТ ВИЯВЛЕННЯ РНК ВІРУСУ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ МЕТОДОМ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

У статті представлені результати лабораторних досліджень біологічного матеріалу (суспензії селезінок і лімфатичних вузлів) від диких кабанів, відстріляних на території України, на предмет виявлення РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней.

Ключові слова: вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней, дикі кабани, біологічний матеріал, полімеразна ланцюгова реакція в режимі реального часу

Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (РРСС) – поширена вірусна хвороба свиней, яку вперше було зареєстровано у 1985-1987 роках в Північній Кароліні (США) [199] та Канаді [2, 3]. У 1991 році було виділено специфічний збудник [2, 4]. Відтоді РРСС реєстрували у Німеччині, Нідерландах, Англії (1991 р), Франції та Іспанії (1992 р.), Данії, Японії (1994 р.) [4, 5], Росії (з 1993 р.) [2], в Україні [6], Білорусі [7], Вірменії [8]. На сьогодні вірус РРСС класифікується на два генотипи: американський і європейський, які мають певну географічну належність [2, 9, 10], а саме американський генотип циркулює у країнах Європи, а європейський – в США і Південно-Східній Азії [2, 10 - 12].

З метою діагностики РРСС використовуються методи виявлення антитіл та антигену. Для виявлення антитіл до вірусу РРСС використовують імунопероксидазний метод (ІРМА) [13], імуноферментний аналіз (ІФА), реакція нейтралізації (РН) та імунофлюоресценції (НРІФ) [14 - 17].

Детекцію вірусу РРСС проводять у культурі клітин альвеолярних макрофагів свиней, а також шляхом виявлення РНК методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі [18].

В епізоотологічному відношенні вчені вважали, що дикі кабани є головним джерелом поширення вірусу РРСС. Однак, при дослідженні сироваток крові від диких кабанів у різних країнах було виявлено низьку серопревалентність цих представників дикої фауни до вірусу РРСС [19 - 24].

Вивченню інфекційних хвороб серед диких кабанів вченими приділяється незначна увага в силу різних причин, одна з яких – складність проведення моніторингових досліджень в їх популяції.

Метою досліджень було визначити ймовірність присутності РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней у біологічному матеріалі від диких кабанів, відстріляних на території України з максимальним охопленням районів і областей.

Матеріальні методи дослідження. Наукові дослідження проводилися сумісно між РУП «Інститут експериментальної ветеринарії» ім. С. М. Вишелеского та ІВМ НААН України згідно договору № 12 від 10.12.2012 року про науково-технічне

співробітництво. В лабораторії вірусних хвороб свиней РУП «Інститут експериментальної ветеринарії» ім. С.М. Вишелеского на предмет виявлення РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней були досліджені від диких кабанів з території України зразки біологічного матеріалу (змішані у рівних об'ємах суспензії органів – селезінка та лімфатичні вузли) від кожної тварини. Зразки біологічного матеріалу були відібрані з урахуванням критерію відбору проб з максимальним охопленням областей України, де відстрілювалися кабани. Всього було досліджено 195 зразків, відібраних у 85-ти районах 16-ти областей України.

У дослідках були використані "Тест-система для виявлення вірусу репродуктивного і респіраторного синдрому свиней методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі", виробництва «Ветбіохім, Росія, м. Москва»; ампліфікатор для проведення ПЛР «в реальному часі» (BioRadIQ-5, США); центрифуга «Biofugerpmo» на 15000 об/хв., (ThermoFisher, Німеччина); дозатор одноканальний з перемінним об'ємом («Ленпіпет», Росія); дозатор восьмиканальний з перемінним об'ємом («Ленпіпет», Росія); змінні наконечники до автоматичних дозаторів (ThermoFisherScientific); гігрометр психрометричний («Віт-1», Україна).

Результати досліджень. Всього досліджено 195 зразків суспензій біологічного матеріалу від диких свиней, які були відстріляні на території мисливських угідь 85-ти районів 16 областей на предмет наявності РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней. Результати проведених досліджень наведені в таблиці.

Таблиця

Результатискринінгових досліджень біологічного матеріалу від диких кабанів на предмет виявлення РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.

№ п/п	Назва області	Кількість				Позитивних зразків від числа досліджених, %
		досліджених районів	районів з виявленими позитивними зразками	досліджених зразків	позитивних зразків	
1	А.Р. Крим	4	0	17	0	0,0
2	Волинська	7	0	18	0	0,0
3	Дніпропетровська	3	0	11	0	0,0
4	Донецька	5	0	10	0	0,0
5	Житомирська	12	1	35	1	2,9
6	Запорізька	3	0	9	0	0,0
7	Івано-Франківська	3	0	6	0	0,0
8	Кіровоградська	1	0	2	0	0,0
9	Луганська	7	1	21	1	4,8
10	Львівська	9	0	23	0	0,0
11	Полтавська	8	0	11	0	0,0
12	Сумська	2	0	6	0	0,0
13	Харківська	1	0	1	0	0,0
14	Черкаська	8	0	9	0	0,0
15	Чернігівська	8	0	8	0	0,0
16	Чернівецька	4	0	8	0	0,0
	Всього	85	2	195	2	1,0

Результати молекулярно-генетичних досліджень суспензій біологічного матеріалу від диких свиней методом ПЛР в режимі реального часу відносно вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней свідчать про виявлення двох позитивних зразків, щосклало 1,0 % від 195-ти досліджених. Позитивні зразки суспензій біологічного матеріалу диких свиней, в яких була виявлена РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней, походили від диких кабанів (самці) відстріляних на територіях Житомирської та Луганської областей, а саме у Новоград-Волинському (Курчицьке лісництво) та Станично-Луганському (ДП "Станично-Луганське ОЛОХ", Малинівське лісництво) районах відповідно. На території інших областей у зразках біологічного матеріалу від диких кабанів РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней не було виявлено. Найбільшу кількість зразків було досліджено з територій наступних областей: Житомирської – 35, Львівської – 21, Луганської – 21, Волинської – 18, А.Р. Крим – 17. Меншу кількість зразків було досліджено на територіях таких областей: Дніпропетровської – 11, Полтавської – 11, Донецької – 10, Запорізької – 9, Черкаської – 9, Чернігівської – 8, Чернівецької – 8, Івано-Франківської – 6, Сумської – 6. У таких областях, як Кіровоградська і Харківська було досліджено 2 і 1 проба відповідно. Результати проведених досліджень показали, що відсоткові показники виявлених позитивних зразків від числа досліджених були на рівні 2,9 % у Житомирській та 4,8 % у Луганській областях.

Обговорення. Слід відмітити, що повідомлення про виявлення репродуктивно-респіраторного синдрому свиней на території України були у з 1994 [6], у Росії – з 1993 [2], Білорусі – з 1999 [7] років [8]. Одержані в нашому досліді результати свідчать про наявність у біологічному матеріалі від диких кабанів РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней – у двох зразках з 195 досліджених. Раніше одержані нами дані відносно виявлення специфічних антитіл проти вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней в сироватках крові диких кабанів свідчили про низький рівень їх серопревалентності – 1,8 % [24], що підтверджуються даними інших авторів [19 - 23].

Порівнюючи результати проведених нами досліджень біологічного матеріалу від диких кабанів з території Полтавської області, де показано наявність ДНК вірусу в 83,33 % зразках (дані річного звіту лабораторії хвороб свиней та біотехнології за 2012 рік) з результатами стосовно детекції РНК вірусу РРСС, слід висловити думку про те, що цирковірус 2-го типу більш поширений в популяції дикого кабана на території України ніж вірус РРСС.

Висновки. Результати досліджень зразків біологічного матеріалу від диких свиней з території 80-ти районів 16-ти областей України свідчать про виявлення РНК вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней у двох зразках з 195-ти досліджених. Такий, на перший погляд, низький показник щодо виявлення РНК вірусу РРСС все ж таки доводить факт присутності вірусу у популяції дикого кабана на території України.

Враховуючи вище зазначені результати в **перспективах подальших наукових досліджень** необхідно зосередити нашу увагу на генотипуванні зразків РНК вірусу РРСС та шляхом секвенування з філогенетичним аналізом з'ясувати, наскільки вони подібні з ізолятами, які циркулюють серед поголів'я домашніх свиней.

Подяка. Автор статті висловлює глибоку вдячність дирекції і колективу співробітників РУП «Інститут експериментальної ветеринарії» ім. С.М. Вишелеского за надану можливість у проведенні молекулярно-генетичних досліджень.

Список використаної літератури:

1. Effect of vaccination against classical swine fever on pigs recently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus / S. Del Castillo, F. Camejo, M. Ghersi [et al.] // 5th Int. Symp. On Emerging and Re-emerging Pig Diseases. – Krakow, Poland, 2007. – P.220.
2. Кукушкин С. А. Эпизоотология и меры борьбы с репродуктивно-респираторным синдромом свиней в мире и в Российской Федерации / С.А. Кукушкин // Ветеринар. патология. – 2006. – № 4. – С. 89–95.
3. Antibodies to PRRS virus in serum banks of Ontario swine (1978-1982) / S. Carman, S.E. Sanford, S. Dea // Proc. 14th Int. PigVet. Soc. Congr. – Bologna, Italy, 1996. – P. 76.
4. Репродуктивный и респираторный синдром свиней // Вирусные болезни животных / В. Н Сюрин, А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьев, Н. В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 552–558.
5. Средства лабораторной диагностики репродуктивного и респираторного синдрома свиней / Т. В. Гребенникова, А. Д. Забережный, Е. А. Непоклонов // Ветеринария. – 2005. – № 10. – С. 24-26.
6. Ассоциированные вирусные инфекции при патологии воспроизводства свиней / О. Е. Краснобаева, Е. А. Краснобаев, Е. Г. Павлов [и др.] // Пробл. и перспективы паразитологии: матер. 5 межсъезд. конф. паразитологов Украины. – Харьков - Луганск, 1997. – С. 92-93.
7. Генетическое разнообразие вируса РРСС / А. В. Щербаков, В. Ф. Ковалишин, В. А. Пыльнов [и др.] // Актуал. пробл. инфекц. патологии животных : материалы Междунар. науч. конф., посвящен. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2003. – С. 150-155.
8. Проявление репродуктивно-респираторного синдрома свиней в Армении/ Х. В. Саркисян, А. С. Оганян, Т. Э. Гаспарян [и др.] // Актуал. пробл. инфекц. патологии животных : материалы Междунар. науч. конф., посвящен. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». –Владимир, 2003. –С. 92-94.
9. Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates / S. Dea, C.A. Gagnon, H. Mardassi [et al.] // Archives of Virology. –2000, Vol. 145. – P. 659-688.
10. The genetic diversity of European type PRRSV is similar to that of the North American type but is geographically skewed within Europe / R. Forsberg, T. Storgaard, H.S. Nielsen [et al.] // Virology. – 2002. – Vol. 299, N 1. – P. 38-47.
11. Experimental infection of pigs with European-like (type 1) PRRS virus isolates of U.S. origin / S. Lawson, Y. Fang, R.R.R. Rowland [et al.] // Proc. 2005 International PRRS Symposium. –St. Louis, Missouri, 2005. – P. 42.
12. Molecular epidemiology of EU-genotype PRRSV in Europe: clues to PRRSV emergence, and implications for disease control / T. Stadejek, M.B. Oleksiewich, A.V. Scherbacov [et al.] // 5thInternational Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases. – Krakow, Poland, 2007. – P. 135-136.
13. Botner A. Diagnosis of PRRS / A. Botner // Vet. Microbiol. - 1997. - Vol. 55, № 1-4. – P. 295-301.

14. Выявление антител к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней в сыворотках крови в реакции нейтрализации / В.Л. Гаврилова, Т.З. Байбиков, А.А. Гусев, Н.С. Дудникова // Пробл. инфекц. патологии жив-х : тез. докл. конф., посвящен. 100-летию открытия вирусаящура. – Владимир, 1997. – С.116-117.

15. Albina E. PRRS – Porcine reproductive and respiratory syndrome / E. Albina // Pig Progress. – 1998. – June. – P. 22-25.

16. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus / E. Albina, Y. Leforban, T. Baron [et al.] // Ann. Rec. Vet. – 1992. – Vol. 23. – P. 167-176.

17. Slow-reacting and complement-requiring neutralizing antibody in swine infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus / E.R. Jusa, Y. Inaba, M. Kouno [et al.] // J. Vet. Med. Sci. – 1996. – Vol. 58, № 8. – P. 749-753.

18. Pesch S. Real time PCR for the strain specific detection of PRRS viruses/ S. Pesch, V.F. Ohlinger // 5th Int. Symp. On Emerging and Re-emerging Pig Diseases. – Krakow, Poland, 2007. – P. 193.

19. Analysis of wild boar (*Sus scrofa*) meat juice for porcine circovirus type 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) / A. Szczotka, K. Podgorska, M. Fabisiak, T. Stadejek // 5th Int. Symp. On Emerging and Re-emerging Pig Diseases. – Krakow, Poland, 2007. – P. 89.

20. Lutz W. Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Viren des Seuchenhaften Spataborts, der Aujeszky'schen Porzine Parvoviren beim Wildschwein / W. Lutz, R. Wurm // Z. Jagdwissenschaft. – 1996. – Bd. 42. – S. 123-133.

21. Prevalence of antibodies against the viruses of European swine fever, Aujeszky's disease and "porcine reproductive and respiratory syndrome" in wild boars in the federal states Sachsen-Anhalt and Brandenburg / U. Oslage, J. Dahle, T. Muller [et al.] // Dtsch. tierärztl. Wochenschr. – 1994. – Bd.101, № 1. – S. 33-38.

22. Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia / Z. Zupancic, B. Jukic, M. Lojkic [et al.] // J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public. Health. – 2002. – Vol. 49. – P. 253-256.

23. Saliki J. T. Sero survey of select ed viral and bacterial diseases in wild swine from Oklahoma / J. T. Saliki, S. J. Rodgers, G. Eskew // J. Wildl. Dis. – 1998. – Vol. 34, № 4. – P.834-838.

24. Результаты исследований сывороток крови диких кабанов с территории украены на предмет обнаружения специфических антител против вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней / Н. П. Ситюк, С. А. Нычик, П. А. Красочко, Н. Ф. Ероховец // Ветеринария сегодня. – 2013. – № 3 (6). – С. 36-41.

**СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДИКИХ КАБАНОВ
С ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ НА ПРЕДМЕТ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК
ВИРУСА РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ / Ситюк Н. П.**

В статье представлены результаты лабораторных исследований биологического материала (суспензии селезенки и лимфатических узлов) от диких кабанов, отстрелянных на территории Украины, на предмет выявления РНК вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Ключевые слова: вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней, дикие кабаны, биологический материал, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

SCREENING OF BIOLOGICAL MATERIAL WILD BOARS FROM UKRAINE TO IDENTIFY VIRAL RNA REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS BY POLYMERASE CHAIN REACTION
/ M. Sytiuk

The article presents the results of laboratory studies of biological material (slurry spleen and lymph nodes) from wild boars hunted in the territory of Ukraine, to identify viral RNA reproductive and respiratory syndrome virus.

Key words: reproductive and respiratory syndrome virus, wild boars, biological material, polymerase chain reaction in real time

Рецензент: доктор ветеринарных наук **В. А. Синицин**

Рукопис надійшов 25.02.2013 р.