

УДК 619:636.09:616.98:578.82/.83
© 2014

М.П. СИТЮК,
кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини
НААНУ, м. Бровари, Україна
E-mail: snp1978@ukr.net

ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ПОСТІНФЕКЦІЙНИХ НЕЙТРАЛІЗУЮЧИХ АНТИТІЛ У СИРОВАТКАХ КРОВІ ДИКИХ КАБАНІВ ПРОТИ ВІРУСУ РЕПРОДУКТИВНО- РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ

Наведено дані щодо виявлення специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней в сироватках крові диких свиней, відстріляних на території України в 2001–2013 рр. Представлено показники досліджених зразків сироваток крові від диких кабанів по сезонах полювання, отримані імунопероксидазним тестом у реакції нейтралізації з використанням перещеплюваної культури клітин MARC-145. Визначено серопревалентність диких свиней до вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней та співвідношення титрів нейтралізуючих антитіл в їх сироватках крові.

Ключові слова: репродуктивно-респіраторний синдром свиней, дикі кабани, імунопероксидазний тест у реакції нейтралізації, титри антитіл.

Відомо, що наукові дослідження диких тварин є трудомісткими, витратними, але з епізоотологічної точки зору – важливими. Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (РРСС) – поширене вірусне захворювання, на яке хворіють домашні свині. Відносно ролі диких кабанів у поширенні репродуктивно-респіраторного синдрому свиней інформативні наукові дані були неоднозначними.

За результатами проведених моніторингових досліджень одні вчені доводили низьку серопревалентність диких свиней [1–5], однак інші дослідники взагалі не реєстрували специфічних антитіл в організмі кабанів до вірусу РРСС [6–9].

Окрім серологічних моніторингових досліджень, вченими Німеччини та Італії було виявлено ДНК вірусу РРСС за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [10, 11]. На території України серологічний моніторинг РРСС у популяції диких кабанів проводиться в лабораторії хвороб свиней та біотехнології IBM НААН, де за попередніми даними методом імуноферментного аналізу (ІФА) було

встановлено низьку серопревалентність диких кабанів до даного захворювання [12].

Серед засобів серологічної лабораторної діагностики РРСС використовують ІФА [11], реакцію нейтралізації та імунопероксидазний тест у реакції нейтралізації [13–19]. Перед нами **стояла мета** дослідити сироватки крові диких свиней, відстріляних на території України в сезони полювання 2001–2013 рр., визначити у позитивних сироватках крові рівень нейтралізуючих антитіл проти вірусу РРСС.

Об’єкт та методика досліджень. Від відстріляних диких кабанів у різних лісомисливських угіддях областей України досліджено 6817 зразків сироваток крові. Наявність специфічних гуморальних антитіл проти вірусу РРСС у сироватках крові диких кабанів визначали імунопероксидазним тестом у реакції нейтралізації згідно з методикою [20]. Для цього були використані: перещеплювана культура клітин MARC-145, референтний вірус РРСС штаму “Lelystad” з інфекційною активністю $10^{5.5}$ Іг ТЦД₅₀/см³, позитивна сироватка крові проти вірусу РРСС штаму “Lelystad” з титром

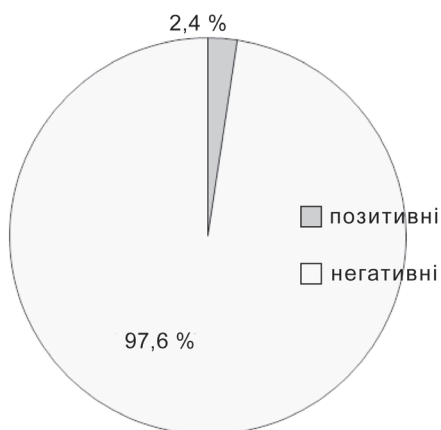


Рис. 1. Відсоток позитивних до вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней сироваток крові диких кабанів від числа досліджених

специфічних антитіл 1:1920 – одержані з Національного ветеринарного Інституту м. Пулави, Польща; поживні середовища – DMEM – кат. № E 15-883, серія № E 88311-1758 виробництва РАА, Австрія; фетальна сироватка крові великої рогатої худоби – кат. № A 15 151, серія № A 15111-3719 виробництва РАА, Австрія; розчин версену кат. № P080, серія № 42 виробництва ПанЕко, Росія; розчин трипсину 0,25 % на фосфатному буфері для культур клітин, серія № 41, контроль № 41 виробництва ТОВ НВП “Біо-Тест-Лабораторія”.

Згідно з літературними даними [19], у дослідженнях за діагностичний титр антитіл

вважали рівень 1:4 і вище. У нашій роботі титри антитіл були виражені у двократних розведеннях та логарифмах з основою 2 (Log_2).

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами проведеного серологічного моніторингу було досліджено сироватки в 76,3 % районів всіх областей України. У сезони полювання 2001–2002 рр. було досліджено 48 % областей; 2002–2003 рр. – 56 %; 2003–2004 рр. – 76 %; 2004–2005 рр. – 80 %; 2005–2006 рр. – 48 %; 2006–2007 рр. – 88 %; 2007–2008 рр. – 72 %; 2008–2009 рр. – 84 %; 2009–2010 рр. – 100 %; 2010–2011 рр. – 56 %; 2011–2012 рр. – 100%; 2012–2013 рр. – 96 %.

Результати проведених серологічних досліджень підтверджують, що загальний показник серопревалентності популяції диких свиней щодо вірусу РРСС становить 2,38 % від числа досліджених тварин, а в розрізі регіонів України цей показник дорівнює у західних 2,08 %, південних 2,24 %, північних 2,46 %, східних 3,07 % та центральних областях – 2,13 %.

Показники серологічної превалентності диких свиней до вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней за результатами 12-річного моніторингу представлені на рис. 1.

Усього з досліджених зразків сироваток крові диких кабанів на наявність специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней позитивними до даного вірусу виявлено 162, негативними – 6655 сироваток крові.

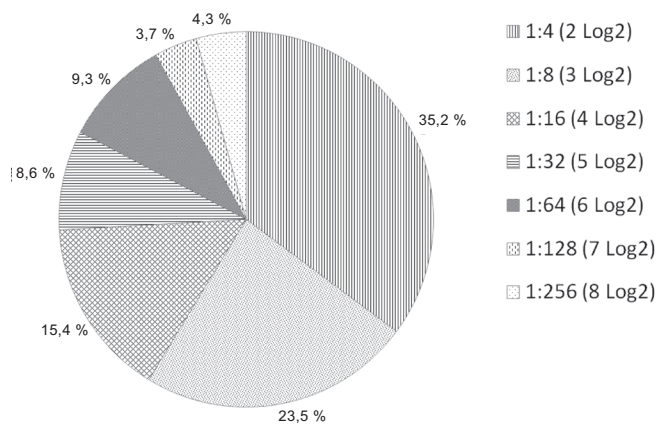


Рис. 2. Співвідношення показників титрів специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней у сироватках крові диких кабанів

Крім того, було визначено титр специфічних гуморальних антитіл у цих сироватках крові з подальшим їх зіставленням та аналізом (рис. 2).

За результатами проведених досліджень співвідношення титрів антитіл серед позитивно реагуючих сироваток крові 57 зразків мали титри антитіл 1:4 (2 Log₂); 38 зразків – 1:8 (3 Log₂); 25 зразків – 1:16 (4 Log₂); 14 зразків – 1:32 (5 Log₂); 15 зразків – 1:64 (6 Log₂); 6 зразків – 1:128 (7 Log₂); 7 зразків – 1:256 (8 Log₂). Підкреслимо, що середньо-

арифметичний рівень антитіл в сироватках крові диких свиней становив $1:30,25 \pm 4,35$, при цьому домінуючим титром антитіл був рівень 1:4.

Викладений структурний розподіл рівня специфічних нейтралізуючих антитіл у сироватках крові диких свиней свідчить про різноманітність імунного статусу цих представників дикої фауни до вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней та ступінь їх інфікованості.

Висновки

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що вірус РРСС не має значного поширення серед диких свиней, оскільки вони наділені низькою серопревалентністю. Аналогічні результати визначені й іншими дослідниками [1–9]. І, можливо, високий рівень антитіл у сироватках крові диких свиней вказує на розвиток активного інфекційного процесу, бо вони безпосередньо контактують у природних умовах з живим вірусом.

Оскільки нам не відомі доза зараження ві-

русом тварин, його вірулентність, перебіг захворювання, на нашу думку, утворення таких рівнів антитіл в організмі диких свиней ймовірно обумовлено інфікуванням цих представників дикої фауни польовим вірусом у часі.

Подальші наукові дослідження необхідно проводити в напрямку виділення ізолятів вірусу репродуктивно-респіраторного синдрому свиней з біологічного матеріалу від диких кабанів з вивченням їх культуральних, вірулентних та молекулярно-генетичних особливостей.

Бібліографія

1. Zimmerman J.J. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: epidemiology // Trends in Emerging Infections of Swine / Ed. by A. Morilla, K. J. Yoon, J. J. Zimmerman. – Ames, Iowa, 2002. – P. 331–337.
2. 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. tierarztl. Wochenschr. – 1994. – Bd. 101, № 1. – S. 33–38.
3. 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.
4. A serological survey on classical swine fever (CSF), Aujeszky's disease (AD) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infections in French wild boars from 1991 to 1998 / E. Albina, A. Mesplede, G. Chenut [et al.] // Vet. Microbiol. – 2000. – Vol. 77. – P. 43–57.
5. Antibodies to selected viral and bacterial pathogens in European wild boars from southcentral Spain / J. Vicente, L. Leon-Vizcaino, C. Gortazar [et al.] // J. Wildl. Dis. – 2002. – Vol. 38, № 3. – P. 649–652.
6. 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.
7. 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. Lojic [et al.] // J. Vet.

- Med. B Infect. Dis. Vet. Public. Health. – 2002. – Vol. 49. – P. 253–256.
8. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: The effect on wild boar female reproductive performance / *F. Ruiz-Fons, J. Vicente, D. Vidal* [et al.] // *Theriogenology*. – 2006. – Vol. 65, № 4. – P. 731–743.
9. *Vengust G.* A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia / *G. Vengust, Z. Valencak, A. Bidovec* // *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public. Health*. – 2006. – Vol. 53. – P. 24–27.
10. Presence of PRRSV in wild boar in Italy / *P. Bonilauri, G. Meriardi, M. Dottori, I. Barbieri* // *Vet. Rec.*, 2006. – Vol. 158, № 3. – P. 107–108.
11. PRRSV, PCV2, Influenza, and other pathogens of the respiratory tract in feral pigs from Germany – prevalences and peculiarities / *G. Reiner, H. Willems, I. Hack* [et al.] // 5th Int. Symp. On Emerging and Re-emerging Pig Diseases. – Krakow, Poland, 2007. – P. 183.
12. Выявление специфических антител в сыворотке крови к вирусу PRCU у диких кабанов на территории Украины / *Н.П. Ситюк, С.А. Нычик, П.А. Красочко, Н.Ф. Ероховец* // *Эпизоотология. Иммунология. Фармакология. Санитария: междунар. науч.-практич. журн.* – 2014. – № 1. – С. 34–38.
13. Антитела к вирусу репродуктивно-го и респіраторного синдрому свиней в сыворотках свиней / *Л.Ю. Вергун, З. Пейсак, Ю.А. Собко, А.Т. Шиков* // *Ресурси і віруси : матеріали IV Міжнар. конф. (Київ, 27–30 вер. 2004 р.)*. – К., 2004. – С. 40–41.
14. Porcine reproductive and respiratory syndrome [Electronic resource]. – Mode of access : http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.07_PRRS.pdf. – Title from the screen.
15. *Done S.H.* Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): a review, with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects / *S.H. Done, D.J. Paton, M.E. C. White* // *British veterinary Journal*. – 1996. – № 152. – P. 153–174.
16. The probability of transmission of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSv) to naive pigs via fresh meat // *EFSA Journal*. – 2005. – № 239. – P. 1–85.
17. *Yoon K.J.* Diagnosis of PRRS Virus [Electronic resource] / *K.J. Yoon, J. Christopher-Hennings, E.A. Nelson*. – Mode of access: <http://proposal.pork.org/filelibrary/SwineHealth/2003PRRSCompndium/PRRSchapter7.pdf>. – Title from the screen.
18. *Liu S.* Development of confirmatory testing strategies for suspect false PRRS-positive reactors in diagnostic serology / *Siyuan Liu*. – Ames, Iowa : Iowa State University, 2010. – 84 p.
19. Laboratory diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection / *J. Collins, S. Dee, P. Halbur* [et al.] // *Swine Health and Production*. – 1996. – Vol. 4, № 1. – P. 33–35.
20. Застосування імунопероксидазного тесту для вірусологічної та серологічної діагностики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней: метод. рекомендації / *[М.П.Ситюк, І.В.Артемченко, В.І. Білоконь, Л.В. Осмоловська]*. – Ніжин: Лисенко М.М., 2014. – 35 с.

Рецензенти – доктори ветеринарних наук,
професори **В.П. Риженко, О.А. Ткаченко**