

ВИВЧЕННЯ ПРИРОДИ ЕМЕРДЖЕНЦІЇ АФРИКАНСЬКОЇ ЧУМИ СВИНЕЙ: ЯКА РОЛЬ ЇЇ АСОЦІЙОВАНИХ ІНФЕКЦІЙ?

Бузун А. І. *

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: epibuz@ukr.net

Ефективність контролювання африканської чуми свиней (АЧС) залежить від повноти наукових знань про природу її укорінення та поширення. Недостатній контроль ситуації щодо цієї хвороби підпадає під визначення емерджентних, тобто не керованих традиційними заходами чи засобами, форм інфекційних хвороб.

Мета досліджень – вивчити можливість удосконалення методології виявлення асоційованої інфекції АЧС і пастерельозу свиней як емерджентної форми АЧС.

Матеріали та методи. У 3 дрібнотоварних свиного господарствах, неблагополучних щодо асоціативних інфекцій за участі збудників цирко- і парвовірусної інфекцій свиней (ЦВІС і ПВІС, відповідно) виникла АЧС. Після проведення впродовж 50–60 діб необхідних карантинних заходів (стемпінг-аут, дезінфекція тощо) у свинарниках 4–6 тижнів утримувалися

4–5-місячні підсвинки, негативні щодо пастерел, а також антитіл проти збудників АЧС, ЦВІС і ПВІС. Обстеження господарств, бактеріологічні та серологічні дослідження отриманих результатів проводили згідно Методичних рекомендацій з контролювання емерджентних форм репродуктивно-неонатальних інфекцій свиней (ДКВМ, 2011), а ELISA на АЧС – згідно настанови CISA-INIA (Іспанія).

Результати досліджень. На даних моніторингу оздоровлених від АЧС господарств Сумської (випадки № 36, 37 та 85; n=45 проб) і Чернігівської областей (випадки № 23 та 35; n=27 проб) у порівнянні з господарствами на територіях спостережних зон по АЧС у Сумській області (n=38 проб) та на територіях вільних від АЧС у Харківській області (n=23 проби) визначено активну участь пастерел *Manheimia hemolytica* у епізоотичному процесі АЧС. Отримано нові знання щодо прихованого поширення АЧС через часткове пригнічення інфекційної активності її збудника під впливом лейкотоксину гемолітичної пастерели. На рівні вірогідності $P \leq 0.01$ (n=230) показано, що лише він, і лише у діапазоні розведень 1:10-1:40 (n=3 повторності), але не дермонекротичний токсин *P. multocida* (n=3) чи екзотоксин *C. perfringens* (n=3) гальмує цитопатичну дію збудника хвороби Ауескі – сурогатного вірусу для вивчення екології збудника АЧС. У одному з трьох господарств свині-сентинелі (n=3 з 5) захворіли на пастерельоз (клінічні ознаки та бактеремія *Pasteurella multocida*), паренхіматозні органи хворих і здорових підсвинок у ПЛР були негативними на АЧС. У підсвинка, що вижив, у всіх ректальних і носових квачах, що відбирали тричі з інтервалом 1,5–2 тижні, але не у пробах крові, постійно виявлялися *Pasteurella multocida* та *Manheimia haemolytica*. У пробах крові цього підсвинка, взятих через 2 міс. після видужання виявлені антитіла проти АЧС у діагностичному титрі.

Висновок. Збудник АЧС здатен до персистенції на свинях у складі вірусно-бактерійних асоціацій. Зазначена персистенція збудника у ПЛР не виявляється. Для виявлення зазначеної персистенції доцільно використовувати серологічні дослідження свиней.

Ключові слова: африканська чума свиней, пастерельоз, персистенція вірусу, рот ховане поширення хвороби

На сьогодні в Україні постала проблема недостатньо ефективного контролю африканської чуми свиней (АЧС). Традиційні заходи ліквідації цієї особливо небезпечної хвороби, що застосовуються з 2007 року в її Євразійському нозоареалі (скорочено ЄАН; наше визначення), «спрацьовують» лише на уповільнення, а не на обрив епізоотичного процесу. Нозоареал АЧС щороку поширюється, за нашою оцінкою, у середньому на 400–450 км² і в дикій природі вже утворилися стаціонарні вогнища, які поступово набувають ознак природних осередків АЧС. Тобто на сьогодні ознаки поширення та укорінення АЧС підпадають під визначення емерджентних, тобто не керованих традиційними заходами чи засобами, форм інфекційних хвороб. До 2016 року наукова думка, що з самого початку активно поширювалася російськими науковцями і згодом була підтримана фахівцями ЄЕС [1, 2], аргументовано доводила, що збудник у ЄАН (асфарвірус 2-го генотипу) є високовірулентним і здатен викликати лише гострі летальні форми хвороби. Проте вже на тренінгу ФАО 2006 року в Києві експерти ЄЕС д-р Клаус Делнер, д-р Аго Пертель і д-р Вітторіо Губерті оприлюднили зовсім іншу наукову думку: «АЧС (генотип II, що циркулює у східній Європі) не є хворобою з високим ступенем заразності, оскільки не проявляє ознак швидкого поширення у стаді сприйнятливих тварин. Тобто, АЧС, на відміну від ящуру, грипу чи класичної чуми свиней — це інфекція, що повільно поширюється у стаді і можуть пройти тижні, а то й місяці, поки у стаді інфікуються всі тварини. Зазвичай першими страждають 1–2 тварини, згодом, вірус поширюється на все стадо. «Типові» клінічні ознаки хвороби спостерігаються уже тоді, коли заражена велика кількість тварин» (<http://www.asf.vet.ua/index.php>).

З 2015 року (після спалаху АЧС у АФ «Козацька», спалах № 37) ми сформулювали гіпотезу про суттєвий вплив на перебіг АЧС асоційованої мікрофлори. Адже добре відомо, що з самого початку заносу цієї хвороби (м. Поті, Грузія, 2007) присутність в пробах 2-го типу цирковірусу свиней на місяці затримала проведення заходів проти неї [3]. У 2010–2015 рр. ми отримали експериментально-аналітичні дані про безпосередню участь асоціативної мікрофлори у емерджентній хворобі Ауескі (ХА), Тешена (ХТ), класичної чуми (КЧС). Зокрема на моделях *in vitro* було показано здатність збудників ХА, ХТ та КЧС адсорбуватися на певних видах бактерій нормальної та патогенної мікрофлори свині, що призводить до розширення спектру факторів передачі інфекції і посилює витривалість збудника до екстремальних факторів довкілля [4]. Такий механізм емерджентної хвороби є значно менш відомим і вивченим, у порівнянні з класичним механізмом «траффіку збудника», тобто розширення спектру його біологічних господарів [5] – який ми виявили раніше у ХТ у Брянській області РФ [6]. На нашу думку, взаємодія вірусів тварин і бактерій довкілля існує і не може не позначатися на епізоотичному процесі ХА, ХТ чи КЧС. То чому АЧС має бути виключенням?

Тож ми поставили перед собою мету вивчити можливі фактори впливу на вірулентність збудника АЧС з боку асоціативної мікрофлори, з завданням удосконалити методологію виявлення асоціованої інфекції АЧС і пастерельозу свиней як емерджентної форми АЧС. Оскільки в Україні, на жаль, немає можливості для проведення екологічних експериментів безпосередньо з вірусом АЧС, ми використовували вірус ХА, який традиційно слугує «сурогатним» збудником у таких випадках [7]. Для удосконалення діагностики емерджентної форми АЧС керувалися даними, що антитіла є ключовим чинником патогенезу АЧС і супроводжують інфекційний процес від його початку до закінчення [8]. Тому не випадково серологія була важливим діагностичним інструментом іспанської програми викорінення АЧС [9]. До того ж французькі вірусологи вказують на значну ефективність зворотної радіальної імунодифузії (РІДз) для серологічної діагностики АЧС [10].

Матеріали та методи. Роботу виконано в лабораторії вивчення хвороб свиней ННЦ «ІЕКВМ». Силами відомчої служби ветеринарної медицини у 4-х оздоровлених від АЧС господарствах Чернігівської, Сумської та Одеської областей від хворих на «хронічний пастерельоз» свиней у 2016–2017 рр. відібрали 12 проб крові свиней-сентинелів. В одному господарстві Чернігівської і двох господарствах Сумської областей також було відібрано проби селезінки, нирок і легень від двох трупів і одного вимушено забитого підсвинка з діагнозом «пастерельоз свиней». За місяць до забою у хронічно хворого на «пастерельоз» підсвинка тричі з інтервалом 5–7 діб відбирали проби назальних і ректальних мазків. Всі піддослідні тварини за результатами перевірки фахівцями Держпродспоживслужби були негативними у ПЛР. Лабораторну діагностику АЧС методами імунофлуоресценції та ПЛР у чинному порядку проводила Держпродспоживслужба.

Віруси та антигенні матеріали. Вірус хвороби Ауескі – штами «18в-УНДІЕВ» (1962 року виділення, Харківська область) та «1082» (2012 року виділення, Донецька область), з інфекційною активністю $5,0\text{--}7,5 \lg \text{TCID}_{50/\text{мл}}$, адаптовані до культур клітин свині РК-15, ПТП та СНЕВ.

Культури клітин – перещеплювана культура клітин нирки свині лінії СНЕВ підтримували згідно паспортних вимог у відділі біотехнології ННЦ «ІЕКВМ» і використовували у вигляді 2–4-добових моношарових культур, вирощених у пробірках та у пластикових матрасах у посівних концентраціях 600–700 тис. і 350–400 тис. клітин/см³, відповідно.

Вірус-специфічні сироватки – референс-сироватки проти вірусу ХА позитивні й негативні, виготовлені у референс-центрі МЕМ при Національному науково-ветеринарному центрі Польщі PIWet (м. Пулави). Аналогічні сироватки проти вірусу АЧС отримали з референс-центру МЕМ при Національному науковому центрі CISA-INIA (Іспанія).

Серологічні дослідження проб крові та екстрактів («м'ясного соку») паренхіматозних органів методами ELISA та в РІДз здійснювали з використанням діагностиків АЧС, люб'язно наданих у 2012 році з CISA-INIA (Іспанія, Prof. M. Arias, Doc. C. Gallardo), та з дотриманням вимог зберігання (за температури мінус 25 °С) і біобезпеки.

Бактеріологічні дослідження (Бактеріологічні дослідження проводила канд. вет. наук О.В. Кольчик). Виділення, ідентифікацію та культивування бактерійних культур пастерел з проб патологічного матеріалу проводили згідно з чинним СОП ННЦ «ІЕКВМ».

Вивчення впливу бактерійних екзотоксинів на репродуктивну активність вірусів вивчали з використанням модельного вірусу, схожого за основними біологічними властивостями (тип нуклеїнової кислоти геному, за фізичною та хімічною стійкістю тощо) – вірусу ХА (штам «УНДІЕВ-18в»). Препарат лейкотоксину гемолітичних пастерел (*Mannheimia haemolytica*) готували шляхом стерилізуючої фільтрації за 4 °С (разова насадка для шприца, діаметр пор 0,22–0,3 мкм, Китай) бакмаси бактерій, вирощених на переварі Хоттінгера за 37 °С впродовж 2,5–3,5 год. (Li J., Clinkenbeard K. D. (1999). Препарат дерматонекротичного токсину *Pasteurella multocida* готували аналогічно за методикою Magyar, T. & Rimler, R.B. (1991). У якості екзотоксину клостридій використовували комерційний препарат ϵ -токсину клостридій (*Epsilon toxin*), люб'язно наданий у 2013 році для спільних досліджень з ХДЗВА з Університету ім. Гумбольдта (Берлін, Німеччина). Вплив екзотоксинів на реплікацію вірусу ХА вивчали шляхом зараження культур клітин вірусом ($3,25\text{--}3,75 \lg \text{TCID}_{50}$) у суміші з відповідним екзотоксином у концентраціях екзотоксину, що не викликали цитопатичної дії. Залишки і лабораторні відходи 1 год. і більше дезактивували перекисом водню (к.к. 1 %) або хлораміном (к.к. 0,5 %) з наступним автоклавуванням (2 атм, 110 °С, 30 хв.)

Оцінка результатів токсикологічно-вірусологічних випробувань. Оскільки за літературними даними всі ізоляти вірусу АЧС в ЄАН є виключно високовірулентними, то, на нашу думку, єдиним способом його тривалого приживлення в організмі/персистенції може бути лише зменшення до відповідного рівня його репродуктивної активності. Отже в якості критерію впливу екзотоксину на вірулентність збудника АЧС приймалося зменшення чи повна відсутність репродуктивної активності в культурі клітин СНЕВ сурогатного вірусу (збудника хвороби Ауескі) у суміші з тим чи іншим екзотоксином – з урахуванням діючої концентрації токсину.

Результати досліджень. 1. Вивчення зв'язку між поширенням та укоріненням АЧС і зараженістю свиней/диких кабанів гемолітичною пастерелюю. На зв'язок між укоріненням АЧС і зараженням свиней/диких кабанів гемолітичною пастерелюю

прямо вказують польові дані, отримані нами з Охтирського району Сумської області, епізоотична ситуація у якому тісно пов'язана з ситуацією у сусідньому Конотопському районі цієї ж області. Так у регулярно обстежуваному нами господарстві в період з перших спалахів АЧС у Конотопському районі (випадки №№ 35 і 36, 2015 рік) до останнього (випадок № 85, серпень 2016 року) з клінічних і патологічних матеріалів пастерели не виділялися, реєструвалася асоційована інфекція за участі ЦВС-2, вірусу РРСС, клостридій та пневмококу. У жовтні 2016 року у перебігу клінічного обстеження свиногоголів'я з приводу різкого зниження життєздатності молодняка і репродуктивних розладів свиней маточного стада у групі дорощування було виявлено поодинокі особини (n=7 з 53) з підвищеним апетитом і відставанням у рості, з розлогими некротичними виразками шкіри шиї, рила та/або тулуба, з періодичним сухим кашлем. У лейкоцитах трьох з трьох таких підсвинків виявлено ЦВС-2, у носових і ректальних квачах – суміш гемолітичної і мультицидної пастерел, а сироватки крові всіх 7 підсвинків були серопозитивні в ELISA з цитоплазматичним вірусним антигеном виробництва CISA-INIA (Іспанія) на АЧС (титри 1:30–1:120).

Висунуту нами наукову гіпотезу підтверджують клінічні спостереження в осередку АЧС на свинофермі «Агрофірма Козацька» (випадок № 36) у 2015 році: свині-пастерелоносії (*M. haemolytica* у суміші з *P. multocida*), заражені вірусом АЧС, тривалий час (не менше 4 місяців) не проявляли жодних ознак АЧС (у жодній з більше 18, що загинули впродовж 3-х місяців, не було ознак гарячки, жодних крововиливів, апетит був зменшений але не втрачений тощо) і вірус АЧС двічі не був виявлений Держветфітослужбою у лімфовузлах і селезінці полеглих свиней, що направлялися для діагностичного дослідження у чинному порядку. Діагноз на АЧС було поставлено у чинному порядку методами ПЛР та МФА (антиген у препаратах-відбитках) лише після застосування протоколу санації свиногоголів'я від пастерельозу (довідка ННЦ «ІЕКВМ» для НААН і Сумського управління Держветфітослужби від 24.08.2015).

Отже згідно отриманих результатів визначено статус свиногоголів'я господарств щодо вірусно-бактерійних мікст-інфекцій, що дало змогу припустити активну участь цих інфекцій у прихованому розширенні нозоареалу АЧС.

На оздоровлених від АЧС територіях Сумської та Чернігівської областей на свиногоголів'ї за серологічними даними циркулюють збудники репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС), цирковірусної інфекції (ЦВІС), хвороби Ауескі (ХА) та пастерельозу, а за бактеріологічними – за участі пастерел *M. haemolytica* та *P. multocida*. Виходячи з гіпотези природної вогнищевості пастерельозу, ці дані доводять, що на оздоровлених від АЧС територіях (випадки № 23, 35, 36, 37 та 85) епізоотичний ланцюг від дикого кабана до домашнього свиногоголів'я (і навпаки) зберігається з усіма відповідними ризиками. У спостережних зонах Сумської та Чернігівської областей до вересня 2016 року свиногоголів'я мало клінічні, серологічні та бактеріологічні ознаки ураження мікст-інфекцією *P. multocida*, *Cl. perfringens*, ЦВІС, парвовірусу свиней (ПВІС) і РРСС. Те саме спостерігалось і у свиногоголів'я Харківської області до виникнення восени 2016 року АЧС. З серпня-вересня 2016 року у окремих пробах з Сумської, Кіровоградської і Запорізької областей почали виявлятися ознаки циркуляції *M. haemolytica* spp. Оскільки це відбувається на тлі погіршення епізоотичної ситуації по АЧС, можна припустити, що хвороба приховано поширюється у вигляді асоціативної інфекції з гемолітичним пастерельозом *M. haemolytica* spp.

2. Вивчення можливих факторів впливу на вірулентність збудника АЧС з боку асоціативної мікрофлори (Біомасу бактерій накопичувала і проводила контроль їхньої активності канд. вет. наук О.В. Кольчик). Оскільки вся етіологічно значима асоціативна мікрофлора (пастерели, мангеймії та клостридії) була токсинуотворюючою, то досліджуваними факторами впливу бактерій на вірулентність/репродуктивну активність вірусу АЧС було визначено екзотоксини *Pasteurella multocida* (дерматонекротичний токсин), *Mannheimia haemolytica* (лейкотоксин) та *Clostridia perfringens* spp. (alpha toxin). На першому етапі проводили валідацію препаратів бактерійних екзотоксинів. На рис. 1 наведено основні результати випробувань активності екзотоксинів у відповідних біологічних системах. Препарат лейкотоксину мангеймії (рис. 1А) у розведенні 1:10 викликав ЦПД у культурі лейкоцитів ВРХ вже на другу добу після її інокуляції, але жодним чином не впливав на життєдіяльність культури СНЕВ. Препарат дерматонекротоксину пастерел викликав утворення виразок у місцях його внутрішньошкірного введення у дозі 0,05мл у всіх перевірених розведеннях – 1:10, 1:100 і 1:1000, ефект був дозо-залежним (рис. 1Б); у жодній концентрації препарат (крім 1:4 і вище) не впливав на життєдіяльність культури СНЕВ. У цій культурі клітин ϵ -токсин клостридій викликав ЦПД лише у розведеннях 1:50 і менше (рис. 1В), тому для випробувань впливу на репродуктивну активність вірусу ХА він був взятий у розведеннях 1:100 та 1:1000, тоді як решта бактерійних екзотоксинів – у максимальних дозах (з 1:10).

При перевірці впливу зазначених бактерійних екзотоксинів на репродуктивну активність вірусу ХА (обидва штами) встановлено, що екзотоксини *Pasteurella multocida* (дерматонекротичний токсин) та *Clostridia perfringens* spp. (Epsilon toxin) у жодній перевірених концентрації майже не впливають на репродуктивну активність сурогатного вірусу АЧС. Лише у першому розведенні (1:100) ϵ -токсин дещо сприяв збільшенню титру вірусу (приріст вірусної маси на рівні 0,75–1,0 ТЦД_{50/мл}). Одночасно екзотоксин *Mannheimia haemolytica* (лейкотоксин) у розведенні 1:10 повністю блокує розмноження вірусу (n=8, P<0.01), а у розведенні 1:20 відтермінує його реплікацію (n=8, P<0.01). У таблиці 1 представлено результати контролювання активності пастерельозного лейкотоксину зі штамом «1082».

Такі ж результати отримано і зі штамом «УНДІЕВ». Встановлено, що репродукція вірусу ХА у клітинах СНЕВ без токсину і в присутності лейкотоксину в розведенні 1:80 відбувалася без жодних затримок і спотворень: типове для збудника ХА ЦПД розвивалося в перших розведеннях вірусу вже на другий день після зараження культури клітин і тривало типовий 4–6 добовий термін до повного проявлення інфекційності вірусу у всіх його розведеннях (до розведення 1:10000). У той же час, у присутності лейкотоксину, взятому у розведенні 1:10, ЦПД вірусу у зазначений термін спостереження (4 доби) у жодному з його розведень не проявилось. У присутності пастерельозного лейкотоксину, взятому в розведеннях 1:20 та 1:40, ЦПД вірусу спостерігали лише у його розведеннях 1:10 і частково (50 % пробірок) 1:100. Ці результати демонструють суттєву пригнічуючу дію пастерельозного лейкотоксину на сурогатний вірус збудника АЧС – вірус ХА.

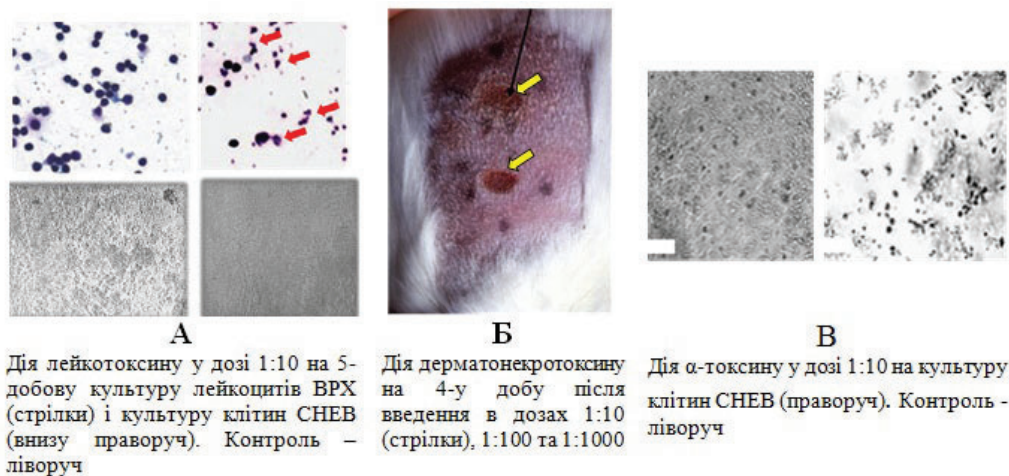


Рис. 1. Результати перевірки активності бактерійних токсинів у біологічних системах (докладніше – за текстом)

Таблиця 1 – Результати вивчення впливу токсину польового ізоляту гемолітичної пастерели (шт. «Сумський-2015») на цитопатичну активність штаму 1082 вірусу ХА (виділений на Донбасі у 2012 році)

Доба обліку	Облік ЦПД у пробірках з розведеннями (n=4 на кожне) вірусу ХА, шт. 1082 (-lg)					
	Без токсину					
1	0000	0000	0000	0000	0000	0000
2	##++	++++	0000	0000	0000	0000
3	####	##++	++00	0000	0000	0000
4	-	####	##00	0000	0000	0000
Токсин 1:10						
1	0000	0000	0000	0000	0000	0000
2	0000	0000	0000	0000	0000	0000
3	+000	+000	0000	0000	0000	0000
4	+++0	++00	+000	0000	0000	0000
Токсин 1:20						
1	0000	0000	0000	0000	0000	0000
2	+000	0000	0000	0000	0000	0000
3	++++	++00	+000	0000	0000	0000
4	####	##00	++00	0000	0000	0000
Токсин 1:40						
1	0000	0000	0000	0000	0000	0000
2	++00	+000	0000	0000	0000	0000
3	###+	#000	0000	0000	0000	0000
4	#	++	++00	0000	0000	0000

3. Удосконалення методології виявлення асоційованої інфекції АЧС і пастерельозу свиней як емерджентної форми АЧС проводили на основі серологічних і бактеріологічних досліджень проб від свиней-сентинелів, що утримувалися у оздоровлених господарствах і перевірені Держпродспоживслужбою на відсутність АЧС у чинному порядку.

Встановлено, що у двох господарствах де сентинелі стали проявляти клінічні ознаки пастерельозу: летальність підсвинків склала по обом господарствам 15 %, з ознаками ураження легень, масивні фіолетового кольору плями крововиливів у шкіру, мокрі екземи на шкірі тулуба та голови, за відсутності гарячки. Всі проби, відправлені в чинному порядку Держпродспоживслужбі від цих підсвинків були негативними щодо АЧС (за даними з господарств – у ПЛР та МФА). Для досліджень на пастерельоз періодично – раз на тиждень від трьох підсвинків з ознаками хронічного пастерельозу (періодичний сухий кашель, некротичне ураження – виразки шкіри, за ознак збереження апетиту і фізіологічної норми ректальної температури) відомчі лікарі відбирали проби ректальних і носових змивів, а також крові: від підсвинків №№ 2 і 3 впродовж 2-х тижнів (до їх діагностичного забою), а від підсвинка № 1 – упродовж 6 тижнів для мікробіологічних досліджень. За результатами останніх в жодному випадку з крові підсвинків бактерії не висівалися, але у всіх пробах ректальних та носових квачів впродовж всього часу спостереження виявлено бактерії родів *Mannheimia haemolytica* spp, *Pasteurella multocida* та *Neisseria* spp. (дані О. В. Кольчик). У крові всіх трьох підсвинків виявлено антитіла проти 2-го типу цирковірусної інфекції (ЦВІС), а одного з них – сироваткові антитіла проти вірусу АЧС (1:40) в ELISA, а у всіх трьох – додатково тканинні антитіла проти АЧС у РІДз (рис. 2). Антитіла проти АЧС також виявлено у пробах сироваток крові 3% підсвинків-сентинелів з цих господарств (таблиця 2).

Таблиця 2 – Результати серологічних досліджень (докладніше – за текстом)

Проби	Підтвердження АЧС-серопозитивності (позитивних проб / всього проб)	
	ELISA ¹	РІДз ²
селезінки підсвинків №№ 1–3 (n=3)	0/3	3/3
нирки підсвинків №№ 1–3 (n=3)	0/3	1/3
легені підсвинків №№ 1–3 (n=3)	0/3	0/3
сироватки підсвинків (n=12)	5/12	3/12

¹ Примітки: ¹ – проби перевірялися у одному розведенні: 1:40 сироватки і 1:10 тканинні екстракти (згідно настанови CISA-INIA); ² – усі проби у розведенні 1:4 на 0,8 %-ному (к.к.) гелі агару

З таблиці 2 видно, що у тканинних екстрактах навіть серопозитивного на АЧС підсвинка методом ELISA антитіл не виявлено, тоді як в реакції зворотної радіальної імунодифузії по Манчині більшість проб селезінок і нирок (4 з 6) були позитивними на антитіла проти АЧС (див. також рис. 2). Оскільки в ELISA використовується кон'югат проти IgG, отримані результати можуть свідчити про те, що тканинні антитіла проти АЧС у досліджених пробах можуть належати іншим імуноглобуліновим класам.

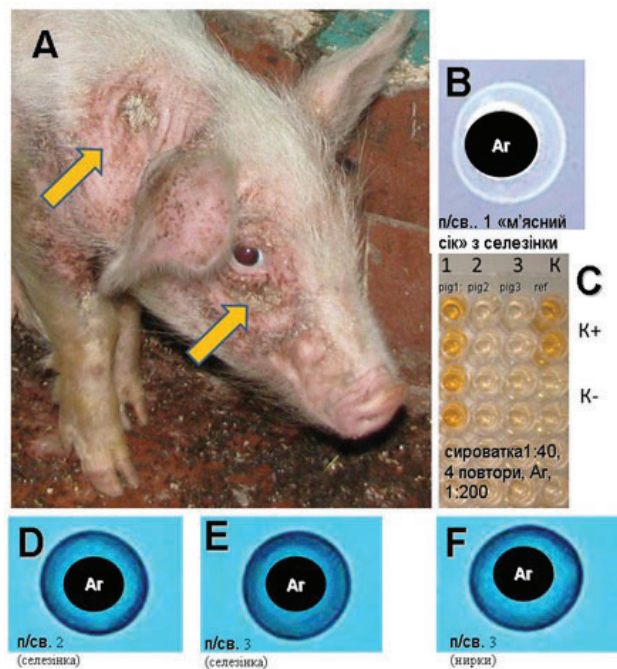


Рис. 2. А– Порося-сентинель серопозитивне на АЧС; В-Ф – результати серологічних реакцій

На рис. 2 узагальнено найбільш важливі, на нашу думку, результати клінічних спостережень та серологічних досліджень по трьом зазначеним вище підсвинкам-сентинелям

Зрозуміло, що отримані дані є попередніми і з них поки що можна зробити висновок про дуже важливе значення серологічних досліджень для моніторингу та діагностики АЧС, а також про необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

Висновки. Отримані дані слід вважати попередніми, оскільки дослідження проводилися з використанням сурогатного вірусу.

1. Збудник АЧС здатен до персистенції на свинях у складі вірусно-бактерійних асоціацій.
2. Зазначена персистенція збудника у ПЛР не виявляється.
3. Для виявлення зазначеної персистенції доцільно використовувати серологічні дослідження свиней.

Для перевірки отриманих результатів зі збудником АЧС та подальшого удосконалення знань з природи африканської чуми свиней в її Євразійському нозоареалі потрібні подальші інтенсивні дослідження на обладнаній відповідними засобами біологічного захисту науково-технічній базі.

Список літератури

1. Африканская чума свиней в Российской Федерации (2007-2012). Документ ФАО по животноводству и охране здоровья животных №178, ФАО-2014, 77 с.; Балышев В.М., Куриннов В.В., Колбасов Д.В. и др. 2010. Биологические свойства вируса африканской чумы свиней, выделенного в Российской Федерации. // Ветеринария, №7, с. 25-27;
2. Gabriel, C., Blome, S., Malogolovkin, A. etc. 2011. Characterization of African Swine Fever Virus Caucasus Isolate in European Wild Boars. *Emerg. Infect. Dis.*, 1, 2342-2345; M.C.Gallardo, A.T. Reoyo, J.Pinero, etc. 2015. African swine fever: a global view of the current challenge. *Porcine Health Management*, 2015, 1:21.
3. Rowlands R.J., Michaud V., Heath L., Hutchings G., Oura C., Vosloo W., Dwarka R., Onashvili T., Albina E., Dixon L.K. African swine fever virus isolate, Georgia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008 Dec;14(12):1870-4.
4. Бузун А.І. Вивчити фактори хазяїн-специфічної взаємодії та особливості експресії протективних антигенів збудників герпес-, рабдо- та пікорнавірусної інфекції свиней [Текст]// Кольчик О.В., Прохорятова О.В., Стегній М.Ю., Заремба О.В. та ін.// Звіт заключний про НДР за завданням НААН України 32.01.1-05, № державної реєстрації 0111U000789, 90 с.
5. Morilla A. *Emerging and Reemerging Viral Diseases of Swine* [Text] /Yoon K.-J., Zimmerman J.J.// Iowa State Press.- A Blackwell Pub. Co.- 2002.- 387 p.
6. Бузун А.І. Біологічна передача вірусу хвороби Тешена гризунами [Текст] / А.І. Бузун, Бабкін М.В. // Ветеринарна медицина. – 2000. – Т. 78 (І). – С. 33- 34; Бузун, А. Полігостальність збудника тешенської хвороби свиней у паразитологічному аспекті [Текст] / А. Бузун, В. Апатенко // Ветеринарна медицина України. - 2003. - № 2. - С. 8-10.
7. MORLEY, R.S. A model for the assessment of the animal disease risks associated with the importation of animals and animal products *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1993, 12 (4), 1055-1092.
8. Lacasta A., Monteagudo P.L., Jiménez-Marín A. etc. Live attenuated African swine fever viruses as ideal tools to dissect the mechanisms involved in viral pathogenesis and immune protection. *Vet Res.* 2015 Nov 20;46:135.
9. Arias M, Sánchez-Vizcaino JM. African swine fever eradication: The Spanish model. In: Morilla A, Jin K, Zimmerman J, editors. *Trends in Emerging Viral Infections of Swine*. 1st ed. Ames, IA, USA: Iowa State University Press; 2002. p. 133–9.
10. African swine fever: an overview, access: <http://pigtrop.cirad.fr-Copyright CIRAD 2015>.

STUDY OF DRIVING FORCES OF THE AFRICAN SWINE FEVER EMERGENCE: WHAT IS MEAN OF IT'S CONCURRENT INFECTIONS?

Buzun A. I.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

*Analysis of experimental and field data in 2016 allowed the hypothesis of a hidden distribution ASF likely through inhibition of the agent reproduction in some diapason of the hemolytic *Pasteurella* exotoxin concentrations (Buzun A. I, 2016). Because it is accompanied by underlimit of ASF diagnosis accumulation of antigenic and genetic material of the ASF agent, we estimated of usefulness serological methods diagnostics for such concurrent *Pasteurella*-ASF infections.*

Methods. For the detection of antibodies against the ASF in pigs blood conducted ELISA with CISA-INIA' diagnostics (from Prof. M. Areas, 2013). For research of ASF antibodies in the tissues of the spleen, kidneys and lungs of the pigs with diagnosis of hemolytic pasteurellosis and negative ASF-PCR results we used the radial immunodiffusion by Mancini (RID) and cytoplasmic antigen CISA-INIA.

Results. Antibodies against ASF found in the blood with both ELISA and RID methods - in dead pig as well as in pig with chronic illness (more than 2 month). The ASF tissue antibodies was found only in the spleen and kidney of porcine chronic disease and only by RID.

Conclusions. Concurrent ASF - hemolytic pasteurellosis infections mainly isn't diagnosed in PCR, but was detected serologically by serum and tissue antibodies. Last ones are not detected in commercial ELISA for IgG but were detected by RID which may be reveal specific Ab of not IgG' class.

Keywords: African Swine Fever, Concurrent Infections, Bacterial Exotoxins, Agent' Rooting