

спорідненості серовару *Yersinia enterocolitica* O5 із сероварами *Yersinia enterocolitica* O3 та O6.30. Не встановлено антигенної спорідненості сероварів O9 та O8 із іншими сероварами ієрсиній.

Перспективи подальших досліджень. Розробка вітчизняних засобів для серологічної діагностики ієрсиніозів, викликаних *Yersinia enterocolitica*.

VARIATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES AND MUSEUM STRAINS ANTIGENICALLY RELATED OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Obuhovska O., Dragut S., Chebanyuk I., Ramazanova T., Kutzenko V., Marchenko N.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

Intestinal yersiniosis registered in almost all countries in Europe, Africa, Asia, the U.S., Canada and other countries. A large spread of intestinal yersiniosis in our country and abroad gives reason to believe that this infection carries a significant role in the pathology of animals and humans. In Ukraine, intestinal yersiniosis is currently being studied enough, so research in experimental conditions, cultural, biochemical and antigenic properties of Yersinia enterocolitica, in particular serovars O3, O5, O6.30, O8, O9 is relevant. And the development of domestic resources for diagnosis yersiniosis animals is the most important focus of the specialists of veterinary science today.

The paper presents the study of the variability of the data and the biological properties of the antigenic relatedness museum strains Yersinia enterocolitica. Selected clones of Yersinia production serovars O3, O5, O6.30, O8, O9. Studied their culture, biochemical and antigenic properties. Set antigenically related Yersinia enterocolitica serotype O5 serovars with Yersinia enterocolitica O3 and O6.30. Whereas antigenically related serovars O8 and O9 with other serovars of Yersinia is not revealed. Developed by laboratory regulations for the manufacture of components of the kit for the diagnosis of yersiniosis animals.

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, antigenically related, serological diagnosis; agglutination.

УДК 636.09:616.98:578.82/.83:57.083.33:591.111.8:599.731.1

ПОКАЗНИКИ РІВНЯ ПОСТІНФЕКЦІЙНИХ НЕЙТРАЛІЗУЮЧИХ АНТИТІЛ ПРОТИ ЦИРКОВІРУСУ СВИНЕЙ ДРУГОГО ТИПУ У СИРОВАТКАХ КРОВІ ДИКИХ СВИНЕЙ

Ситюк М.П.

Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ, e-mail: snp1978@ukr.net

У статті наведені дані щодо виявлення специфічних нейтралізуючих антитіл проти цирковірусу свиней другого типу у сироватках крові диких свиней, відстріляних на території України за період 2001–2013 роки. Дослідження сироваток крові диких свиней проводили імунопероксидазним тестом у реакції нейтралізації з використанням перещеплюваної культури клітин SK-6. Визначено серопревалентність диких свиней до цирковірусу свиней другого типу та співвідношення титрів нейтралізуючих антитіл в їх сироватках крові.

Ключові слова: цирковірус свиней другого типу, дикі свині, імунопероксидазний тест у реакції нейтралізації, титри антитіл

У переважній більшості випадків науковці досліджують інфекційну патологію насамперед у продуктивних тварин, які є життєво необхідним джерелом харчування людини. Меншу увагу приділяють вивченню інфекційної патології серед диких тварин. Однак відомо, що останні є важливим об'єктом при поширенні багатьох інфекційних хвороб, у тому числі і транскордонних. Наукові дослідження диких тварин є трудомісткими, витратними, але з епізоотологічної точки зору – важливими. Цирковірусна інфекція свиней – поширене вірусне захворювання, на яке хворіють домашні свині, а збудник захворювання – цирковірус другого типу циркулює і в стадах диких свиней.

Цирковірус свиней вперше був виявлений у 1974 році, охарактеризований у 1982 році [6]. На сьогодні відомо 2 типи цирковірусу свиней [3, 16] – перший тип (PCV1) є контамінантом культур клітин [10], а другий тип (PCV-2) є патогенним для свиней [12, 14, 18].

Вперше цирковірусна інфекція свиней була зареєстрована в Канаді у 1991 році [10]. В епізоотологічному відношенні дана хвороба поширена у Європі, Азії, Африці, Північній і Південній Америці [9].

Для виявлення PCV-2 застосовують імуноферментний аналіз (ELISA) [10, 4], метод флюоресціюючих антитіл (IFA) [17], полімеразної ланцюгової реакції (PCR) [5, 9, 10] та імунопероксидазний тест у реакції нейтралізації (NPLA) [15, 13].

За даними [11] антитіла до PCV-2 у крові досліджених свиней з різних країн Європи реєструвалися у 25–98 % випадків, а за даними [10] – на рівні від 55-100 %. Титри антитіл у сироватках

крові домашніх свиней методом флюоресціюючих антитіл реєструвалися на рівні від 6 до 16 log₂ [17], а імунопероксидазним тестом – від 6,8 до 12,4 log₂ [13].

Також є дані щодо виявлення специфічних антитіл до PCV-2 у сироватках крові диких свиней. Одні джерела свідчать про серопревалентність свиней на рівні 18,1 % [7], 33-37 % [10], інші – 33-98 % [11]. Зазвичай літературних даних стосовно вивчення інфекційних хвороб, у тому числі і цирковірусної інфекції, у популяції диких свиней замало, а тому ці питання потребують з епізоотологічної точки зору детального та розширеного дослідження.

Мета роботи. Визначити рівень специфічних гуморальних антитіл проти цирковірусу свиней другого типу у сироватках крові диких свиней.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у лабораторії хвороб свиней та біотехнології IBM НААН України. Всього досліджено 6820 зразків сироваток крові, зібраних за період 2001–2013 років від диких свиней, відстріляних у різних лісомисливських угіддях районів областей України. Дослідження щодо наявності специфічних гуморальних антитіл проти цирковірусу другого типу у сироватках крові диких свиней проводили імунопероксидазним тестом у реакції нейтралізації згідно методики [2]. У дослідженнях були використані: перещеплювана культура клітин SK-6, референтний вірус PCV-2 штам «Stoon 1010», позитивна сироватка крові проти вірусу PCV-2 – одержані з Національного ветеринарного Інституту м. Пулави, Польща; поживні середовища – DMEM – каталожний № E 15-883, серія № E 88311-1758, виробництва PAA, Австрія; фетальна сироватка крові великої рогатої худоби виробництва PAA, Австрія каталожний № A 15-151, серія № A 15111-3719, та виробництва SIGMA, США серія № 041M3395; розчин версену каталожний № 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».

У сироватках крові диких свиней визначали титри антитіл проти цирковірусу другого типу та враховували їх рівень від 1:4 і вище. Титри антитіл були виражені у двократних розведеннях та логарифмах з основою 2 (log₂).

Результати роботи. За результатами проведеного серологічного моніторингу було досліджено 6820 зразків сироваток у 76,3 % районів всіх областей України. У сезони полювання 2001-2002 років було досліджено 6,3 %, 2002-2003 (6,9 %), 2003-2004 (17,3 %), 2004-2005 (22,0 %), 2005-2006 (10,4 %), 2006-2007 (28,2 %), 2007-2008 (23,7 %), 2008-2009 (32,7 %), 2009-2010 (47,6 %), 2010-2011 (17,1 %), 2011-2012 (54,3 %), 2012-2013 (54,7 %) адміністративних районів.

Результати проведених серологічних досліджень вказують на те, що загальний показник серопревалентності популяції диких свиней щодо цирковірусу свиней другого типу становить 31,51 % від числа досліджених тварин, а у розрізі регіонів України цей показник складав: у західних областях 31,83 %, південних 32,59 %, північних 30,71 %, східних 30,10 % та центральних 33,07 %.

Показники співвідношення позитивних сироваток крові диких свиней до негативних щодо цирковірусу свиней другого типу за результатами 12-річного моніторингу (2001–2013 рр.) представлені на рисунку 1.

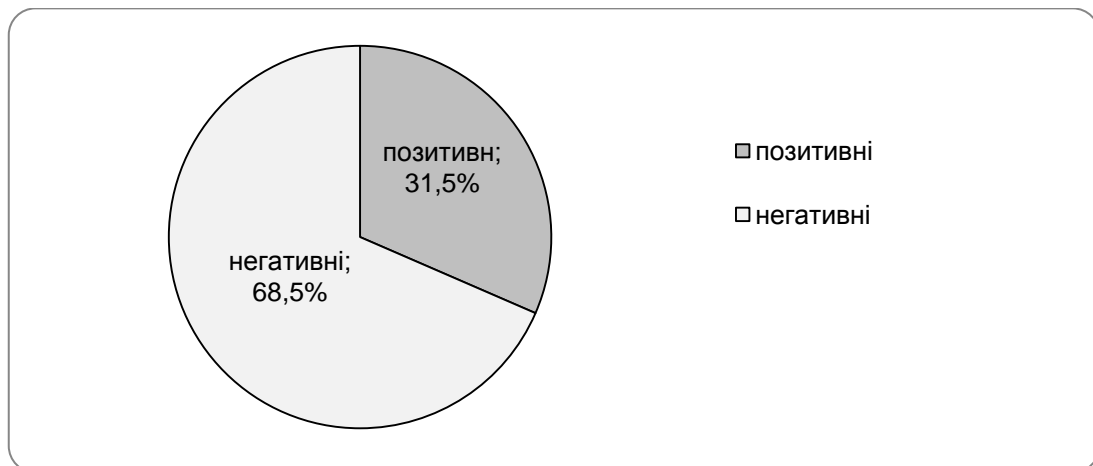


Рис. 1. Визначення відсотка позитивних до цирковірусу свиней другого типу сироваток крові диких свиней від числа досліджених

Всього у реакції нейтралізації нами було досліджено 6820 зразків сироваток крові диких свиней на наявність специфічних нейтралізуючих антитіл проти цирковірусу свиней другого типу. Позитивними до даного вірусу виявилися 2149, а негативними – 4671 сироваток крові. Крім того було проведено подальшу наукову роботу у напрямку визначення титру специфічних гуморальних антитіл у сироватках крові з подальшим їх співставленням та аналізом (рис. 2).

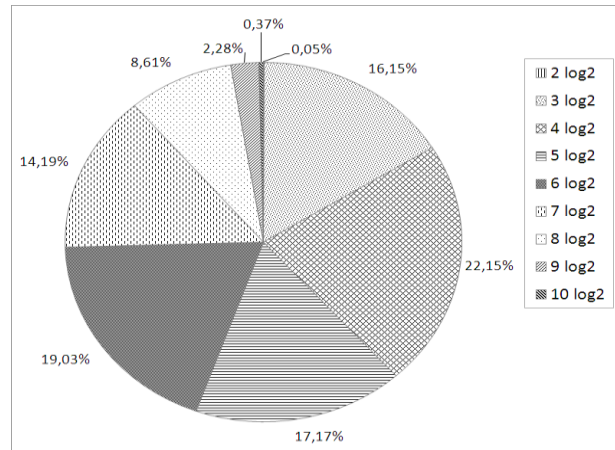


Рис. 2. Співвідношення показників титрів специфічних нейтралізуючих антитіл проти цирковірусу свиней другого типу у сироватках крові диких свиней.

На рисунку 2 зображено співвідношення титрів специфічних нейтралізуючих антитіл проти цирковірусу свиней другого типу у сироватках крові диких свиней. За результатами проведених досліджень співвідношення титрів антитіл серед 2149 зразків позитивно реагуючих сироваток крові було таким: 0,05 % сироваток крові (1 зразок) мали титри антитіл 2 log₂; 16,15 % (347 зразків) – 3 log₂; 22,15 % (476 зразків) – 4 log₂; 17,17 % (369 зразків) – 5 log₂; 19,03 % (409 зразків) – 6 log₂; 14,19 % (305 зразків) – 7 log₂; 8,61 % (185 зразків) – 8 log₂; 2,28 % (49 зразків) – 9 log₂; 0,37 % (8 зразків) – 10 log₂.

Середньоарифметичний рівень антитіл в сироватках крові диких свиней становив $(5,3 \pm 0,04 \text{ log}_2)$, при цьому домінуючим титром антитіл був рівень 4 log₂.

Вищезазначений структурний розподіл рівня специфічних нейтралізуючих антитіл в сироватках крові диких свиней свідчить про різноманітність імунного статусу цих представників дикої фауни до цирковірусу свиней другого типу та ступінь їх інфікованості. Одержані результати свідчать про контакт диких свиней в природних умовах з живим вірусом, а високий рівень антитіл в їх сироватках крові можливо свідчить про розвиток інфекційного процесу.

Висновки. 1. За результатами проведених досліджень виявлено, що серед 6820 досліджених сироваток крові від відстріляних диких свиней 2149 (31,5 %) зразків були позитивними до цирковірусу другого типу.

2. Одержані нами дані свідчать про інфікування цих представників дикої фауни польовим вірусом та поширення його у стадах диких свиней.

3. Неоднорідність показників рівня антитіл у сироватках крові диких свиней проти цирковірусу другого типу мабуть пов'язана з низкою факторів – вірулентністю вірусу, дозою зараження вірусом, реактивністю організму.

Враховуючи вищезазначене, у подальшій перспективі наукових досліджень необхідно проводити дослідження в напрямку виділення ізолятів цирковірусу свиней другого типу з біологічного матеріалу від диких свиней з вивченням їх культуральних, вірулентних та молекулярно-генетичних особливостей.

Список літератури

1. Блоцька О. Ф. Цирковірусна інфекція свиней // Вет. медицина України. – 2008. – № 12. – С. 21–22.
2. Застосування імунопероксидазного тесту для вірусологічної та серологічної діагностики цирковірусної хвороби свиней : метод. рекомендації / М. П. Ситюк [та ін.]. – Ніжин : Лисенко М. М., 2014. – 28 с.
3. Инфекционная патология животных : в 2 т. / под ред. А. Я. Самуйленко [и др.]. – М. : ИКЦ "Академкнига", 2006. – Т. 1. – С. 886–888.
4. ИФА для выявления антител к цирковирусу свиней второго типа / М. А. Шкаева [и др.] // Ветеринария. – 2005. – № 9. – С. 20–23.
5. Малооголовкин А. С. Выделение цирковируса свиней 2-го типа от поросят с синдромом мультисистемного истощения отъемышей / А. С. Малооголовкин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2009. – № 2. – С. 27–30.
6. Малооголовкин А. С. Проблема цирковиральных инфекций в патологии животных и человека / А. С. Малооголовкин // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 30–31.
7. Мониторинг инфекционных болезней среди диких кабанов / А. В. Щербаков [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2007. – Т. 52, № 3. – С. 29–33.
8. Неволько О. М. Результати серологічних моніторингових досліджень щодо цирковірусної інфекції серед свійських свиней на території України за період 2010–2014 рр. / О. М. Неволько, М. П. Ситюк // Наук. вісн. вет. медицини : зб. наук. пр. – Біла Церква, 2013. – С. 40–45.
9. Орлянкин Б. Г. Цирковиральная инфекция свиней / Б. Г. Орлянкин [и др.] // Ветеринария с.-х. животных. – 2006. – № 12. – С. 17–21.
10. Орлянкин Б. Г. Цирковиральная инфекция свиней и меры борьбы с ней / Б. Г. Орлянкин // Ветеринария с.-х. животных. – 2005. – № 2. – С. 18–20.
11. Цирковиральные болезни свиней (ЦВБС) / В. И. Семенов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2009. – № 5. – С. 8–10.

12. Allan G. M. Porcine circoviruses: a review / G. M. Allan, J. A. Ellis // J. of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2000. – N 12. – P. 3–14.
13. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease / P. Meerts [et al.] // BMC Veterinary Research. – 2006. – Vol. 2. – P. 6.
14. Dulac G. Porcine circoviruses antigens in PK 15 cell line (ATCC CCLL 33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs / G. Dulac, A. Afshar // Canad. J. of Veterinary Research. – 1989. – Vol. 53. – P. 431–433.
15. Fort de Puig M. Characterization of Immune Responses to Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Infection and Vaccination in Pigs / Fort de Puig M. – Bellaterra : Facultat de veterinaria de Barcelona, 2009. – 149 p.
16. Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV-2) and nonpathogenic PCV 1 in weanling pigs / M. Fenau [et al.] // J. of Virology. – 2003. – Vol. 77. – P. 11232–11234.
17. Lyoo K. S. Virologic, epidemiologic, and prophylactic investigation on porcine circovirus type 2 infection in pigs / K. S. Lyoo. – Mode of access : http://conservancy.umn.edu/bitstream/53718/1/Lyoo_umn_0130E_10499.pdf. – Title from the screen.
18. The Circoviridae // Virus taxonomy. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / F. A. Murphy [et al.]. – Vienna and New York : Springer Verlag, 1995. – P. 166–168.

INDICATORS OF LEVEL POSTINFECTION NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE TWO IN THE BLOOD SERUM OF WILD BOARS

Sytiuk M.P.

Institute of veterinary medicine NAAS of Ukraine, Kiev

Goal. Determine the level of specific humoral antibodies against circovirus type two in the blood sera of wild boars.

Materials and methods. In total, 6820 blood sera collected for the period 2001–2013 years of hunted wild boars in different regions of Ukraine. Research on the presence of specific humoral antibodies against circovirus type two in the blood sera of wild boars conducted by immunoperoxidase test in neutralization reaction. The studies were used: continuous cell cultures SK-6, the reference virus PCV-2 strain «Stoon 1010»; positive serum against PCV-2 virus; growing medium - DMEM; fetal serum of cattle; versene solution; 0.25 % trypsin solution. Antibody titers were expressed two-fold dilution and log with base 2 (log₂).

Results. Total neutralization reaction we investigated 6820 blood sera of wild boars for the presence of specific neutralizing antibodies against circovirus type two between 2001 and 2013 years, on the territory 76.3 % of districts in all regions of Ukraine. Positive sera to the virus identified 2149 and negative - 4671. Submitted ratio titers of specific neutralizing antibodies against porcine circovirus type two in sera of wild boars was: 0.05 % blood sera (1 sample) had titers of 2 log₂; 16.15 % (347 samples) – 3 log₂; 22.15 % (476 samples) – 4 log₂; 17.17 % (369 samples) – 5 log₂; 19.03 % (409 samples) – 6 log₂; 14.19 % (305 samples) – 7 log₂; 8.61 % (185 samples) – 8 log₂; 2.28 % (49 samples) – 9 log₂; 0.37 % (8 samples) – 10 log₂. Average level of antibodies in the sera of wild boars become (5,3 ± 0,04 log₂), and dominant – 4 log₂.

Conclusions. 1. According to the results of the investigations showed that among 6820 blood sera from hunted wild pigs in 2149 (31.5 %) samples were positive for circovirus type two.

2. Our data indicate that infection field virus these wildlife species and spread it in herds of wild pigs.

3. Heterogeneity indicators of the level of antibodies in the sera of wild pigs against circovirus second type may be due to several factors - the virulence of the virus, the dose of virus infection, reactivity organism.

Keywords: porcine circovirus type two, wild boars, immunoperoxidase test in neutralization reaction, antibody titers.

УДК 619:616.98:578.831.1:636.5

ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕПІЗООТИЧНИХ ВЕЛОГЕННИХ І МЕЗОГЕННИХ ШТАМІВ ВІРУСУ НЬЮКАСЛЬСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІЗОЛЬОВАНИХ В УКРАЇНІ

Стегній А.Б.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті наведені результати досліджень біологічних властивостей велогенного та мезогенного епізоотичних вірусів ньюкаслської хвороби, які були ізолювані від курей в різні роки та в різних регіонах України. Встановлено індекс інтрацеребральної патогенності, визначена патогенність за середнім часом загибелі КЕ, патогенність для дорослих курей, вивчені клінічні ознаки та патологоанатомічні зміни. За результатами досліджень визначено можливість використання цих вірусів в якості контрольних і вакцинних штамів.

Ключові слова: вірус, ньюкаслська хвороба, клінічні ознаки