

Original researches

Colostrum immunity of piglets to the Aujeszky disease virus in case of active immunization sows

K. O. Holda, D. M. Masiuk, A. V. Kokariev, T. O. Vasilenko
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 25 October 2020
Revised: 03 November 2020
Accepted: 27 November 2020

Dnipro State Agrarian and Economic
University, S. Efremov St. 25, 49600,
Dnipro, Ukraine

Tel.: +380-680-08-63-50
E-mail: holda.k@dsau.dp.ua

Cite this article: Holda, K. O., Masiuk, D. M.,
Kokariev, A. V., & Vasilenko, T. O. (2020).
Colostrum immunity of piglets to the Aujeszky
disease virus in case of active immunization
sows. *Theoretical and Applied Veterinary
Medicine*, 8(4), 257–260.
doi: 10.32819/2020.84037

Abstract. The current question of today is the formation of effective immune protection in young pigs against infectious diseases, achieved by piglets vaccination in the first weeks of their life. It is known that one of the factors influencing the quality of vaccination is colostral antibodies, which are able to deactivate the vaccine antigen. Considering this, it is important to determine the duration of colostral immunity of piglets to antigens of the Aujeszky's disease virus during active sows immunization. For this, was formed a group of sows of 2nd-3rd gestation periods with 25 animals in each. Sows were immunized parenterally against Aujeszky's disease with the «Adivak» vaccine at a dose of 2 ml, by mass vaccination, three times per year. The level of specific antibodies to glycoproteins E (gE) and B (gB) was determined in the blood serum of piglets before sucking colostrum and every 7 days of life until 77 days from birth by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). It was revealed that before consuming colostrum, piglets did not have specific antibodies to the antigens of the Aujeszky disease virus. From 7th till 70th days of life, all piglets had specific IgG to the antigens gB and gE of the Aujeszky disease virus, and by the seventy-seventh day, 29% of the animals were seronegative. Thus, newborn piglets before colostrum suckling do not have specific immune protection against the Aujeszky disease virus against the background of sow immunization. Consumption of colostrum by piglets promotes their formation of colostral immunity, specific to the antigens of the Aujeszky disease virus. The duration of colostral antibodies' circulation specific to the antigens of the Aujeszky disease virus in the piglets peripheral blood is 70 days. On the seventy-seventh day from birth, the level of colostral immunoglobulins decreased sharply, which contributed to the appearance of seronegative animals and an increase in their sensitivity to the action of an epizootic strain of the virus.

Keywords: Aujeszky's disease; immunoglobulins G (IgG) to glycoproteins E (gE) and B (gB); pigs; vaccination; serological control; enzyme-linked immunosorbent assay; colostrum

Колостральний імунітет поросят до вірусу хвороби Ауескі за активної імунопрофілактики свиноматок

K. O. Holda, D. M. Masiuk, A. V. Kokariev, T. O. Vasilenko
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Актуальне питання на сьогодні – це формування ефективного імунного захисту у молодяку свиней проти інфекційних хвороб, що досягається вакцинацією поросят у перші тижні життя. Відомо, що один із факторів, котрі впливають на якість вакцинації, – це колостральні антитіла, здатні дезактивувати вакцинний антиген. З огляду на це великої ваги набуває визначення тривалості колострального імунітету поросят до антигенів вірусу хвороби Ауескі за активної імунопрофілактики свиноматок. Для цього сформовано групу свиноматок 2–3-го періоду поросності з 25 голів. Свиноматок імунізували парентерально проти хвороби Ауескі вакциною «Адівак» у дозі 2 мл методом масової вакцинації тричі на рік. Рівень специфічних антитіл до глікопротеїдів Е (gE) та В (gB) визначали у сироватці крові поросят до ссання молозива та через кожні 7 днів життя до 77-ї доби від народження методом імуноферментного аналізу (ІФА). Виявлено, що поросята до ссання молозива не мають антитіл, специфічних до антигенів вірусу хвороби Ауескі. З 7-ї по 70-ту добу життя всі поросята мають специфічні IgG до антигенів gB та gE вірусу хвороби Ауескі, а вже на 77-му добу 29% тварин стають серонегативними. Новонароджені поросята до ссання молозива не мають специфічного імунного захисту проти вірусу хвороби Ауескі на тлі імунізації свиноматок. Вживання молозива поросятами сприяє формуванню у них колострального імунітету, специфічного до антигенів вірусу хвороби Ауескі. Тривалість циркуляції специфічних до антигенів вірусу хвороби Ауескі колостральних антитіл у периферичній крові поросят становить 70 днів. На 77-му добу від народження рівень колостральних імуноглобулінів різко знижується, що сприяє появі серонегативних тварин та підвищенню їх чутливості до дії епізоотичного штаму вірусу.

Ключові слова: хвороба Ауескі; імуноглобуліни G (IgG) до глікопротеїдів Е (gE) і В (gB); свині; вакцинація; серологічний контроль; імуноферментний аналіз; молозиво

Вступ

Резистентність організму тварин до збудників інфекційних захворювань залежить від функціонування імунної системи. Завдяки біологічним особливостям будови плаценти новонароджені ссавці набувають імунного захисту шляхом вживання молозива, що збагачене імунобіологічними компонентами, серед яких велике значення мають імуноглобуліни (Theil & Hurley, 2016; Poonsuk & Zimmerman, 2018; Hasan et al., 2019).

Зосередження колостральних імуноглобулінів на слизових оболонках, у поверхневих шарах шкіри та лімфатичних вузлах формує неспецифічний імунітет, основними функціями якого є перешкодження потраплянню та розмноженню збудника в організмі тварин (Elahi et al., 2006; Brandtzaeg, 2010; Quesnel et al., 2012). У свою чергу, специфічний імунітет активується за дії антигенного подразника. Механізм специфічного імунного захисту обумовлюється взаємодією специфічних антитіл з антигенами збудника, подальшою їх опсонізацією та елімінацією з організму шляхом поглинання і фагоцитозу імунними клітинами (Jalil et al., 2020).

Активувати механізм специфічного імунного захисту можливо шляхом імунізації тварин антигенами збудників інфекційних хвороб – вакцинацією (Riber et al., 2015; Langel et al., 2016). Слід зауважити, що один із найважливіших факторів у проведенні ефективної імунопрофілактики – це імунізація тварин з урахуванням рівня колостральних антитіл, специфічних до вакцинного антигену, оскільки високий рівень материнських антитіл може сприяти нейтралізації вакцинного антигену (Choe et al., 2020), що впливає на рівень імунної відповіді за введення вакцинного антигену, та, як наслідок, на захист тварин (Kielland et al., 2015; Chung et al., 2020).

З огляду на вищесказане особливо актуальним постає визначення тривалості циркуляції специфічних колостральних антитіл у крові поросят за імунопрофілактики герпесвірусної інфекції, оскільки антигени цього збудника високоімуногенні, що сприяє формуванню тривалого колострального імунітету та може впливати на час імунізації свиней (Robinson & Mahony, 2020). Мета роботи – визначити тривалість колострального імунітету поросят до антигенів вірусу хвороби Ауескі за активної імунопрофілактики свиноматок.

Матеріал і методи досліджень

Маніпуляції з тваринами проведені в рамках «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що були схвалені Національним конгресом із біоетики (м. Київ, 2001 р.) та узгоджені з положенням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для наукових цілей (м. Страсбург, 1985 р.).

Експериментальні дослідження проводили на базі свиного комплексу з технологічним циклом опорос–відгодівля, що налічував близько 11 000 голів свиней. Лабораторні дослідження проводили на базі Лабораторії імунохімії відділу імунохімії та молекулярно-генетичного аналізу Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Для дослідження сформовано групу свиноматок 2–3-го періоду поросності, що налічувала 25 голів. Свиноматок імунізували парентерально проти хвороби Ауескі вакциною «Адівак» у дозі 2 мл методом масової вакцинації тричі на рік.

Для дослідження антитіл кров відбирали від поросят, народжених від свиноматок сформованої групи, рандомно: одразу після народження (до ссання молозива) та у віці 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 та 77 днів життя. З кожної вікової групи кров відбирали від 7 поросят. Отриману кров відстоювали до утво-

рення згустка та відокремлення сироватки. Останню зливали у пластикові пробірки та заморожували за температури $-18 - -24$ °C. У замороженому стані сироватку крові зберігали до проведення дослідження.

Імуноглобуліни класу G (IgG) до глікопротеїнів E (gE) і B (gB) визначали методом конкурентного імуноферментного аналізу (ІФА) на аналізатор-фотометрі BioTek ELx800 (США) з використанням тест-систем фірми «ID vet» (Франція).

Відповідно до рекомендацій щодо діагностичного набору «ID Screen Aujeszky gB Antibody Competition», сироватку крові перед тестуванням розводили у співвідношенні 1 : 4. Зразок вважали позитивним при значенні показника S/N менше або що дорівнює 30%. Згідно з інструкцією до набору «ID Screen Aujeszky gE Antibody Competition», сироватку крові перед тестуванням розводили у співвідношенні 1 : 5. Зразок вважали позитивним при значенні показника S/N менше або рівного 60%. Відповідно до настанов використаних тест-систем рівень антитіл у сироватці крові свиней є обернено пропорційним значенню S/N.

Варіаційно-статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення Statistica 6 (StatSoft Inc, USA). Вірогідність відмінностей оцінювали за критерієм Стюдента або його не параметричним аналогом – критерієм Вілкоксона. Вибіркові параметри, наведені в статті, мали такі позначення: \bar{x} – вибіркове середнє; SE – стандартна похибка середнього; CV – коефіцієнт варіації показника в групі.

Результати

Детекція IgG до gB вірусу хвороби Ауескі

Отримані результати характеризують рівень специфічних до антигенів вірусу хвороби Ауескі антитіл у сироватці крові поросят упродовж 77 днів життя і вказують на період формування колострального імунітету та його тривалість.

Установлено, що поросята до ссання молозива не мають специфічних антитіл до антигенів gB хвороби Ауескі (табл. 1).

Дослідження поросят старших вікових груп вказують на наявність антитіл до антигенів збудника хвороби Ауескі у 100% тварин до 10-тижневого віку. Середнє значення показника S/N, за дослідження сироваток крові від поросят із 7-ї до 49-ї доби життя, перебуває в діапазоні від 6% до 11%, а показник CV коливається у межах 22–32%.

У старших поросят виявлено зміни досліджуваних показників, що характеризуються збільшенням показника S/N у 56-добових свиней у 1,8 раза ($P \leq 0,01$), а у 63- та 70-добових тварин – у 2,6 раза порівняно до значень поросят 7-добового віку.

Найвище середнє значення показника S/N виявлено у свиней 77-добового віку, що достовірно більше у 5,2 раза ($P \leq 0,01$), порівняно до значень поросят 7-ї доби життя та у 2,1 раза більше за значення 70-добових свиней. Слід зазначити, що серед поросят 77-добового віку 29% не мають специфічних імуноглобулінів до gB вірусу хвороби Ауескі в діагностичному титрі 1 : 4, що сприяло підвищенню значення показника S/N у тварин цієї вікової групи.

Таким чином, поросята до ссання молозива не мають антитіл специфічних до антигенів gB вірусу хвороби Ауескі. Із 7-ї по 70-му доби життя всі поросята мають специфічні IgG до антигенів gB вірусу хвороби Ауескі, а вже на 77-му добу 29% тварин стають серонегативними.

Детекція IgG до gE вірусу хвороби Ауескі

Результати дослідження специфічних IgG до антигенів gE вірусу хвороби Ауескі у поросят свідчать, що новонароджені до ссання молозива серонегативні, на що вказує високий показник S/N у 100% тварин цієї вікової групи (табл. 2).

Таблиця 1 – Рівень специфічних антитіл до антигенів gB вірусу хвороби Ауескі у сироватці крові поросят ($x \pm SE$, $n = 7$)

Вік тварин, доба	Кількість серопозитивних тварин	S/N, %	CV, %
0	0	74,14 ± 5,17	18
7	7	7,00 ± 0,62	23
14	7	7,43 ± 0,75	27
21	7	6,14 ± 0,51	22
28	7	8,29 ± 0,87	28
35	7	11,43 ± 1,39	32
42	7	7,71 ± 0,87	30
49	7	6,43 ± 0,65	27
56	7	12,57 ± 1,19**	25
63	7	18,57 ± 1,07***	15
70	7	17,14 ± 1,01***	16
77	5	36,43 ± 6,77***	49

Примітка: різниця вірогідна за значення * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$ відносно значень поросят 7-ї доби життя.

У поросят після ссання молозива показник S/N різко зменшується (більше ніж у 13,5 раза) і зберігається на цьому рівні до 42-ї доби життя. Показник варіабельності значень у тварин цих вікових груп коливається у межах від 27 до 48%, що вказує на достатньо високу гомогенність показника S/N серед поросят досліджуваних груп.

Починаючи з 7-го тижня від народження поросят показник S/N поступово збільшується. Так, із 49-ї доби життя показник збільшився майже у 3,5 раза ($P \leq 0,001$), а на 56-ту добу в 4,3 раза порівняно до значень свиней 7-ї доби життя.

Найвище значення S/N виявлено у поросят 77-добового віку, що більше ніж у п'ять разів перевищувало показники тварин 7-ї доби життя ($P \leq 0,05$); це зумовлено наявністю 29% серонегативних свиней.

Отже, новонароджені поросята до ссання молозива серонегативні за антигеном gE вірусу хвороби Ауескі. Із 7-ї доби життя всі тварини мають антитіла до антигенів збудника хвороби Ауескі та зберігають їх упродовж 70 діб життя.

Обговорення

Вживання поросят упродовж підсисного періоду залежить від рівня їх імунного захисту. Останнє тісно пов'язане зі споживанням молозива. Воно містить широкий спектр імунобіологічних речовин, які у нативному вигляді надходять до організму поросят, де і виконують функції імунного захисту, забезпечуючи реактивність імунної системи організму поросят у перші тижні життя (Kokarev & Masiuk, 2017; Choe et al., 2020).

Основні імунні білки молозива – це імуноглобуліни, які мають певний період напіврозпаду (Bertran et al., 2018; Sedeik et al., 2019). Все це сприяє поступовому зменшенню рівня антитіл у сироватці крові, що, у свою чергу, знижує резистентність тварин (Esposito et al., 1988).

Результати досліджень свідчать, що у разі вакцинації свиноматок проти збудника хвороби Ауескі у крові поросят до ссання молозива відсутні специфічні антитіла до вірусних антигенів. Це вказує на відсутність трансплацентарної передачі специфічних антитіл та вертикального механізму проникнення збудника, що,

Таблиця 2 – Рівень специфічних антитіл до антигенів gE вірусу хвороби Ауескі у сироватці крові поросят ($x \pm SE$, $n = 7$)

Вік тварин, доба	Кількість серопозитивних тварин	S/N, %	CV, %
0	0	87,29 ± 2,36	7
7	7	6,43 ± 1,81	27
14	7	6,29 ± 1,08	41
21	7	7,43 ± 0,81	28
28	7	11,14 ± 1,55	38
35	7	6,86 ± 1,34	48
42	7	9,29 ± 1,11	35
49	7	22,43 ± 2,77***	31
56	7	27,57 ± 7,22*	63
63	7	22,29 ± 10,68	97
70	7	31,14 ± 9,37*	68
77	5	32,43 ± 10,25*	104

Примітка: різниця вірогідна за значення * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$ відносно значень поросят 7-ї доби життя.

напевне, пов'язано з біологічною особливістю плаценти свиней не пропускати крізь себе макромолекули й одночасно відносно великими розмірами вірусу (Bertasoli et al., 2015).

Аналізуючи отримані результати дослідження сироваток крові від поросят 7-ї доби життя, з'ясовано, що всі тварини мають низьке значення S/N як за gB, так і за gE антигеном, про що свідчить наявність у цих тварин високого рівня специфічних до антигенів вірусу хвороби Ауескі IgG.

Надалі, упродовж 49 днів життя рівень специфічних антитіл у крові поросят суттєво не відрізняється від значень 7 добових тварин і є досить гомогенним, на що вказує показник CV, який за антигеном gB перебуває в межах 22–32%.

Результати дослідження сироваток крові від поросят старших вікових груп показують поступове зниження рівня специфічних антитіл до антигенів gB та gE вірусу хвороби Ауескі порівняно до значень тварин 7-ї доби життя, про що свідчить підвищення значень показника S/N у тварин з 56-ї по 77-му добу життя. Одночасно з цим, у вищезазначених групах виявлено збільшення показника CV, що зумовлено збільшенням варіабельності значень показника S/N.

Найвищі показники S/N та CV виявлено у групі тварин 77-добового віку, що зумовлено наявністю серонегативних тварин. Останнє вказує на формування «серологічного вікна», що спричинено природним катаболізмом колостральних антитіл. Необхідно зазначити, що наявність неімунних тварин у стаді зумовлює високий ризик інфікування поросят епізоотичним штамом збудника хвороби Ауескі (Brambell, 1970) та знижує ефективність заходів з імунопрофілактики.

Слід зауважити, що імунізація свиноматок відбувалась gE-негативною вакциною. Враховуючи вищенаведені результати, можна зробити висновок, що свиноматки інфіковані епізоотичним штамом вірусу хвороби Ауескі, оскільки їхні поросята мають специфічні до антигену gE імуноглобуліни колострального походження.

Отже, результати дослідження антитіл до антигенів вірусу хвороби Ауескі вказують на відсутність специфічних імуноглобулінів у новонароджених поросят до ссання молозива та формування колострального імунітету упродовж перших 7 днів життя, який зберігається у 100% тварин протягом 10 тижнів. Із 77-ї доби від народження виявлено формування «серологічного вікна», що зумовлено появою серонегативних свиней та сприяє підвищенню сприйнятливості цих тварин до дії епізоотичного штаму вірусу.

Висновки

Новонароджені поросята до ссання молозива не містять специфічного імунного захисту проти вірусу хвороби Ауескі на тлі імунізації свиноматок. Вживання молозива поросятами сприяє формуванню у них колострального імунітету специфічного до антигенів вірусу хвороби Ауескі.

Тривалість циркуляції у периферичній крові поросят специфічних до антигенів вірусу хвороби Ауескі колостральних антитіл становить 70 днів. На 77-у добу від народження рівень специфічних колостральних імуноглобулінів різко знижується, що сприяє утворенню серонегативних тварин та підвищенню їх чутливості до дії епізоотичного штаму вірусу.

References

- Bertasoli, B. M., Santos, A. C., Paula, R. S., Barbosa, A. S., Silva, G. A. B., & Jorge, E. C. (2015). Swine placenta and placentation. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 2(4), 199–207.
- Bertran, K., Lee, D.-H., Criado, M. F., Balzli, C. L., Killmaster, L. F., Kapczynski, D. R., & Swayne, D. E. (2018). Maternal antibody inhibition of recombinant Newcastle disease virus vectored vaccine in a primary or booster avian influenza vaccination program of broiler chickens. *Vaccine*, 36(43), 6361–6372.
- Brambell, F. W. R. (1970). The transmission of passive immunity from mother to young. *North Holland Research Monographs Frontiers of Biology*, 18.
- Brandtzaeg, P. (2010). The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *The Journal of Pediatrics*, 156(2), 8–15.
- Choe, S., Shin, J., Kim, K.-S., Song, S., Cha, R. M., Jung, B.-I., Hyun, B.-H., Park, B.-K., & An, D.-J. (2020). Protection of piglets with maternally derived antibodies from sows inoculated with an attenuated live marker Classical Swine Fever vaccine (Flc-LOM-BERns). *Pathogens*, 9(8), 608.
- Chung, E. L. T., Alghirani, M. M., Kamalludin, M. H., Nayan, N., Jesse, F. F. A., Wei, O. T. A., Stephen, M. A. F. M. H., Reduan, M. F. H., & Loh, T. C. (2020). Do different vaccination regimes affect the growth performance, immune status, carcass characteristics and meat quality of broilers? *British Poultry Science*, 1–6.
- Elahi, S., Buchanan, R. M., Babiuk, L. A., & Gerdtz, V. (2006). Maternal immunity provides protection against pertussis in newborn piglets. *Infection and immunity*, 74(5), 2619–2627.
- Esposito, F., Lombardi, S., Modiano, D., Zavala, F., Reeme, J., Lamizana, L., Coluzzi, M., & Nussenzweig, R. S. (1988). Prevalence and levels of antibodies to the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* in an endemic area and their relationship to resistance against malaria infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(6), 827–832.
- Hasan, S., Orro, T., Valros, A., Junnikkala, S., Peltoniemi, O., & Oliviero, C. (2019). Factors affecting sow colostrum yield and composition, and their impact on piglet growth and health. *Livestock Science*, 227, 60–67.
- Jalil, A. R., Hayes, B. H., Andrechak, J. C., Xia, Y., Chenoweth, D. M., & Discher, D. E. (2020). Multivalent, soluble nano-self peptides increase phagocytosis of antibody-opsonized targets while suppressing “Self” signaling. *ACS Nano*, 14(11), 15083–15093.
- Kielland, C., Rootwelt, V., Reksen, O., & Framstad, T. (2015). The association between immunoglobulin G in sow colostrum and piglet plasma. *Journal of Animal Science*, 93(9), 4453–4462.
- Langel, S. N., Paim, F. C., Lager, K. M., Vlasova, A. N., & Saif, L. J. (2016). Lactogenic immunity and vaccines for porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): Historical and current concepts. *Virus Research*, 226, 93–107.
- Poonsuk, K., & Zimmerman, J. (2017). Historical and contemporary aspects of maternal immunity in swine. *Animal Health Research Reviews*, 19(1), 31–45.
- Quesnel, H., Farmer, C., & Devillers, N. (2012). Colostrum intake: Influence on piglet performance and factors of variation. *Livestock Science*, 146(2-3), 105–114.
- Riber, U., Heegaard, P. M., Cordes, H., Ståhl, M., Jensen, T. K., & Jungersen, G. (2015). Vaccination of pigs with attenuated *Lawsonia intracellularis* induced acute phase protein responses and primed cell-mediated immunity without reduction in bacterial shedding after challenge. *Vaccine*, 33(1), 156–162.
- Robinson, K. E., & Mahony, T. J. (2020). The construction and evaluation of Herpesvirus vectors. *Viral Vectors in Veterinary Vaccine Development*, 95–110.
- Sedeik, M., El-shall, N., Awad, A., Abd El-Hack, M., Alowaimer, A., & Swelum, A. (2019). Comparative evaluation of HVT-IBD vector, immune complex, and live IBD vaccines against vvIBDV in commercial broiler chickens with high maternally derived antibodies. *Animals*, 9(3), 72.
- Theil, P. K., & Hurlley, W. L. (2016). The protein component of sow colostrum and milk. Milk proteins - from structure to biological properties and health aspects.
- Kokarev, A., & Masiuk, D. (2017). Formation mechanisms of immune cells protection in pigs under the influence of «Imunolak». *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(77), 214–219.