

УДК 636.09:616.98:578.835:(636.4+599.731.1)(477)

## **ВИВЧЕННЯ ІНФЕКЦІЙНОЇ АКТИВНОСТІ ТА АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ ХВОРОБИ ТЕШЕНА, ВИДІЛЕНИХ ВІД СВІЙСЬКИХ І ДИКИХ СВИНЕЙ З ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ**

*М. П. Ситюк*  
snp1978@ukr.net

Інститут ветеринарної медицини НААН, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151

*У статті наведені дані щодо індикації двох ізолятів вірусу хвороби Тешена на території України: «Шевченково-05», виділеного у 2005 році з патологічного матеріалу від свійського підсвинка з клінічними ознаками хвороби, та «Новоазовський 2013», виділеного від дикого кабана, відстріляного в сезон полювання 2013 року. В статті описані клінічні прояви (підвищення температури тіла до 41,4 °С, слабкість, анорексія, порушення координації рухів, гіперестезія, судомні скорочення м'язів передніх кінцівок, затруднене дихання, синюшність копитець, вух та шкіри рила) та патологоанатомічні зміни (гіперемія та набряк головного мозку, синюшність носових перегородок, переповнення сечового міхура) при хворобі Тешена у свійського підсвинка. Наведені дані щодо відбору патологічного матеріалу від свійського підсвинка з головного мозку та дикого кабана з ректальних змивів. Детально наведені процедури щодо первинної індикації ізолятів у перещеплюваній культурі клітин СНЕВ у чотирьох послідовних пасажах. Проведено ідентифікацію ізолятів шляхом обробки вірусомісної суспензії хлороформом із подальшим визначенням інфекційної активності. З метою ідентифікації вірусу хвороби Тешена та визначення його антигенної спорідненості у реакції нейтралізації було відібрано вірусомісну культуральну рідину у крайніх розведеннях де реєстрували цитопатичну дію вірусу, та проведено наступні 3 (три) послідовні пасажі у культурі клітин СНЕВ. Показано строки прояву цитопатичної дії ізолятів, їх інфекційну активність, а за допомогою перехресної реакції нейтралізації визначені індекси нейтралізації та антигенної спорідненості їх до виробничого вірусу хвороби Тешена штаму «Перечинський 642». За результатами проведених вірусологічних та серологічних досліджень визначено, що виділені ізоляти належать до вірусу хвороби Тешена.*

**Ключові слова:** ДИКІ І СВІЙСЬКІ СВИНІ, ВІРУС ХВОРОБИ ТЕШЕНА, БІОЛОГІЧНИЙ МАТЕРІАЛ, ІНДИКАЦІЯ, ІНФЕКЦІЙНА АКТИВНІСТЬ, АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ, ІДЕНТИФІКАЦІЯ

## **THE INFECTIOUS ACTIVITY AND ANTIGENIC PROPERTIES STUDYING OF THE TESCHEN DISEASE VIRUS ISOLATES FROM DOMESTIC PIGS AND WILD BOARS IN UKRAINE**

*N. P. Sytiuk*  
snp1978@ukr.net

Institute of Veterinary Medicine NAAS of Ukraine, 03151, Donetska st., 30, Kiev, Ukraine

*The data on the monitoring of two isolates of Teschen disease virus in the territory of Ukraine: «Shevchenkovo-05» isolated in 2005 from sow pathological material with clinical signs of disease and «Novoazovs'k 2013» isolated from wild boar killed in hunting season of 2013 year were presented in the title. The article described the clinical signs (fever up to 41,4 °C, malaise, anorexia, discoordination, hyperesthesia, twitching muscles of the forelimbs, shortness of breath, cyanosis of the mucosa, ears and snout skin) and pathological manifestation (redness and swelling of the brain tissue, nasal septa cyanosis, overflow the bladder) in the course of Teschen disease in pigs. The data for the detection rating of the*

*causative agent in biological material samples obtained from pigs (the brain tissue) and wild boar (rectal swabs specimens) were presented in the title. It was presented the peculiarities of the isolation of causative agent with using of the primary display test into the PK cell line by detecting apoptosis of the cells in the four consecutive passages. The identification of the virus isolates in virus-containing suspension threatened with chloroform were used for the determination of an infectious activity. In order to identify the Teschen disease virus and its antigenic affinity was performed with selected virus-containing culture medium by the terminal dilutions where the cytopathic effect of the virus was detected and it was performed the 3 (three) successive passages in SKES cell line culture. It was determined the terms of cytopathic effect manifestation and the antigenic activity of virus isolates. Using cross-neutralization tests it was determined the neutralization index and antigenic affinity index toward Teschen disease virus reference strain «Perechynskyy 642». Using virologic and serologic tests it was determined that the isolates are derivatives of Teschen disease virus.*

**Keywords:** WILD AND DOMESTIC PIGS, THE VIRUS TESCHEN DISEASE, BIOLOGICAL MATERIAL, MONITORING, INFECTIOUS ACTIVITY, ANTIGENIC PROPERTIES, IDENTIFICATION

### **ИЗУЧЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ И АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДОМАШНИХ И ДИКИХ СВИНЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ**

*Н. П. Ситюк*  
snp1978@ukr.net

Институт ветеринарной медицины НААН Украины, ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151

*В статье приведены данные относительно индикации двух изолятов вируса болезни Тешена на территории Украины: «Шевченково-05», выделенного в 2005 году из патологического материала от домашнего подсвинка с клиническими признаками болезни, и «Новоазовский-2013», выделенного от дикого кабана, отстрелянного в сезон охоты 2013 года. В статье описаны клинические проявления (повышение температуры тела до 41,4 °С, слабость, анорексия, нарушение координации движений, гиперестезия, судорожные сокращения мышц передних конечностей, затрудненное дыхание, синюшность конечностей, ушей и кожи рыла) и патологоанатомические изменения (гиперемия и отек головного мозга, синюшность носовых перегородок, переполнения мочевого пузыря) при болезни Тешена у домашнего подсвинка. Представлены данные по отбору патологического материала от домашнего подсвинка из головного мозга и дикого кабана с ректальных смывов. Подробно описана процедура относительно первичной индикации изолятов в перевиваемой культуре клеток СПЭВ в четырех последовательных пассажах. Проведена идентификация изолятов путем обработки вирусосодержащей суспензии хлороформом с последующим определением инфекционной активности. С целью идентификации вируса болезни Тешена и определения его антигенного родства в реакции нейтрализации была отобрана вирусосодержащая культуральная жидкость с крайних разведений где регистрировали цитопатическое действие вируса, и проведены следующие 3 (три) последовательные пассажи в культуре клеток СПЭВ. Показано сроки проявления цитопатического действия изолятов, их инфекционная активность, а с помощью перекрестной реакции нейтрализации определены индексы нейтрализации и антигенного родства их к производственному вирусу болезни Тешена штамм «Перечинский 642». По результатам проведенных вирусологических и серологических исследований определено, что выделенные изоляты относятся к вирусу болезни Тешена.*

**Ключевые слова:** ДИКИЕ И ДОМАШНИЕ СВИНЬИ, ВИРУС БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА, БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ, ИНДИКАЦИЯ, ИНФЕКЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ, АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА, ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Хвороба Тешена (ензоотичний енцефаломієліт) — вірусне захворювання свиней, що характеризується енцефаломієлітом і паралічами [1]. Вперше ензоотія хвороби була зареєстрована Трефні у 1930 році у містечку Tezen (Чехія) [1, 2]. Збудником хвороби Тешена свиней є РНК-вірус з родини *Picornaviridae*, який раніше відносили до роду *Enterovirus* [3, 4], 1-го серотипу ентеровірусів свиней [5], а нині — до роду *Teschovirus* [6].

Хвороба Тешена у різні роки була і є поширеною на всіх континентах світу, а також на території країн СНД [7, 8]. Остання епізоотія хвороби Тешена реєструвалася у лютому-березні 2009 року на острові Гаїті, де в 1500 дворах загинуло 700 голів аборигенних домашніх свиней [6]. Хворіють свійські та дикі свині [2, 3, 9, 10]. Частіше хворіють свині у віці 2–6 місяців, рідше у віці 7–10 місяців [11].

За даними В. П. Романенка, хвороба Тешена реєструється в усі пори року, але в осінньо-зимовий та зимово-весняний періоди протікає важче та охоплює велику кількість тварин. У більшості випадків зараження здорових особин відбувається через повітря під час кашлю чи чхання хворих тварин і носіїв вірусу, а також опосередковано через контаміновані вірусом корми, воду й предмети догляду. Вірус переноситься із незнезараженим м'ясом, відходами боєнь, ідалень. Зараження здорових свиней може відбуватися за механічного перенесення вірусу в господарства людьми, тваринами, гризунами та птахами, а також із завезеними свинями-вірусоносіями. Частіше за все хвороба Тешена свиней протікає як ензоотія та епізоотія [11].

Воротами інфекції є шлунково-кишковий тракт, хоча збудник хвороби потрапляє в організм і крізь слизові оболонки дихальних шляхів. Репродукція вірусу відбувається саме у клітинах слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, з якого з кров'ю і лімфою вірус потрапляє до головного та спинного мозку [3, 11]. Через 24-72 години після інфікування вірус потрапляє в шлунково-кишковий тракт, де і

розмножується впродовж 5–7 тижнів [8]. Віремія спостерігається через 4–6 днів після зараження протягом двох діб, але титри вірусу в крові не високі. В цей час вірус виявляють у головному і спинному мозку, де він зберігається до початку стадії паралічу. Тому мозочок, шийний і грудний відділи спинного мозку в цей період хвороби є придатним матеріалом для виділення вірусу. Надалі його можна виділити зі слизової оболонки ободової кишки. У перші 3–4 доби захворювання вірус виділяється із фекалій хворих тварин у 25-30 % випадків [3]. Найвищі титри вірусу виявляють у пробах фекалій через 9 діб після зараження. У мигдаликах, мезентеріальних і брижових лімфовузлах вірус індикується через 48 годин після зараження і виявляється протягом 6–8 діб [2].

Інкубаційний період триває від декількох днів до 4–5 тижнів, в середньому від 7 до 15 діб і рідше до 60 діб. У продромальній стадії хвороби протягом 1–2 діб у тварин спостерігається підвищення температури до 40,5–41,6 °С, слабкість, втрата апетиту, блювота, гострий риніт, а іноді порушення координації рухів. Через 1–2 доби температура тіла знижується до норми, і з'являються симптоми ураження центральної нервової системи: гіперестезія, спонтанні судомні скорочення губних, очних, жувальних м'язів, а також м'язів кінцівок переважно плечової ділянки. Часто виникають блювота, афонія, хриплість, скрежет зубами і затруднене дихання. Іноді відмічається параліч язика [3, 9], косоокість [2]. Перед смертю температура тіла знижується до 35–32 °С [9].

Головними і завжди присутніми при хворобі Тешена патологоанатомічними змінами є гіперемія та набряк м'якої мозкової оболонки і сірої речовини головного мозку, гіперемія слизової оболонки носа і його порожнин, дрібні крововиливи у спинному мозку. Крім того, виявляють набряк легень, пневмонію, катаральне і геморагічне запалення слизової оболонки шлунку і кишечника, збільшення селезінки. Іноді на ендокарді та

епікарді знаходять точкові і розлиті крововиливи. Слизова оболонка шлунку вкрита густим прозорим слизом. Сечовий міхур завжди переповнений сечею [3, 9, 11].

Лабораторну діагностику хвороби Тешена здійснюють за допомогою індикації в чутливих до вірусу культурах клітин, реакції нейтралізації, реакції імунофлуоресценції [1, 5], імунопероксидазного тесту [12], імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції [13]. У світі, країнах СНД, у тому числі й в Україні, дослідниками виділялися та вивчалися ізоляти вірусу хвороби Тешена за допомогою класичних вірусологічних методів — виділенням у культурі клітин, ідентифікацією в реакції нейтралізації [4, 11, 12–17] та за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [6, 13, 18–20].

Мета роботи — провести індикацію та ідентифікацію двох ізолятів вірусу хвороби Тешена, виділених від свійського підсвинка та дикого кабана з території України, в культурі клітин СНЕВ та перехресній реакції нейтралізації.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили з двома ізолятами вірусу хвороби Тешена, виділеними на території України. Ізолят «Новоазовський-2013» виділений із ректальних змивів від відстріляного дикого кабана віком 10 місяців із Новоазовського району Донецької області у 2013 році. Ізолят «Шевченково-05» виділений із головного мозку від свійського підсвинка віком 3 місяці з Броварського району Київської області у 2005 році.

Індикацію ізолятів вірусу хвороби Тешена проводили у трьох послідовних пасажах у чутливій культурі клітин СНЕВ згідно методики [21]. Ідентифікацію зазначених ізолятів проводили шляхом визначення їх чутливості до хлороформу за методом Майра і Бьогеля [21] та мікрометодом у перехресній реакції нейтралізації за методикою [22] зі специфічними сироватками крові до вірусу хвороби Тешена штам «Перечинський 642», до ізоляту «Новоазовський-2013»,

ізоляту «Шевченково-05» та штаму вірусу хвороби Ауескі «Петріківський-2006» у перещеплюваній культурі клітин СНЕВ. Перещеплювану культуру клітин СНЕВ, виробничий атенуйований штам вірусу хвороби Тешена «Перечинський-642» з титром інфекційної активності  $10^{9.5}$ lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> та позитивну сироватку крові проти вірусу хвороби Тешена в титрі 1:1000 було передано з колекції лабораторії імунології та генетики ІВМ НААН академіком НААН Романенком В. П. Вірус хвороби Ауескі штам «Петріківський-2006» задепонований у ДНКІБШМ та зберігається у колекції штамів лабораторії хвороб свиней та біотехнології ІВМ НААН. Визначення антигенної активності ізолятів проводили шляхом їх титрування у 96-лункових планшетах.

З головного мозку від підсвинка з клінічними ознаками, схожими на хворобу Тешена, було приготовлено 10 % суспензію, а з фрагмента прямої кишки від відстріляного дикого кабана було проведено змиви фекалій. Досліджуваний матеріал тричі піддавали процедурі заморожування-розморожування, з подальшою обробкою хлороформом за методикою Майра та Бьогеля, центрифугуванням при 6000 об./хв впродовж 30 хвилин та обробці антибіотиками (1000 ОД бензилпеніциліну та 500 мкг стрептоміцину) на 1 см<sup>3</sup> надосадової рідини з подальшим її внесенням в об'ємі 1 см<sup>3</sup> на попередньо вирощений моношар культури клітин СНЕВ в скляному матраці об'ємом 50 см<sup>3</sup> з періодом спостереження протягом 5 діб.

З фрагмента прямої кишки від відстріляного дикого кабана було проведено змиви фекалій, котрі двічі піддавали процедурі заморожування-розморожування, центрифугуванню при 1500 тис. об./хв впродовж 15 хвилин та обробці антибіотиками (бензилпеніцилін та стрептоміцин) надосадової рідини з подальшим її внесенням в об'ємі 1 см<sup>3</sup> на попередньо вирощений моношар культури клітин СНЕВ у скляному матраці об'ємом 50 см<sup>3</sup> з періодом спостереження протягом

5 діб. Статистичну обробку проводили за методикою [22, 23].

### Результати й обговорення

У грудні 2005 року в одному з дворів у с. Шевченкове Броварського р-ну Київської обл. було зареєстровано захворювання підсвинка віком 3 місяці з такими клінічними ознаками: підвищення температури тіла до 41,4 °С, слабкість, анорексія, порушення координації рухів, гіперестезія, судомні скорочення м'язів передніх кінцівок, затруднене дихання, синюшність копитець, вух та шкіри рила (рис. 1). На третю добу після прояву клінічних ознак тварину було вимушено забито та проведено патологоанатомічний розтин. При розтині були відмічені: гіперемія та набряк головного мозку, синюшність носових перегородок, переповнений сечею

сечовий міхур (рис. 2-5). Під час розтину був відібраний патологічний матеріал (фрагменти головного мозку) для лабораторних досліджень.

У лютому 2013 року під час проведення діагностичного відстрілу диких кабанів на території Новоазовського району Донецької області з метою моніторингових досліджень стосовно африканської та класичної чуми свиней було проведено відстріл дикого кабана віком 10 місяців (рис. 6). Під час зовнішнього огляду тварина виявилася схудлою з масою тіла близько 50 кг. Під час розтину особливих патологоанатомічних змін не відмічено, а для лабораторних досліджень було відібрано наступний біологічний матеріал: кров із серця, лімфатичні вузли, шматочки селезінки, печінки, нирки, легень, а також фрагмент товстого відділу кишечника з вмістом.



Рис. 1. Клінічні прояви хвороби Тешена у підсвинка віком 3 місяці



Рис. 2. Переповнений сечовий міхур



Рис. 3. Венозний застій та набряк легень



Рис. 4. Синюшність носових перегородок



Рис. 5. Ін'єкція судин головного мозку



Рис. 6. Зовнішній вигляд відстріляного дикого кабана віком 10 міс

За результатами проведених досліджень методом полімеразної ланцюгової реакції в Державному науково-дослідному інституті лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи у відібраному біологічному матеріалі не виявлено РНК вірусу

класичної чуми свиней та ДНК вірусу африканської чуми свиней.

На початку було проведено 3 послідовні пасажі суспензій біологічного матеріалу (головного мозку та ректальних змивів) у культурі клітин СНЕВ (табл. 1).

Таблиця 1

Результати інюкуляції суспензій головного мозку та ректальних змивів у трьох послідовних пасажах у культурі клітин СНЕВ за обліком цитопатичної дії вірусу

Вид біологічного матеріалу	1-й пасаж					2-й пасаж					3-й пасаж				
	добы					добы					добы				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Суспензія головного мозку	-	-	56 год., +*	++**	+++** *	-	-	51 год., ++**	+++** *	#*** *	-	47 год., +*	++**	+++** *	#*** *
Ректальні змиви	-	-	-	77 год., +*	++**	-	-	72 год., +*	++	+++ ***	-	-	69 год., ++**	+++** *	#*** *

Примітка: \* «+»=25 %, \*\* «++»=50 %, \*\*\* «+++»=75 %, \*\*\*\* «#»=100 % — прояв цитопатичної дії вірусу на клітини моношару; «-» — відсутність прояву цитопатичної дії вірусу на клітини моно шару; «год» — години (початок реєстрації цитопатичної дії вірусу)

У культурі клітин СНЕВ першого та другого пасажі після інюкуляції суспензії головного мозку цитопатичну дію вірусу (ЦПД) реєстрували на 3-тню добу (56 та 51 години відповідно). У третьому пасажі ЦПД реєструвалася з другої доби (47 година). В культурі клітин СНЕВ першого пасажу після інюкуляції ректальних змивів

реєстрували ЦПД на 4-ту добу (77 година). У другому та третьому пасажах ЦПД реєструвалася з третьої доби (72 та 69 годин відповідно). Характер прояву ЦПД був наступним: округлення клітин, їх скупчення, дегенерація моношару та його відшарування від дна матраців (рис. 7–9).

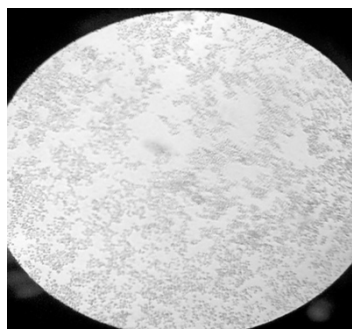


Рис. 7. Характер прояву ЦПД ізоляту «Новозовський 2013»

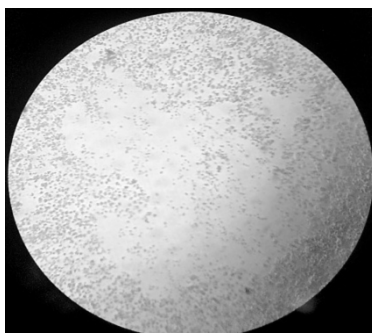


Рис. 8. Характер прояву ЦПД ізоляту «Шевченково-05»

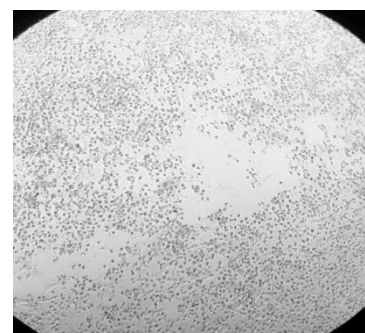


Рис. 9. Характер прояву ЦПД штаму «Перечинський 642»

Вірусомісну суспензію культури клітин третього пасажу знову обробляли хлороформом та вносили в об'ємі 1 см<sup>3</sup> на попередньо вирощений моношар культури клітин СНЕВ у скляному матраці об'ємом 50 см<sup>3</sup> із періодом спостереження протягом 5 діб. У матраці, який інокулювали вірусомісною суспензією головного мозку третього пасажу, реєстрували ЦПД з 2-ї

доби, а в матраці, що був інокульований вірусомісною суспензією ректальних змивів третього пасажу, реєстрували ЦПД з 3-ї доби.

Надалі проводили визначення інфекційної активності вірусу перших чотирьох послідовних пасажів у культурі клітин СНЕВ (табл. 2).

Таблиця 2

**Результати визначення титру інфекційної активності вірусу хвороби Тешена в культурі клітин СНЕВ**

Вид біологічного матеріалу	Титри інфекційної активності, lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>			
	1-й пасаж n=3, M±m	2-й пасаж n=3, M±m	3-й пасаж n=3, M±m	4-й пасаж n=3, M±m
Ректальні змиви	min 1,7 max 2,03 <b>1,92±0,09</b>	min 2,2 max 2,7 <b>2,42±0,12</b>	min 2,7 max 3,03 <b>2,81±0,09</b>	min 3,03 max 3,36 <b>3,2±0,08</b>
Суспензія головного мозку	min 2,2 max 2,7 <b>2,42±0,12</b>	min 3,03 max 3,46 <b>3,23±0,1</b>	min 3,7 max 4,03 <b>3,89±0,08</b>	min 4,2 max 4,36 <b>4,31±0,04</b>

*Примітка:* n — кількість повторів при дослідженнях; min — мінімальний показник; max — максимальний показник; M±m — середній арифметичний показник з відхиленням

За результатами титрування було встановлено інфекційну активність ізолятів вірусу хвороби Тешена, виділених з головного мозку та ректальних змивів. Шляхом проведення 4 послідовних пасажів було зареєстровано підвищення інфекційної активності ізоляту вірусу, виділеного з ректальних змивів, до 3,2±0,08 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, а ізоляту, виділеного з головного мозку, — до 4,31±0,04 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Перед постановкою реакції нейтралізації з постійною дозою сироватки,

що дозволяє визначити антигенну спорідненість даних ізолятів до вірусу хвороби Тешена, у 4-му пасажі нами була відібрана вірусомісну культуральна рідина у лунках планшета з максимальними розведеннями ізолятів при їх титруванні, де реєструвалася ЦПД та проведено ще 3 послідовні пасажи у культурі клітин СНЕВ, де зараження культури клітин кожного наступного пасажу проводили вірусомісною культуральною рідиною попереднього пасажу з крайніх розведень. Результати титрування наведені у таблиці 3.

Таблиця 3

**Результати визначення титру інфекційної активності вірусу хвороби Тешена в культурі клітин СНЕВ методом крайніх розведень**

Вид біологічного матеріалу	Титри інфекційної активності, lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>		
	5-й пасаж n=3, M±m	6-й пасаж n=3, M±m	7-й пасаж n=3, M±m
Ректальні змиви	min 3,7 max 4,2 <b>3,98±0,12</b>	min 5,2 max 5,46 <b>5,29±0,07</b>	min 6,03 max 6,36 <b>6,25±0,09</b>
Суспензія головного мозку	min 4,7 max 5,2 <b>5,03±0,14</b>	min 6,03 max 6,36 <b>6,2±0,08</b>	min 7,2 max 7,46 <b>7,29±0,07</b>

За результатами проведених 3 послідовних пасажів, де зараження культури клітин наступного пасажу проводили вірусомісною культуральною рідиною попереднього пасажу з крайніх розведень, було встановлено на 7-му пасажі інфекційну активність вірусу хвороби Тешена, виділеного з ректальних змивів, на рівні 6,25±0,09 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, а вірусу, виділеного з головного мозку, — 7,29±0,07 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Надалі провели ідентифікацію вірусу хвороби Тешена у реакції нейтралізації з визначенням антигенної спорідненості виділених ізолятів до штаму

вірусу хвороби Тешена «Перечинський 642». Титр вірусу хвороби Тешена штаму «Перечинський 642» перед постановкою реакції становив 8,73±0,13 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Титри інфекційної активності ізолятів 7-го пасажу становили: з ректальних змивів — 6,25±0,09 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, а з головного мозку — 7,29±0,07 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Титр специфічної сироватки крові до штаму «Перечинський 642» становив 1:1000, а для реакції брали 20 нейтралізуючих доз сироватки.

Результати реакції нейтралізації з постійною дозою сироватки наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

**Визначення показників індексу нейтралізації ізолятів та штаму вірусу хвороби Тешена у перекресній реакції нейтралізації**

		показники	
		Титр, lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> n=3, M±m	ІН
Сироватка, позитивна до штаму «Перечинський 642»	Перечинський 642	4,42±0,12	3,97
	Новоазовський-2013	3,47±0,09	2,84
	Шевченково-05	4,03±0,14	2,95
Сироватка, позитивна до ізоляту «Новоазовський-2013»	Перечинський 642	5,25±0,04	3,14
	Новоазовський-2013	3,09±0,05	3,22
	Шевченково-05	4,14±0,09	2,84
Сироватка, позитивна до ізоляту «Шевченково-05»	Перечинський 642	4,62±0,07	3,79
	Новоазовський-2013	3,39±0,03	2,92
	Шевченково-05	4,03±0,14	2,95
Негативна сироватка	Перечинський 642	8,39±0,03	—
	Новоазовський-2013	6,31±0,04	—
	Шевченково-05	6,98±0,12	—
	Петріківський - 2006	7,98±0,12	—
Сироватка, позитивна до вірусу хвороби Ауєскі штаму «Петріківський-2006»	Перечинський 642	8,34±0,06	—
	Новоазовський-2013	6,2±0,08	—
	Шевченково-05	6,98±0,12	—
	Петріківський-2006	4,51±0,08	3,47



За результатами постановки перехресної реакції нейтралізації з постійною дозою сироватки крові встановлено, що зазначена позитивна сироватка крові до штаму «Перечинський 642» нейтралізувала  $10^{3,97}$  (9700) доз ізоляту вірусу «Перечинський 642»,  $10^{2,84}$  (840) доз ізоляту вірусу «Новоазовський 2013» та  $10^{2,95}$  (950) доз ізоляту вірусу «Шевченко-05», знизивши їх інфекційний титр на 3,97 lg, 2,84 lg та 2,95 lg відповідно. Позитивна сироватка крові до ізоляту «Новоазовський 2013» нейтралізувала  $10^{3,14}$  (1400) доз ізоляту вірусу «Перечинський 642»,  $10^{3,22}$  (2200) доз ізоляту вірусу «Новоазовський 2013» та  $10^{2,84}$  (840) доз ізоляту вірусу «Шевченко-05». Позитивна сироватка крові до ізоляту «Шевченко-05» нейтралізувала  $10^{3,79}$  (7900) доз ізоляту вірусу «Перечинський 642»,  $10^{2,92}$  (920) доз ізоляту вірусу «Новоазовський 2013» та  $10^{2,95}$  (950) доз ізоляту вірусу «Шевченко-05». Для виключення можливості перехресту з іншими вірусами

було проведено постановку реакції нейтралізації з вірусом хвороби Ауескі штам «Петріківський-2006» та позитивною сироваткою до нього. Інфекційна активність зазначених ізолятів не знижувалася, а відповідала інфекційній їх активності у присутності негативної сироватки крові з відсутністю антитіл проти вірусу хвороби Тешена, в той час як титр інфекційної активності вірусу хвороби Ауескі штам «Петріківський-2006» знижувався у присутності позитивної сироватки крові до нього ІН 3,47 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. За одержаними даними можна зробити висновок про те, що виділені ізоляти відносяться до вірусу хвороби Тешена.

Окрім визначення індексів нейтралізації, також були визначені та порівняні показники антигенної спорідненості, домінантності та відмінностей між виділеними ізолятами та штамом «Перечинський 642» вірусу хвороби Тешена (табл. 5).

Таблиця 5

**Показники антигенної спорідненості, домінантності та відмінностей між ізолятами та штамом вірусу хвороби Тешена у перехресній реакції нейтралізації**

Показники	Назва штаму, ізоляту					
	Перечинський 642 (штам)	Новоазовський-2013 (ізолят)	Перечинський 642 (штам)	Шевченко-05 (ізолят)	Новоазовський-2013 (ізолят)	Шевченко-05 (ізолят)
Антигенна спорідненість (R, %)	85		81		94	
домінантність (Д, %)	82		90		93	
відмінності (р, %)	32		52		13	

Показники таблиці 5 свідчать про те, що антигенна спорідненість між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Новоазовський 2013» становила 85 %, між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Шевченко-05» — 81 %, а між ізолятами «Перечинський 642» та «Шевченко-05» — 94 %. Показники домінантності на перевищували значення 100 і тому цей критерій засвідчує відсутність

домінантності між штамми та ізолятами. Показники відмінностей вказують на те, що між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Новоазовський 2013» цей критерій становив 32 %, між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Шевченко-05» — 52 %, а між ізолятами «Перечинський 642» та «Шевченко-05» — 13 %.

## Висновки

1. Уперше в Україні виділено та ідентифіковано в реакції нейтралізації ізолят вірусу хвороби Тешена «Новоазовський 2013» від відстріляного дикого кабана.

2. Порівняльний вірусологічний аналіз показав, що виділені ізоляти — від дикого кабана (ректальні змиви) та свійського підсвинка (головний мозок) викликають цитопатичну дію у культурі клітин СНЕВ, не чутливі до хлороформу.

3. У перехресній реакції нейтралізації визначено, що ізоляти «Новоазовський 2013» та «Шевченково-05» нейтралізуються позитивною сироваткою крові до вірусу хвороби Тешена штам «Перечинський 642» і навпаки, позитивні сироватки крові до даних ізолятів нейтралізують зазначений штам. Встановлено високу антигенну спорідненість між ізолятами «Перечинський 642» та «Шевченково-05» — на рівні 94 %, а відмінності — 13 % порівняно з аналогічними критеріями між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Новоазовський 2013» — 85 % і 32 % та між штамом «Перечинський 642» та ізолятом «Шевченково-05» — 81 % і 52 % відповідно.

**Перспективи подальших досліджень.** Необхідно підтвердити методом полімеразної ланцюгової реакції наявність РНК вірусу хвороби Тешена та зосередити особливу увагу на молекулярно-генетичній оцінці даних ізолятів шляхом секвенування їх геному з подальшим філогенетичним аналізом.

1. Romanenko V. P. Khvoroba Teshena (enzootychnyi entsefalomyelit) [Teschen disease (enzootic encephalomyelitis of pigs)]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy — Veterinary Medicine of Ukraine*, 2009, no. 6, pp. 15-17 (in Ukrainian).

2. Siurin V. N., Samuilenko A. Ia., Solovev B. V., Fomina N. V. *Virusnye bolezni zhivotnykh* [Viral diseases of animals]. Moskov, VNITIBP, 1998. Pp. 501-507 (in Russian).

3. Romanenko V. Enzootychnyi entsefalomyelit (khvoroba Teshena) svynei [Enzootic encephalomyelitis (Teschen disease) of

pigs]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy — Veterinary Medicine of Ukraine*, 2007, no. 4, pp. 10-12 (in Ukrainian).

4. Romanenko V. F., Derevianko S. V. Antigennyye svoystva tsirkuliruiushchikh shtammov enterovirusov svinei [Antigenic traits of circulating strains of swine enteroviruses]. *Veterinariia — Veterinary medicine*, 2002, no. 5, pp. 18-22 (in Russian).

5. Romanenko V. P. Enterovirusni khvoroby svynei [Enterovirus diseases of swine]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy — Veterinary Medicine of Ukraine*, 2010, no. 12, pp. 11-13 (in Ukrainian).

6. Deng M. Y., Millien M., Jacques-Simon R., Flanagan J. K., Bracht A. J. Diagnosis of Porcine teschovirus encephalomyelitis in the Republic of Haiti. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2012, 24, (4), pp. 671-678.

7. Kolomytsev A. A., Dubrovin V. M. Epizootologicheskii monitoring i razrabotka sredstv immunoprofilaktiki enterovirusnogo entsefalomyelita svinei (bolezni Teshena) [Epizootological monitoring and development funds immunization porcine enteroviral encephalomyelitis (Teschen disease)]. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Neiroinfektsii: beshenstvo, gubkoobraznaia entsefalopatiia krupnogo rogatogo skota, Kreittsfeldta-Iakoba i drugie prionnye bolezni; listerioz, bolezni Aueski, bolezni Teshena»* [Proc. of Intern. sci. and practical conf. "Neuroinfection: rabies, spongiform encephalopathy in cattle, Creutzfeldt-Jakob disease and other prion diseases, listeriosis, Aujeszky's disease, Teschen disease"]. Pokrov, 2001, pp. 160-165 (in Russian).

8. Vabishchevych F. S., Sobko Ju. A., Panchenko O. A., Pryskoka V. A., Vabishchevych F. F., Semenov V. R. Khvoroba Teshena. Borotba i profilaktyka [Teschen disease. Fighting and Prevention]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy — Veterinary Medicine of Ukraine*, 2009, no. 3, pp. 14-15 (in Ukrainian).

9. Romanenko V. F., Soroka V. I., Pruss O. G. *Rekomendatsii po diagnostike i meram borby s enzooticheskim entsefalomyelitom (bolezniu Teshena) svinei* [Recommendations for diagnosis and measures to combat enzootic encephalomyelitis (Teschen disease) pigs]. Kyiv, 1992. 17 p. (In Russian)

10. Kolomytsev A. A., Strizhakov A. A., Gavrillov V. A. i dr. Enterovirusnyi entsefalomyelit svinei [Enterovirus encephalomyelitis of pigs]. *Veterinariia selskokhoziaistvennykh zhivotnykh* —

*Veterinary farm animals*, 2005, no. 9, pp. 31-34 (in Russian).

11. Romanenko V. F. Molekuliarno-geneticheskaia identifikatsiia enterovirusov svinei [Molecular genetic identification of enteroviruses pigs]. *Veterinariia — Veterinary medicine*, 2009, no. 12, pp. 8–14 (in Russian).

12. Buzun A., Apatenko V. Poligostalnist zbudnyka teshenskoï hvoroby svynei u parazytotsenologichnomu aspekti [The Parazitozenological Aspect of Teschen Disease Agent Bi-Host Ranges]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy — Veterinary Medicine of Ukraine*, 2003, no. 2, pp. 8-10 (in Ukrainian).

13. Golovko A. M., Derevianko S. V., Bova T. O., Soroka V. I., Katsymon V. V. Konstruiuvannia vydospecyfichnykh praimeriv dlia molekuliarno-genetychnoi identyfikatsii teshovirusiv ta enterovirusiv A i B [Construction of species-specific primers for molecular-genetic identification of Porcine Teschoviruses and Enteroviruses A and B]. *Silskohospodarska mikrobiolohiia: mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk* [Agricultural microbiology: Interdep. thematic sci. coll.]. Chernihiv, 2009, is. 10, pp. 156-165 (in Ukrainian).

14. Buzun A. I., Sereda A. D., Zhesterev V. I., Strizhakov A. A., Kropotov V. S., Andreeva O. N., Shubina N. G. Sovershenstvovanie vaktsinoprofilaktiki bolezni Teshena [Improvement of Teschen disease vaccine prophylaxis]. *Veterinariia — Veterinary medicine*, 2001, no. 2, pp. 16–18 (in Russian).

15. Buzun A. I., Zhesterev V. I., Strizhakov A. A., Sereda A. D., Balyshv V. M., Khukhorov I. Iu., Selianinov Iu. O. Bivalentnaia vaktsina protiv bolezni Teshena [Bivalent vaccine against Teschen disease]. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Neiroinfektsii: beshenstvo, gubkoobraznaia entsefalopatiia krupnogo rogatogo skota, Kreittsfeldta-Iakoba i drugie prionnye bolezni; listerioz, bolezni Aueski, bolezni Teshena»* [Proc. of Intern. sci. and practical conf. "Neuroinfection: rabies, spongiform encephalopathy in cattle, Creutzfeldt-Jakob disease and other prion diseases, listeriosis, Aujeszky's disease, Teschen disease"]. Pokrov, 2001, pp. 174-178 (in Russian).

16. Sereda A. D., Kropotov V. S., Shubina N. G., Buzun A. I., Kadetov V. V., Kolosova M. V., Zhesterev V. I., Kalantaenko Iu. F. Antigennye razlichia proizvodstvennykh shtammov virusa bolezni Teshena [Antigenic differences production viral strains Teschen disease]. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Neiroinfektsii: beshenstvo, gubkoobraznaia entsefalopatiia krupnogo*

*rogatogo skota, Kreittsfeldta-Iakoba i drugie prionnye bolezni; listerioz, bolezni Aueski, bolezni Teshena»* [Proc. of Intern. sci. and practical conf. "Neuroinfection: rabies, spongiform encephalopathy in cattle, Creutzfeldt-Jakob disease and other prion diseases, listeriosis, Aujeszky's disease, Teschen disease"]. Pokrov, 2001, pp. 78-79 (in Russian).

17. Kropotov V. S., Shubina N. G., Sereda A. D., Zubairov M. M., Kolosova M. V., Zhesterev V. I. Klassifikatsiia proizvodstvennykh shtammov bolezni Teshena [Classification of production strains Teschen disease]. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Neiroinfektsii: beshenstvo, gubkoobraznaia entsefalopatiia krupnogo rogatogo skota, Kreittsfeldta-Iakoba i drugie prionnye bolezni; listerioz, bolezni Aueski, bolezni Teshena»* [Proc. of Intern. sci. and practical conf. "Neuroinfection: rabies, spongiform encephalopathy in cattle, Creutzfeldt-Jakob disease and other prion diseases, listeriosis, Aujeszky's disease, Teschen disease"]. Pokrov, 2001, pp. 184-185 (in Russian).

18. Feng L, Shi H. Y., Liu S. W., Wu B. P., Chen J. F., Sun D. B., Tong Y. E., Fu M. S., Wang Y. F., Tong G. Z. Isolation and molecular characterization of a porcine teschovirus 1 isolate from China. *Acta Virologica*, 2007, 51, (1), pp. 7-11.

19. Kaku Y., Chard L. S., Inoue T., Belsham G. J. Unique characteristics of a picornavirus internal ribosome entry site from the porcine Teschovirus-1 Talfan. *Journal of Virology*, 2002, 76, (22), pp. 11721-11728.

20. Salles M. W., Scholes S. F., Dauber M. Porcine teschovirus polioencephalomyelitis in western Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2011, 23, (2), pp. 367-373.

21. Larski Z. *Diagnostika virusnykh boleznei zhivotnykh* [Diagnosis of virus diseases of animals]. Moskov, Kolos, 1980. 400 p. (In Russian).

22. Prysokha V. A., Sobko A. I., Manziy K. V. Metodicheskie rekomendatsii po opredeleniy antigennogo rodstva, raslichiy i dominantnosti virusov v serologicheskikh reakciyah. K., 1978. — 20 p. (In Russian).

23. Chistiakov I. A. Statisticheskie metody v virusologicheskikh issledovaniiah [Statistical Methods in virological investigations]. *Rukovodstvo po veterinarney virusologii* [Guide to veterinary virology] / V. N. Siurin (ed.). Moskov, Kolos, 1966, pp. 390–407 (in Russian).