УДК 636.09:612.017:616.98:578.835:57.083.33:591.111.8(477)

СИТЮК М.П., канд. вет. наук, e-mail:snp1978@ukr.net
Інститут ветеринарної медицини НААН України

ІМУННИЙ СТАТУС ПОПУЛЯЦІЇ ДИКИХ СВИНЕЙ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ ЩОДО ХВОРОБИ ТЕШЕНА ЗА РІВНЕМ СПЕЦИФІЧНИХ ВІРУСНЕЙТРАЛІЗУЮЧИХ АНТИТІЛ

У статті наведені дані щодо виявлення специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу хвороби Тешена в сироватках крові диких свиней, відстріляних на території України в період 2001-2011 років. Підраховано та представлено показники загальної серопревалентності диких свиней до вірусу хвороби Тешена та співвідношення титрів віруснейтралізуючих антитіл в їх сироватках крові. Визначення рівня специфічних гуморальних антитіл проти вірусу хвороби Тешена в сироватках крові диких свиней проведено за допомогою мікрометоду реакції нейтралізації з використанням перещеплюваної культури клітин СНЕВ.

Ключові слова: хвороба Тешена, дикі свині, реакція віруснейтралізації, титри антитіл.

Постановка проблеми. Наукові дослідження у популяціях різних представників дикої фауни, в тому числі і диких свиней, є складними у виконанні. Водночас саме ці дослідження з погляду епізоотології інфекційних хвороб, коли існують біологічно подібні види тварин, птахів, риб в аспекті господарювання людини та природного «дикого» циклу існування, є вкрай важливими. Враховуючи зазначене вище, вивчення статусу превалентності популяції диких кабанів на території України до ряду поширених вірусних хвороб свиней вважаємо актуальним. В дослідженні представлені результати визначення серопревалентності диких свиней до вірусу хвороби Тешена.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Хвороба Тешена (ензоотичний енцефаломієліт) – вірусне захворювання свиней, що характеризується енцфаломієлітом і паралічами [1]. Вперше ензоотія хвороби була зареєстрована у містечку Tezen (Чехія) у 1930 році [1, 2]. Відтоді захворювання реєструвалося в країнах Європи, Північної і Південної Америки, Африки, Азії та Австралії. Збудником хвороби Тешена свиней є РНК-вірус з родини *Picornaviridae*, роду *Enterovirus* [5, 6], що належить до 1-го серотипу ентеровірусів свиней [4, 7]. Сприйнятливі до цього вірусу тільки домашні та дикі свині здебільшого у віці від 2 до 10 місяців. У підсисних поросят та свиней старше 1-го року захворювання реєструється рідко [1, 5]. Джерело збудника інфекції – це тварини в інкубаційний період захворювання, клінічно і латентно хворі, а також перехворілі, які є вірусоносіями [5]. Факторами передачі вірусу є повітря, заражений корм, питна вода, підстилка, предмети догляду, забруднені виділеннями хворих тварин, м'ясо і м'ясні продукти від хворих і перехворілих тварин, відходи боєнь та їдалень. Також можливе механічне перенесення вірусу людьми, тваринами, у т.ч. птахами, транспортом, предметами догляду [5, 8, 10]. Хворі тварини виділяють вірус у навколишнє середовище із калом, сечею, слиною [5]. В дослідах Романенка В.П. показано, що в перші 3-4 доби захворювання вірус виділяється із фекалій хворих тварин у 25-30 % випадків [5]. Перехворювання свиней супроводжується утворенням антитіл, які виявляють у реакції нейтралізації (РН), реакції зв'язування комплементу (РЗК) та імуноферментним аналізом (ІФА) [8]. За даними В.П. Романенка, у разі хвороби Тешена сироватки крові з рівнем антитіл 1:32 і вище вважаються позитивними. Якщо в парних сироватках крові встановлено підвищення рівня антитіл в два і більше рази, це вказує на активний інфекційний процес в організмі тварини [10]. Деякі дослідники висловлюють думку щодо полігостальності вірусу хвороби Тешена, який під час перебування в організмі гризунів (до 61 доби) здатний підсилювати свої патогенні властивості відносно свиней [11]. Показники рівня антитіл в сироватках крові домашніх свиней проти вірусу хвороби Тешена реєструються у різних титрах з максимальним титром 1:1024 [12].

Лабораторна діагностика хвороби Тешена здійснюється за допомогою РЗК, ІФА, реакції нейтралізації [2, 7, 8, 9] та реакції імунофлуоресценції [2, 7, 9]. За даними OIE, під час ідентифікації антигену вірусу хвороби Тешена використовуються реакція нейтралізації в чутливій культурі клітин, імунофлуоресценції, ІФА та ПЛР, а для серологічної діагностики – реакція нейтралізації та ІФА [4, 7]. В ІВМ НААН В. П. Романенком розроблені «Набір діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для методу імунофлуоресценції» і «Набір діагностикумів ензоотичного енцефаломієліту (хвороби Тешена) свиней для реакції нейтралізації», що зареєстровані Держдепартаментом ветмедицини України від 28.04.2005 р. за № 0194-13-0150-05 і № 0915-13-0151-05 відповідно [1, 7].

Враховуючи, що існують повідомлення про чутливість до вірусу хвороби Тешена диких свиней на території Європи та водяних свиней на території Мадагаскару [2, 7], ми вважали за необхідне провести дослідження щодо визначення імунного статусу цих представників дикої фауни до вірусу хвороби Тешена на території України.

Мета і завдання дослідження. Мета досліджень – визначити серопревалентність диких свиней на території України за період 2001-2011 років до вірусу хвороби Тешена та порівняти показники титрів специфічних віруснейтралізуючих антитіл в їх сироватках крові.

Матеріал і методика досліджень. Сироватки крові диких свиней (3466 зразків) були відібрані під час відстрілу в сезони полювання 2001-2011 років з територій різних мисливських угідь адміністративних районів областей України та зберігаються в архіві лабораторії хвороб свиней та біотехнології ІВМ НААН. Дослідження наявності специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу хвороби Тешена в сироватках крові диких свиней здійснювали мікрометодом реакції нейтралізації на перещеплюваній культурі клітин СНЕВ, котра рекомендована МЕБ для виявлення антигену і антитіл до вірусу хвороби Тешена [4]. Перещеплювану культуру клітин СНЕВ, виробничий атенуйований штам вірусу хвороби Тешена "Перечинський-642" (виготовлений 21.07.2010; інфекційна активність $10^{9,5}$ lg $ТЦД_{50/}см^3$) та позитивну сироватку крові (титр антитіл 1:1000) проти вірусу хвороби Тешена було одержано від завідувача лабораторії імунології та генетики ІВМ НААН академіка НААН Романенка В.П.

У дослідженнях використовували: сучасну апаратуру – ламінарний бокс та CO_2 інкубатор фірми JOUAN, інвертований мікроскоп фірми ZEISS AXIOVERT 25, пластикові мікропланшети з плоским та U-подібним дном фірми Sarstedt, inc. Newton, NC 28658 Made in USA, автопіпетку восьмиканальну фірми BIOHIT 50 – 250 мкл; ростові серодовища: ДМЕМ, серія № 41, контроль № 41, термін придатності до 01.2012 р.; 199, серія № 42, контроль № 42, термін придатності до 01.2012 р.; розчин версену 0,02 % для культур клітин, серія № 46, контроль № 46, термін придатності до 10.2011 р., сироватку крові ВРХ без консерванту нативну, серія № 11, контроль № 11, термін придатності до 02.2011; розчин трипсину 0,25 % на фосфатному буфері для культур клітин, серія № 41, контроль № 41, термін придатності до 12.2010 р. виробництва ТОВ НВП "Біо-Тест-Лабораторія".

Постановку реакції нейтралізації проводили згідно з методикою [10].

Відповідно до літературних даних [10], в дослідженнях за діагностичний титр антитіл вважали рівень 1:32 і вище. У дослідженнях титри антитіл були виражені в двократних розведеннях та логарифмах з основою 2 (Log_2).

Результати досліджень та їх обговорення. Від 2001 до 2011 рр. загальний відсоток досліджених районів від загального показника по Україні становив 68,2 %, а в розрізі регіонів України цей показник складав: 83,5 % у західних; 54,6 % у південних; 83,0 % у північних; 65,1 % у східних та 53,0 % у центральних областях.

Аналіз динаміки показників досліджених районів території України в щорічні сезони полювання свідчить про різноманітність їх величини. Так, у сезони полювання 2001-2002 років було досліджено 6,5 %, 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 (32,9 %), 2009-2010 (47,6 %) у 2010-2011 рр. (15,7 %) районів. За період 10 мисливських сезонів в моніторингові дослідження увійшли усі адміністративні області України, однак їх кількість в різні роки була теж різною. Так, в сезони полювання 2001-2002 років було досліджено 48 % областей, 2002-2003 (56 %), 2003-2004 (76 %), 2004-2005 (80 %), 2005-2006 (48 %), 2006-2007 (88 %), 2007-2008 (72 %), 2008-2009 (88 %), 2009-2010 (100 %), 2010-2011 (52 %).

Результати проведених серологічних досліджень вказують на те, що загальний показник серопревалентності популяції диких свиней щодо вірусу хвороби Тешена становить 19,3 % від кількості досліджених тварин, а в розрізі регіонів України цей показник складав в західних – 28,38 %, південних – 12,88 %, північних – 16,92 %, східних – 18,32 % та центральних областях – 14,15 %.

Показники серологічної превалентності диких свиней до вірусу хвороби Тешена за результатами 10-річного моніторингу (2001-2011 рр.) представлені на рис. 1.

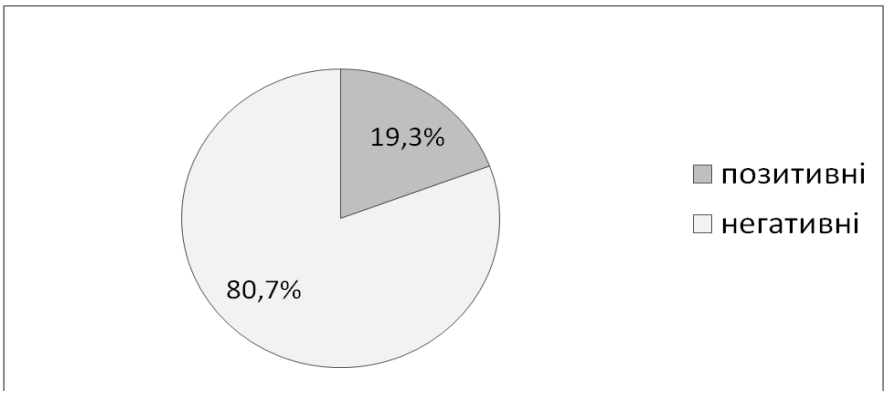

Рисунок 1. **Визначення відсотка позитивних до вірусу хвороби Тешена сироваток крові диких свиней від кількості досліджених**

Усього в реакції нейтралізації нами було досліджено 3466 проб сироваток крові диких свиней на наявність специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу хвороби Тешена за період 2001–2011 рр. Позитивними до цього вірусу виявлено 669, а негативними – 2797 сироваток крові. Загальний показник позитивних проб від досліджених становив 19,3 %.

Крім того, нами було проведено подальшу наукову роботу в напрямку визначення титру специфічних гуморальних антитіл у цих сироватках крові з подальшим їх порівнянням та аналізом (рис. 2).

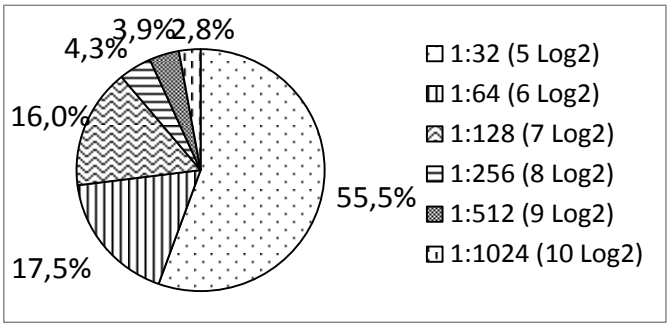

Рисунок 2. **Співвідношення показників титрів специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу хвороби Тешена в сироватках крові диких свиней**

На рис. 2 зображено співвідношення титрів специфічних нейтралізуючих антитіл проти вірусу хвороби Тешена в сироватках крові диких свиней. За результатами проведених досліджень співвідношення титрів антитіл серед 669 зразків позитивно реагуючих сироваток крові було таким: 55,0 % сироваток крові (371 проба) мали титри антитіл 1:32 (5 Log_2); 17,5 % (117 зразків) – 1:64 (6 Log_2); 16,0 % (107 зразків) – 1:128 (7 Log_2); 4,3 % (29 зразків) – 1:256 (8 Log_2); 3,9 % (26 зразків) – 1:512 (9 Log_2); 2,8 % (19 зразків) – 1:1024 (10 Log_2).

Слід відзначити, що середньоарифметичний рівень антитіл проти вірусу хвороби Тешена серед позитивних сироваток крові диких свиней становив 1:109±7,2, при цьому домінуючим тиром антитіл був рівень 1:32.

Зазначений вище структурний розподіл рівня специфічних нейтралізуючих антитіл у сироватках крові диких свиней свідчить про різноманітність імунного статусу цих представників дикої фауни до вірусу хвороби Тешена та ступінь їх інфікованості.

Загальноприйнятою вважається залежність збільшення титру специфічних гуморальних антитіл в організмі тварин від дози та частоти введеного антигену. Такий механізм спрацьовує у випадку введення інактивованого антигену з метою одержання гіперімунної сироватки або формування поствакцинального імунітету.

Враховуючи одержані результати, що свідчать про контакт диких свиней у природних умовах із живим вірусом, не слід однозначно розглядати означену вище тенденцію, оскільки нам не відомі доза зараження вірусом тварин, його вірулентність, перебіг захворювання.

Разом з цим, взявши до уваги занотовану думку В.П. Романенка [10] про активний інфекційний процес в організмі тварини у разі встановлення підвищення рівня антитіл в два і більше разів у парних сироватках крові, в наших дослідах не було можливості відбору парних сироваток крові від диких свиней, однак виявлення високих титрів антитіл (1:128 – 1:1024) деякою мірою може свідчити про ймовірний розвиток активного інфекційного процесу.

Висновки. 1. За результатами проведених досліджень співвідношення титрів антитіл серед 669 зразків позитивно реагуючих сироваток крові було таким: 55,0 % сироваток крові (371 проба) мали титри антитіл 1:32 (5 Log_2); 17,5 % (117 зразків) – 1:64 (6 Log_2); 16,0 % (107 зразків) – 1:128 (7 Log_2); 4,3 % (29 зразків) – 1:256 (8 Log_2); 3,9 % (26 зразків) – 1:512 (9 Log_2); 2,8 % (19 зразків) – 1:1024 (10 Log_2). Середньоарифметичний рівень антитіл проти вірусу хвороби Тешена серед позитивних сироваток крові диких свиней становив 1:109±7,2, при цьому домінуючим тиром антитіл був рівень 1:32.

2. Оскільки нам не відомі доза зараження вірусом 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, а також їх індивідуальною сприйнятливістю.

У подальшій перспективі наукових досліджень необхідно проводити дослідження в напрямку виділення ізолятів вірусу хвороби Тешена з біологічного матеріалу від диких свиней з вивченням їх культуральних, вірулентних та молекулярно-генетичних особливостей.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Романенко В. П. Хвороба Тешена (ензоотичний енцефаломієліт свиней) / В. П. Романенко // Вет. медицина України. – 2009. – № 6. – С. 15–17.

2. Энтеровирусная инфекция свиней // Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин, А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьев, Н. В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 501–507.

3. Коломыцев А. А. Эпизоотологический мониторинг и разработка средств иммунопрофилактики энтеровирусного энцефаломиелита свиней (болезни Тешена) / А. А. Коломыцев, В. М. Дубровин // Нейроинфекции: бешенство, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, Крейтцфелда-Якоба и другие прионные болезни: листериоз, болезнь Ауески, болезнь Тешена: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. 30–31 мая 2001 г. – Покров, 2001. – С. 160–165.

4. Http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.10_TESCHOVIRUS_ENCEPH.pdf

5. Романенко В. Ензоотичний енцфаломієліт (хвороба Тешена) свиней / Романенко В. // Вет. медицина України. – 2007. – № 4. – С. 10–12.

6. Антигенные свойства циркулирующих штаммов энтеровирусов свиней / В. Ф. Романенко, С. В. Деревянко // Ветеринария. – 2002. – № 5. – С. 18–22.

7. Романенко В. П. Ентеровірусні хвороби свиней / В. П. Романенко // Вет. медицина України. – 2010. – № 12. – С. 11–13.

8. Хвороба Тешена. Боротьба і профілактика / Ф. С. Вабіщевич , Ю. А. Собко , О. А. Панченко та ін. // Вет. медицина України. – 2009. – № 3. – С. 14–15.

9. Романенко В. Ф. Молекулярно-генетическая идентификация энтеровирусов свиней / В. Ф. Романенко // Ветеринария. – 2009. –№ 12. – С. 8–14.

10. Романенко В. Ф. Рекомендации по диагностике и мерам борьбы с энзоотическим энцефаломиелитом (болезнью Тешена) свиней/ В. Ф. Романенко , В. И. Сорока , О. Г. Прусс. – К.: Укр. акад. аграр. наук, Укр. НИИ с.-х. микробиологии, Гл. упр. ветеринарии с госинспекцией Госагропрома УССР, 1992. – 17 с.

11. Бузун А. Полігостальність збудника тешенської хвороби свиней у паразитоценологічному аспекті / А. Бузун, В. Апатенко // Вет. медицина України. – 2003. – № 2. – С. 8-10.

12. Сорока В. Залежність напруженості імунітету від титрів антитіл у свиней, щеплених вірусвакциною проти хвороби Тешена / В. Сорока // Вет. медицина України. – 2000. – № 6. – С. 18-19.

Иммунный статус популяции диких свиней на территории Украины относительно болезни Тешена по уровню специфических вируснейтрализующих антител

Н.П. Ситюк

В статье приведены данные относительно выявления специфических нейтрализующих антител против вируса болезни Тешена в сыворотках крови диких свиней, отстрелянных на территории Украины в период 2001-2011 годов. Подсчитано и представлено показатели общей серопревалентности диких свиней к вирусу болезни Тешена и соотношения титров вируснейтрализующих антител в их сыворотках крови. Определение уровня специфических гуморальных антител против вируса болезни Тешена в сыворотках крови диких свиней проведено с помощью микрометода реакции нейтрализации с использованием перевиваемой культуры клеток СПЭВ.

Ключевые слова: болезнь Тешена, дикие свиньи, реакция вируснейтрализации, титры антител.

The immune status of the population of wild pigs on the territory of Ukraine according to the level specific neutralizing antibodies Teschen disease

M. Sytiuk

The data on specific neutralizing antibodies of Teschen disease in blood sera of the wild pigs haunted on the territory of Ukraine during 2001-2011 years are presented in the article. The calculated and presented results of the whole seroprevalency of wild pigs to the virus of the Teschen disease are presented and the titers of the virusneutralizing antibodies in their blood sera. Determining the level of specific hummoral antibodies against the virus Teschen disease in sera of wild pigs conducted by micromethod neutralization test with using cell callture SKES.

Key words: Teschen disease, wild pigs, virusneutralization test, titers of the antibodies.