

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ**  
**УНІВЕРСИТЕТ**

**ІНСТИТУТ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ЗДОРОВ'Я ТВАРИН**  
**ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

Спеціальність 211 «Ветеринарна медицина».

**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**

Зав.кафедри фізіології та біохімії с.-г тварин  
к.біо.н., проф. \_\_\_\_\_ Л.М. Степченко  
«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

**ДИПЛОМНА РОБОТА**

**КОНТРОЛЬ ІМУНОПРОФІЛАКТИКИ РЕПРОДУКТИВНО-  
РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ МОЛЕКУЛЯРНИМИ  
МЕТОДАМИ В УМОВАХ НАУКОВО-ДОСЛІДНОГО ЦЕНТРУ  
БІОБЕЗПЕКИ ТА ЕКОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ РЕСУРСІВ  
АГРОПРОМИСЛОВОГО КОМПЛЕКСУ ДНІПРОВСЬКОГО  
ДЕРЖАВНОГО АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

**26.06 – ДР. 1072 21 05 24. 051. ПЗ**

Студент-дипломник \_\_\_\_\_ В.М. Поїзд

Керівники дипломної роботи:

доктор вет. наук, доц. \_\_\_\_\_ проф. Д.М. Масюк

кандидат вет. наук \_\_\_\_\_ А.В. Кокарев

Консультанти:

з охорони праці

кандидат с.-г. наук, доц. \_\_\_\_\_ В.О. Сапронова

з економічних питань

кандидат вет. наук, доц. \_\_\_\_\_ В.В. Зажарський

Дніпро – 2021

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ .....	3
АНОТАЦІЯ .....	4
ВСТУП .....	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	8
1.1. Загальні уявлення про РРСС .....	8
1.2. Лабораторна діагностика РРСС.....	17
1.3. Специфічна імунопрофілактика РРСС .....	23
2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	27
2.1. Матеріал і методи досліджень .....	27
2.2. Характеристика науково-дослідного центру .....	37
2.3. Результати власних досліджень та їх аналіз.....	41
2.3.1. Рівень специфічних антитіл у свиней за імунопрофілактики РРСС.....	41
2.3.2. ПЛР-ідентифікація генетичного матеріалу вірусу РРСС .....	45
2.3.3. Продуктивні показники за імунопрофілактики РРСС.....	49
2.3.4. Розрахунок економічної ефективності застосування лабораторних методів для контролю імунопрофілактики РРСС .....	52
3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ .....	58
3.1. Аналіз стану охорони праці в умовах НДЦ.....	58
3.2. Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих факторів.....	60
3.3. Пожежна безпека.....	63
4. ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	65
5. СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	67
6. ДОДАТКИ.....	79

## РЕФЕРАТ

Дипломна робота викладена на 89 сторінках комп'ютерного тексту і містить вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень та їх аналіз, розрахунок економічної ефективності, охорону праці, висновки та пропозиції виробництву, список використаної літератури та додатки. Робота містить 3 рисунки та 13 таблиць. Список використаної літератури налічує 91 джерело, з яких 80 латиницею.

Метою роботи провести контроль імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней молекулярними методами. Об'єктом дослідження є імунопрофілактика репродуктивно-респіраторного синдрому свиней.

Встановлено, що у популяції свиней циркулює епізоотичний штам вірусу РРСС 1 генотипу. З'ясовано, що серопревалентність за РРСС серед свиноматок становить понад 50 %, що сприяє трансплацентарному інфікуванню поросят. На 56 добу життя у поросят реєструється формування «імунологічного вікна», що обумовлює активацію інфекції. Імунізація свиней вакциною «Suvaxyn PRRS MLV» забезпечує формування групового імунітету, що попереджує трансплацентарну передачу вірусу, сприяє збільшенню рівня антитіл у поросят на 14 та 28 доби життя відповідно у 2,6 і 2,7 рази, обумовлює підвищення запліднюваності на 9 % та зменшення народження мертвого і нежиттєздатного приплоду на 4,7 %. Вакцинація поросят сприяє підвищенню середньо добового приросту на 5,3 % ( $p \leq 0,05$ ), що обумовлює збільшення показнику середньої маси тіла свиней на 180 д.ж. майже на 5 кг. Економічна ефективність ПЛР-діагностики трьох цільових генів вірусу РРСС становить 708,90 грн, а дослідження антитіл методом ІФА – 113,60 грн за одну пробу.

Виробництву рекомендовано у неблагополучних за РРСС підприємствах проводити вакцинацію свиноматок та поросят вакциною «Suvaxyn PRRS MLV», а для лабораторного контролю ефективності імунізації використовувати методи ПЛР та ІФА.

## АНОТАЦІЯ

Дипломна робота Поїзда В.О. на тему «Контроль імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней молекулярними методами в умовах Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету».

У дипломній роботі представлено результати комплексу досліджень, що характеризують особливості застосування молекулярних методів лабораторної діагностики для контролю імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней. Встановлено, що у популяції свиней циркулює епізоотичний штам вірусу РРСС 1 генотипу. З'ясовано, що серопревалентність за РРСС серед свиноматок становить понад 50 %, що сприяє трансплацентарному інфікуванню поросят. На 56 добу життя у поросят реєструється формування «імунологічного вікна», що обумовлює активацію інфекції.

Імунізація свиней живою атенуйованою вакциною проти РРСС забезпечує формування групового імунітету, що попереджує трансплацентарну передачу вірусу, сприяє збільшенню рівня антитіл у поросят на 14 та 28 доби життя відповідно у 2,6 і 2,7 рази, обумовлює підвищення запліднюваності на 9 % та зменшення народження мертвого і нежиттєздатного приплоду на 4,7 %. Вакцинація поросят сприяє підвищенню середньо добового приросту на 5,3 % ( $p \leq 0,05$ ), що обумовлює збільшення показнику середньої маси тіла свиней на 180 д.ж. майже на 5 кг. Економічна ефективність ПЛР-діагностики трьох цільових генів вірусу РРСС становить 708,90 грн, а дослідження антитіл методом ІФА – 113,60 грн за одну пробу.

**Ключові слова:** вірус РРСС, діагностика, ІФА, ПЛР, антитіла, цільові гени, генетичний матеріал.

## S U M M A R Y

Graduate work Poyizd V.M. on the topic " Control of immunoprophylaxis of reproductive and respiratory syndrome of swine in the Scientific Research Centre of Biosafety and Environmental Control Agro-industrial Complex of Dnipro State Agrarian and Economic University".

The graduate work presents the results of a set of studies, what characterize the features of the use of molecular methods of laboratory diagnostics for the control of immunoprophylaxis of PRRS. It was found that a field strain of PRRS virus genotype 1 circulates in the pig population. Seroprevalence for PRRS among sows is more than 50%, which contributes to transplacental infection of piglets. On the 56th day of life in piglets, the formation of an "immunological window" is registered, which causes the activation of the infection.

Immunization of pigs with live attenuated vaccine against PRRS provides the formation of group immunity, which prevents transplacental transmission of the virus. Contributes to an increase in antibody levels in piglets at 14 and 28 days of age, respectively, 2.6 and 2.7 times. Causes an increase in fertility by 9% and a decrease in the birth of dead and non-viable piglets by 4.7%.

Vaccination of piglets increases the average daily gain by 5.3% ( $p \leq 0.05$ ) and average body weight of pigs in 180 days of life by almost 5 kg. The economic efficiency of PCR diagnostics of the three target genes of the PRRS virus is UAH 708.90 and ELISA antibody test - UAH 113.60 per sample.

**Key words:** PRRS virus, diagnosis, ELISA, PCR, antibodies, target genes, genetic material.

## ВСТУП

Вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (PPCC) є широко розповсюдженим у свинарських господарствах усього світу [65]. Викликаючи патологію респіраторних органів та викликаючи порушення у функціонуванні репродуктивної системи цей вірус завдає значних економічних збитків свинарству усього світу [51]. Україна на сьогодні є неблагополучною за PPCC, оскільки ознаки циркуляції цього збудника виявлено у багатьох регіонах [11].

Основною стратегією контролю та профілактики PPCC на підприємстві є імунізація тварин [61]. На ринку України сьогодні представлений широкий спектр вакцин проти PPCC 1 генотипу, які поділяються на живі атенуйовані та інактивовані. Кожна з цих вакцин потребує особливої уваги, оскільки їх біологічні властивості є різними, і невірно сформована схема імунопрофілактики може не лише бути малоефективною але й в деяких випадках зашкодити господарству [67]. Одночасно з цим існує ряд інших факторів, які впливають на якість імунопрофілактичних заходів, серед яких є імуносупресивні стани тварин, що утворюються на тлі одночасної циркуляції у стаді свиней декількох патогенних мікроорганізмів, ураження тварин мікотоксинами, порушеннями технології годівлі та утримання, тощо [90]. Саме тому кожну впроваджену схему лікувально-профілактичних заходів необхідно систематично контролювати.

З огляду на це, лабораторна діагностика є невід'ємною частиною розробки схеми лікувально-профілактичних заходів, оскільки дає можливість ідентифікувати критичні технологічні періоди у вирощуванні свиней та визначити рівень серопревалентності [47], а у деяких випадках навіть проводити диференціацію епізоотичного та вакцинного ізолятів вірусу [22]. Слід відмітити, що окремі лабораторні методи дають можливість односторонньо оцінити тварину або стадо. Саме тому необхідно застосовувати одночасно декілька лабораторних методів, що дозволить отримати

максимальну кількість інформації та більш якісніше оцінити ефективність впровадженої схеми лікувально профілактичних заходів.

З огляду на це особливої актуальності набуває контроль імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней за допомогою молекулярних методів.

**Об'єкт дослідження** – імунопрофілактика репродуктивно-респіраторного синдрому свиней.

**Предмет дослідження:** цільові гени РНК вірусу РРСС 1, 2 та Suvaxyn генотипів, специфічні імуноглобуліни сироватки крові IgG до антигенів вірусу РРСС, продуктивні показники свиноматок та свиней на відгодівлі.

**Мета роботи:** провести контроль імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней молекулярними методами.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні **завдання:**

- Дослідити рівень специфічних антитіл у свиней за імунопрофілактики РРСС;
- Визначити наявність генетичного матеріалу вірусу РРСС за специфічної імунопрофілактики;
- З'ясувати продуктивні показники свиноматок та свиней на відгодівлі за специфічної імунопрофілактики РРСС;
- Розрахувати економічну ефективність застосування методів ІФА та ПЛР для контролю специфічної імунопрофілактики РРСС.

## 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Загальні уявлення про репродуктивно-респіраторний синдром свиней

Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (PPCC) – це високо контагіозне вірусне захворювання свиней, що проявляється репродуктивною патологією у основного поголів'я свиней та ураженням респіраторних органів у свиней на відгодівлі [38].

**Історія.** Перше повідомлення про PPCC датується у 1989 роком. У цьому році на південному сході США був виявлений і клінічно описаний випадок інфекційного захворювання, що характеризувалось репродуктивними порушеннями у свиноматок та респіраторними захворюваннями у свиней на відгодівлі [53]. Лише через два роки G. Wensvoort із співавторами уперше ізолював збудник від хворих свиней у Нідерландах у 1991 році [82] і у цьому ж році уперше було інфіковано свиноматок вірусом *Lelystad* ізолюваним та накопиченим на культурі клітин з подальшим розвитком у них репродуктивного синдрому, що дало можливість уперше описати біологічні властивості польового ізоляту вірусу та більш детально дослідити аспекти клінічних проявів захворювання [80].

Одночасно з цим ізоляцією цього вірусу займались і у США, що призвело до ідентифікації прототипу вірусу, відомого як VR2332. При цьому вірусу присвоювали різні назви, проте він залишився відомий як вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней [20]. Зараз вірус циркулює у більшості країн-виробників свиней і є основною причиною економічних збитків для свинарства.

**Збудник.** Збудником PPCC є одно ланцюговий, оболонковий, РНК-геномний вірус, діаметр якого становить 50-65 нанометрів і належить до ряду *Nidovirales*, сімейства *Arteriviridae* роду *Arterivirus* [18].



На основі геномного та антигенного різноманіття ізоляти вірусу РРСС класифікуються на два генотипи: північноамериканський, або вірус РРСС-2 типу, та європейський, або вірус РРСС-1 типу, які мають лише близько 65% гомології геному [62].

Геном вірусу РРСС довжиною приблизно 15 кБ і складається з 7 відкритих рамок зчитування (ORF). Більшість геному складається з ORF 1 (a і b), за яким слідує 2 (a і b), 3, 4, 5, 6 та 7 [77].

ORF 1a та ORF 1b займають зів сторони 5' кінця 75% геному та і кодують два поліпротеїни: pp1a та pp1b. Поліпротеїни pp1a та pp1b під впливом власних протеаз, під час реплікації вірусу утворюють щонайменше 13-16 неструктурних білків, що відповідають за реплікацію та транскрипцію вірусної геномної РНК [28].

Структурні білки, що кодуються генами ORF 2-7 називаються білками GP 2, 3, 4, 5, М та N, тоді як білки М, N та GP5 є основними структурними білками, які регулюють рівень інфекційності, а GP2, 3 та 4 є низькомолекулярними структурними білками, також необхідними для інфекційності [45].

Для реплікації повністю інфекційних вірусних частинок збуднику РРСС необхідні усі гени. У своїй науковій праці Е.Н. Wissink із співавторами [83] видалили з геному вірусу РРСС гени GP5. Це сприяло блокуванню синтезу основних структурних білків, що сприяло повному припиненню утворення вірусних часток. Видалення генів, що кодують незначні глікопротеїни GP2, GP3 та GP4, не впливало на утворення вірусних часток, проте віруси, яким бракувало цих другорядних глікопротеїнів, були неінфекційними, імовірно через дефект вірусної взаємодії з рецептором клітини-господаря.

N - це сериновий фосфопротеїн, який існує як гомодимер і взаємодіючи з вірусним геномом, утворює нуклеокапсид. Видалення гена, що кодує N білок, повністю дезактивує вірусну інфекційність. Однак частково інфекційні вірусні частки реплікону РРСС можна врятувати, використовуючи систему

транскомплементації з рекомбінантною клітинною лінією, стабільно експресуючою N білок [78].

Геном вірусу РРСС кодує 13-16 неструктурних білків. Nsp2 є найбільшим неструктурним білком і містить мультидомен: невеликий високо варіабельний домен (HV1), за яким слідує домен протеази цистеїну (PLP2) у своєму N-кінцевому домені, великий сильно варіабельний домен посередині (HV2) і трансмембранний домен (TM) у карбоксильному кінці. Домен протеази PL2 має як цис-, так і транс-групи, які опосередковують самовивільнення nsp2 з поліпротеїну pp1a / pp1b. Цей процес є важливим для реплікації вірусу, оскільки мутації, які змінили домен активності PL2-протеази або сайт розщеплення між nsp2 і nsp3, є загрозливими інфекційних властивостей вірусу [28].

**Тропізм вірусу РРСС.** Збудник РРСС переважно інфікує клітини лінії моноцитів / макрофагів. Для виявлення вірусних білків, що відповідають за клітинний тропізм вірусу, було побудовано серію генетично модифікованих вірусів шляхом обміну вірусними білками збудником РРСС та артеріавірусом коней, що є прототипом вірусу сімейства *Arteriviridae*. Отримані у результаті модифіковані віруси не змогли заразити альвеолярні макрофаги свиней, які є сприйнятливими до класичного вірусу РРСС, тоді як заміна білку М ектодоменом артеріавірусу коней підтримувала інфекційність вірусу РРСС у культурі альвеолярних макрофагів. Це вказує те, що невеликі білки оболонки є основними детермінантами тропізму клітин вірусу [79].

Інші дослідження вказують на здатність вірусу РРСС реплікуватись у культурі клітин MARC-145 та клітинній лінії нирок зеленої мавпи та золотистого хом'яка, проте для цього вірус РРСС часто необхідно адаптувати протягом декількох пасажів, перш ніж вірусні частки зможуть ефективно розмножуватися в клітинах, оскільки їх адаптація залежить від варіації GP2 та GP3, які є відповідальними за адаптацію вірусу до сторонніх клітинних ліній [87, 84].

**Шляхи поширення вірусу РРСС.** Свині можуть інфікуватись вірусом РРСС як шляхом безпосереднього контакту з інфікованими тваринами, так і опосередковано через фоміти. До організму тварини вірус потрапляє із вдихуваним повітрям, через слизові оболонки або через шкіру. З огляду на це виділяють наступні методи інфікування: це повітряно-крапельна передача (як на короткі, такі на великі відстані), передача статевим шляхом, перорально, контактено та інокуляцією. Можлива вертикальна передача, яка відбувається протягом останнього триместру поросності [64].

Мінімальна інфікуюча доза вірусу РРСС коливається у залежності від шляху інфікування. Нерманн із співавторами [42] з'ясували інфікуючу дозу 50 (ID 50) для вірусу РРСС шляхом оральної, інтраназальної та парентеральної інокуляції. Вони встановили, що ID 50 для перорального інфікування становить  $10^{5,3}$ , для інтраназального –  $10^{4,0}$ , а для парентерального –  $10^{2,2}$ . Проте автори відзначають, що цей показник може варіювати у залежності від ізоляту вірусу та ступеню його мутації. Дослідженням ID 50 за статевого інфікування вірусом РРСС займався D. Venfield із співавторами [16]. Вони встановили, що для інфікування вірусом РРСС шляхом штучного запліднення ID 50 становить  $10^{3,3}$  вірусних часток. Згідно з існуючими уявленнями про шляхи зараження вірусом РРСС механізм інфікування через шкіру є найнижчим, що характеризується значенням показнику ID 50 –  $10^1$ – $10^2$ , але лише у період профілактичної обробки тварин – обрізання хвостиків, кастрації та інших ветеринарних заходів [64]. Слід зауважити, що у пік віремії інфіковані тварини мають вірусне навантаження щонайменше від  $10^3$  до  $10^4$  г.е./мл [27]. З огляду на це можна зробити висновок, що найбільше поширення вірусу буде відбуватись під час ветеринарних обробок у тварин.

Також існує ряд повідомлень про можливість інфікування тварин через голку [14, 63]. Слід відзначити, що навіть застосування безголкового ін'єктору повністю не перешкоджає розповсюдженню вірусу РРСС серед сприйнятливих свиней [63]. Однак автори не змогли визначити шлях передачі в групі, хоча повітряно-крапельний механізм був виключений, оскільки

тварини контрольної групи залишалися серонегативними протягом усього періоду дослідження.

**Патогенез.** Інфекція індукована вірусом РРСС складається з основних трьох фаз – гострої, хронічної та звільнення від вірусу. Після потрапляння збуднику до організму сприйнятливих тварин він починає інтенсивно реплікуватись у альвеолярних макрофагах, дендритних клітинах та епітеліальних клітинах верхніх дихальних шляхів свиней. Це забезпечує формування гострої фази захворювання, під час якої спостерігають віремію уже через 6-12 годин після інфікування. Віремія зазвичай триває до 4 тижнів [12].

У подальшому розвивається друга фаза захворювання яка характеризується стійкою інфекцією. Під час цієї фази реплікація вірусу РРСС відбувається лише у лімфоїдних органах, мигдаликах і селезінці без ознак віремії. У продовж цієї фази вірус може зберігатись у організмі свиней упродовж 180 діб. Здатність вірусу зберігатись у лімфоїдній тканині тривалий час забезпечує його передачу від інфікованої тварини до неімунної, що ускладнює боротьбу із захворюванням РРСС у виробничих умовах [51].

Циркуляція вірусу РРСС в організмі свиней індукує ряд імунних реакцій, завдяки яким відбувається елімінація збуднику з організму ураженої тварини. Динаміка імунних процесів орієнтованих на боротьбу з вірусом РРСС є повільною, що сприяє затримці імунної відповіді. Це обумовлено відсутністю колострального захисту у неімунних поросят, тривалим періодом сероконверсії, а також затримкою формування та розповсюдження клітинопосередкованої імунної відповіді [55].

Вроджений імунітет у свиней є першим кордоном захисту від збудників інфекцій, а інтерферони першого типу (IFN- $\alpha$  /  $\beta$ ) є найбільш важливим компонентом вродженого імунного захисту проти саме вірусних інфекцій [73].

IFN- $\alpha$  /  $\beta$  продукується шляхом складного процесу передачі сигналів у імунних клітинах. Після синтезу інтерферони вивільняються з клітин і зв'язуються з її рецепторами або рецепторами сусідніх клітин. Така взаємодія фософрилное кіназу та тирозинкіназу мембрани імунної клітини. Ці ферменти

активують синтез сигнального білку – активатора транскрипції – STAT1 і STAT2, який активує синтез інтерферон-індукуючого фактору, що активує транскрипцію гену інтерферону, у результаті чого формується противірусний стан клітини [43].

Відомо, що вірус РРСС є чутливим до дії IFN- $\alpha$  /  $\beta$ , оскільки останній пригнічує реплікацію збудника у клітинах організму свиней. Останнім часом відомі повідомлення про адаптаційні механізми вірусу до інгібуючого впливу IFN, що суттєво зменшує ефективність вродженого імунітету [17]. Пригнічення синтезу IFN забезпечує збуднику РРСС значну перевагу у боротьбі з імунною системою організму. Це відбувається завдяки синтезу вірусом РРСС шести білків-антогоністів – nsp1 $\alpha$ , nsp1 $\beta$ , nsp2, nsp4, nsp11 и N [33].

Так, дослідження М. Хан із співавторами [40] вказують на те, що білок nsp1 $\beta$  вірусу РРСС руйнує комплекс ядерних щілин у інфікованій клітині та блокує експорт мРНК організму свині з ядра у цитоплазму.

Інший білок вірусу РРСС – nsp4, представляє собою серинову протеїназу, яка пригнічує активність промотора IFN $\beta$ , що сприяє інгібуванню транскрипції гену інтерферону [19]. Експресія вірусного білку nsp11 в ураженій клітині пригнічує промотор IFN $\beta$  та IRF3-залежну промоторну активність, а також цей білок приймає участь у сигнальних реакціях IFN викликаючи деградацію клітинного рецептору STAT2 та гальмує синтез ISG [85].

**Імунна відповідь** в організмі свиней за інфікування вірусом РРСС проявляється реакцією клітинної та гуморальної ланки імунітету. Першим на шляху збудника РРСС стає вроджений імунітет, який представлений взаємодією імунних клітин та гуморальних імунних факторів, серед яких визначну роль відіграє інтерферон.

Проте, як ми відзначали вище, вірус РРСС здатний блокувати інтерферонову систему, що забезпечує низький рівень інтерферон у легеневій

тканині, а відповідну знижує ефективність імунних реакцій на тлі патогенного впливу збудника РРСС [55].

Слід відзначити, що на сьогодні у свиней виявлено 17 підтипів IFN- $\alpha$ , які володіють противірусною активністю відносно збудника РРСС [71]. Другим за величиною підтипом IFN свиней першого типу є IFN- $\delta$ , який має 11 підтипів, і ця популяція інтерферонів швидко розвивається. Решта IFN свиней першого типу включає сім підтипів IFN- $\omega$  та єдиний тип IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$  та IFN- $\alpha / \omega$ . Противірусні ефекти цих підтипів залежать від типів клітин та вірусів, що уражають організм свиней. З огляду на це, багато підтипів інтерферону залишаються незрозумілими у своїх противірусних діях щодо РРСС, що вимагає подальших досліджень механізму їх взаємодії. Слід зауважити, що більшість досліджень щодо антагонізму інтерферонів першого типу та вірусу РРСС зосереджено на IFN - $\alpha / \beta$ , що обумовлено значною мірою завдяки їхній домінуючій ролі у противірусній активності [72].

На тлі стимуляції чисельних експресій сигнальних імунних білків, інтерферони першого типу можуть пригнічувати розвиток вірусної інфекції, опосередковано стимулюючи активність НК-клітини, дендритних клітин, Т- та В-лімфоцитів, у результаті чого імунні клітини здатні синтезувати сотні імунних противірусних білків [74]. Одночасно з цим інтерферони першого типу можуть посилювати презентацію антигену у дендритних клітинах, що сприяє дозріванню та проліферації Т-клітин, підвищувати активність міграції дендритних клітин до лімфатичних вузлів та активувати синтез IFN- $\gamma$ , хемокінів і цитокінів імунокомпетентними лімфоцитами, що має важливе значення у розвитку адаптивного імунітету проти збудника РРСС [48, 56, 44].

Пригнічення синтезу інтерферонів вірусом РРСС сприяє пригніченню активності В-лімфоцитів, що гальмує сероконверсію специфічних антитіл. Уповільнена реакція специфічних антитіл, що опосередкована В-клітинами, є однією з основних перешкод для контролю РРСС у свиней.

Відомо, що антитіл IgG специфічні до антигенів вірусу РРСС з'являються на 7-9 добу після інфікування, їх ефективність є не до кінця зрозумілою на

сьогодні, оскільки протективний імунний захист від вірусу забезпечують нейтралізуючі антитіла, період синтезу яких є значно більшим і триває близько одного місяця від початку інфекції [54]. Проте вірус нейтралізуючі антитіла, як довели у своїй науковій праці О.І. Lopez із співавт. [52], не захищають свиней на 100 % від інфікування вірусом РРСС, що автори вважають обумовлено генетичною варіабельністю вірусу та, відповідно, не повною гомологією нейтралізуючих антитіл з антигенним спектром збудника.

**Клінічні ознаки** за РРСС є значно мінливими від господарства до господарства і залежать у більшості випадків як від генетичних особливостей самого збуднику хвороби так і від технології, що застосовується на ураженій фермі. Зазвичай РРСС проявляється у вигляді респіраторної патології у свиней товарного стада та абортами, перегулами, низьким рівнем заплідненості серед свиней основного стада, що характеризує цю хворобу як досить мінливу за клінічними проявами [59]. Про значну мінливість клінічних проявів інфекції РРСС повідомляється з моменту появи перших спалахів.

У своїй роботі Francisco J. Salguero із співавторами [31] дослідив варіабельність клінічних ознак інфікувавши декілька груп свиней різними штамми вірусу РРСС. У результаті дослідження автори відмітили, що основними клінічними ознаками, що спостерігались у поросят, інфікованих серотипом «SU1-Bel», були системними, тварини були пригнічені, відмічалась анорексія, поява грубої шерсті, а у поросят інфікованих серотипом «Лена», спостерігались респіраторні ознаки. Висока температура тіла спостерігалася в обох групах тварин. На 2 добу після інфікування, на відміну від тварин першої та другої групи, свині, що були інфіковані класичним польовим штамом «215-06» та «Бельгія А» проявляли повну відсутність гіпертермії. Також було виявлено значне зменшення приросту ваги у продовж перших 7 діб після інфікування у поросят першої групи, інфікованої вірусом РРСС серотипом «SU1-Bel», що у продовж наступних 6-7 діб значно знижувало однорідність групи свиней за масою та примушувало видаляти хворих із. Серед тварин інших дослідних груп зменшення приросту маси тіла було менше виражено.

Ураження свиноматок та кнурів вірусом РРСС також індукує розвиток респіраторної патології, яка часто ускладнюється різними бактеріальними патогенами. Проте, головна ознака, яка реєструється в уражених свиноматок – аборти у другому – третьому триместрі поросності, а також високий відсоток перегулів та низький відсоток заплідненості. На тлі цього суттєво зменшується відсоток збереженості поросят у продовж підсисного періоду, оскільки за інфекції РРСС народжується слабкий, нежиттєздатний молодняк, більшість з якого гине у продовж перших діб життя [86].

У кнурів у гострій фазі захворювання РРСС може взагалі ніяк не проявлятися або викликати зниження якості сперми, що відбувається на 2-10 тижні після інфікування тварин. Проявляється ця патологія зменшенням рівня рухливості сперміїв та дефектами їх акросоми [9].

**Патолого-анатомічні зміни** за РРСС найчастіше відображаються в ураженнях легень, які у межах окремих випадків відрізняються лише відсотком ураженої поверхні легень вторинною флорою, яка активізується на тлі вірусної інфекції [39].

Тип уражень легень залежить від супутньої бактеріальної флори. У першу чергу, основним патолого-анатомічним маркером ураження легеневої тканини вірусним агентом є розвиток інтерстиціальної пневмонії, що спричинена лімфогістіоцитарною запальною інфільтрацією, у результаті чого гарно вирізняються легеневі дольки [9].

На легенях можуть реєструватися червоні або коричневі плями. Іноді можна спостерігати наявність петихіальних крововиливів під серозною оболонкою. У асоціації РРСС із *Streptococcus spp* або *Actinobacillus pleuropneumoniae* реєструються осередки гострого геморагічного запалення. Під час хронізації процесу та долучення до нього *Haemophilus parasuis* на легенях та плеврі реєструють нашарування ниток фібрину. Також патологічні зміни реєструються не лише у легенях свиней, а й у лімфатичних вузлах шиї, середостінних та пахових. Ці зміни характеризуються гіперплазією



зародкових центрів лімфоїдних фолікулів із збільшенням кількості мітотичних фігур, пікнозом та наявністю лімфобластів [60].

У легенях, лімфатичних вузлах та мигдаликах реєструють явища апоптозу [69].

У абортіваних плодів іноді реєструють набряк нирок, селезінки, брижі, а у свиноматок іноді реєструється розвиток ендометриту [9].

Отже, РНК геномний вірус РРСС викликає патологію органів дихальної і репродуктивної системи та є надзвичайно варіабельним збудником, що постійно адаптується до організму свиней і проявляє тропізм до клітин імунної системи, тим самим блокує ряд первинних імунологічних реакцій викликаючи системну інфекційну патологію, яка зазвичай ускладнюється патологічним впливом вторинних патогенів вірусної і бактеріальної етіології. Вірус РРСС має широке поширення серед свинарських підприємств усього світу, тим самим спричинює значних економічних збитків галузі.

## **1.2. Лабораторна діагностика репродуктивно-респіраторного синдрому свиней**

Лабораторна діагностика РРСС базується на визначенні наявності вірусу або ознак, які вказують на його циркуляцію в організмі. З цією метою згідно формуляру МЕБ [65] використовують ряд лабораторних методів (табл. 1).

Ідентифікація вірусу РРСС може бути здійснена шляхом виділення вірусу на культурі клітин, виявлення його нуклеїнових кислот та ідентифікації вірусних білків.

Після інфікування свиней вірусом РРСС у тварин утворюється віремія на тлі колонізації збудником легеневої тканини, які можуть зберігатися тижнями у молодих свиней та днів у дорослих тварин. Це дає можливість визначити необхідний матеріал для прижиттєвої лабораторної діагностики вірусу РРСС, серед якого в основному є сироватка крові та бронхоальвеолярні змиви [41].

**Методи лабораторної діагностики РРСС та їх діагностичне значення**

Мета дослідження	Метод лабораторного дослідження						
	Ідентифікація вірусу				Виявлення імунної відповіді		
	Isolation	PCR	IHC	ISH	ELISA	IPMA	IFA
Скринінг стада	–	+++	–	–	+++	++	++
Карантинування	++	+++	–	–	++	++	++
Ерадикація	–	+++	–	–	+++	++	++
Діагностика	+++	+++	++	++	++	+	+
Поширеність у світі	–	++	–	–	+++	++	++
Серопревалентність	–	–	–	–	++	+++	+++

Примітка: «+++» рекомендований метод; «++» – відповідний метод; «+» може використовуватися в деяких ситуаціях, але вартість, надійність, або інші фактори сильно обмежують його застосування; «-» не підходить для цієї мети; Isolation – ізоляція вірусу на культурі клітин; PCR – полімеразна ланцюгова реакція із зворотною транскрипцією; IHC – метод імуногістохімії; ISH – гібридизація із міченою комплементарною РНК; ELISA – імуноферментний аналіз; IPMA – моношаровий аналіз імунопероксидази; IFA – аналіз імунофлуоресценції.

**Ізоляція вірусу на культурі клітин.** Виділення вірусу РРСС на культурі клітин є кропітким та достатньо важким, оскільки мало лабораторій в Україні оснащені необхідним обладнанням для роботи з культурами клітин. Інший фактор, який впливає на можливість культивування вірусу РРСС це вибірковість самого вірусу, оскільки різні ізоляти (особливо 1 типу) не завжди можуть легко інфікувати культури клітин MARC-145 та CL-2621 [66].

Також для культивування вірусу РРСС останнім часом використовують культури клітин макрофагів, що отримують із свинячих моноцитів [32].

На тлі цього було розроблено кілька генетично модифікованих клітинних ліній, що підтримують реплікацію вірусу РРСС, включаючи клітинні лінії

легеневих макрофагів свиней, що експресують CD163, свинячі мономієлоїдні клітини РК-15, які експресують CD163 та сіалогедезин, а також клітини нирок свиней, котів та хом'яків, що експресують CD163 [66, 30]. Проте, найбільш оптимальними клітинними лініями для реплікації вірусу РРСС є клітини альвеолярних макрофагів, але ці клітини є складними для роботи з огляду на те, що джерелом цих макрофагів рекомендують використовувати лише здорових свиней та віком до 8 тижнів [30].

Проби біологічного матеріалу для виділення вірусів слід охолоджувати при температурі  $+4^{\circ}\text{C}$  відразу після збору та відправляти до лабораторії протягом 24–48 годин. Період напіввиведення вірусу в сироватці крові при цій температурі оцінювався як 155 годин. Однак інфекційність швидко втрачається поза межею рН 6,5–7,5 [89]. Для тривалого зберігання рекомендується заморожування при  $-70^{\circ}\text{C}$ , або зберігати у сосуді Дюара з рідким азотом.

*ПЛР-дослідження* є одним з найбільш розповсюджених методів діагностики вірусу РРСС, який базується на виявленні унікального фрагменту кДНК збуднику.

Тести на основі ПЛР зазвичай використовуються для виявлення нуклеїнової кислоти в тканинах, сироватці крові, оральній та тканинній рідині [37], проте при дослідженні сперми цим методом виявляються ряд недоліків, які пов'язані у першу чергу з особливостями екстракції генетичного матеріалу з еякуляту кнурів. Саме вивченню цих питань була присвячена наукова робота J. Christopher-Hennings із співавторами [91]. Науковці дослідили ефективність екстракції нуклеїнових кислот із сперми кнурів шістьма різними методами, у результаті чого було виявлено ефективні протоколи очищення генетичного матеріалу, що дало можливість ефективно проводити діагностику РРСС у спермі природно інфікованих кнурів клітинно-асоційованим вірусом.

Проте, на ефективність ПЛР-діагностики вірусу РРСС впливає не лише якість екстракції нуклеїнових кислот із біологічного матеріалу, а й реагенти,

які використовують для зворотної транскрипції, а також ефективно підібрані праймери, активність використаних для дослідження ферментів, тощо.

На теперішній час світовий ринок реагентів для ПЛР-діагностики насичений широким спектром як готових наборів для діагностики вірусу РРСС так і окремими компонентами, що дозволяє використовувати або валідований протокол дослідження фірми-виробника тест-набору, або розробляти свій власний протокол, оптимізуючи реакцію з урахуванням власних особливостей лабораторії [88].

Одночасно з цим широкого розповсюдження отримали мультиплексні набори для диференціальної ПЛР-діагностики вірусу РРСС від інших клінічно схожих інфекційних хвороб. У результаті чого за результатами одного цього дослідження можна виключити одразу декілька патогенів [36].

Слід зауважити, що на тлі розробки мультиплексних тест-систем для ПЛР-діагностики розробляються та впроваджуються для застосування набори як для диференціації 1 та 2 типів, так і для диференціації епізоотичного штаму вірусу від вакцинного [22].

Головною проблемою ПЛР-діагностики вірусу РРСС є висока варіабельність геному патогену, що часто сприяє отриманню хибно негативних результатів [65]. Саме тому виробники комерційних тест-систем постійно валідують свої діагностичні продукти з вірусними ізолятами отриманими у різних регіонах материка та світу.

Перевагами ПЛР є висока специфічність, яка завдяки своїй технології наближається до 100 %. Чутливість методу ПЛР у різних виробників тест-систем є різною, проте наявність конкуренції на ринку лабораторної діагностики сприяє збільшення цього показника, у результаті чого на сьогоднішній день чутливість може складати 5-10 геном-еквівалентів РНК у досліджуваному матеріалі [88]. Наступною суттєвою перевагою методу ПЛР є швидкість проведення дослідження, яка у декілька разів є вищою порівняно до метода ізоляції вірусу на культурі клітин. Час дослідження одного зразку може займати 3-4 години, за умовив використання автоматизованої екстракції

нуклеїнових кислот. Саме тому, метод ПЛР-діагностики як РРСС так і інших інфекційних хвороб, є найбільш розповсюдженим у всьому світі.

***ELISA (Імуноферментний аналіз, ІФА).*** На сьогодні описано велика кількість методів виявлення сироваткових антитіл до антигенів вірусу РРСС.

Антитіла до вірусу можна виявити за допомогою аналізів зв'язування антитіл вже через 7–14 днів після зараження, а рівні антитіл досягають максимальних титрів через 30–50 днів після інфікування. Деякі свині можуть стати серонегативними протягом 3–6 місяців, але інші залишаються серопозитивними набагато довше. Антитіла до антигенів вірусу РРСС також були виявлені у м'язовому трансудаті та оральній рідині.

Нейтралізуючі антитіла розвиваються повільно і не досягають високих титрів. Вони можуть з'являтися від 3 до 4 тижнів після зараження і зберігатися протягом року або більше, або залишатися не виявленими [68]. Повідомлялося про використання комплементу для підвищення чутливості тесту нейтралізації сироваткового вірусу, проте цей метод не зазнав широкого розповсюдження [46].

Колостральні антитіла мають період напіврозпаду 12–14 днів, а їх сліди, як правило, можна реєструвати у сироватці крові поросят до 4–8 тижнів після народження, що у першу чергу залежить від титру антитіл у свиноматки при народженні та лабораторного тесту який застосовували для дослідження [49].

У зараженому середовищі свині, народжені від серопозитивних самок, можуть синтезувати власні антитіла у відповідь на дію епізоотичного штаму вірусу РРСС з 3 – 6 тижнів від народження [47].

Серологічна діагностика, як правило, проста у виконанні, з достатньо високими показниками специфічності та чутливості. Проте сироватки окремих свиней іноді викликають труднощі через неспецифічні (кросс) реакції, але ця проблема може бути вирішена шляхом повторного дослідження цих тварин через 2-3 тижні.

Зазвичай серологію проводять такими методами як моношаровий аналіз імунопероксидази (ІРМА), імунофлуоресцентний аналіз (ІФА) або

імуноферментний аналіз (ELISA). Кожен з цих методів має багато різновидів [24]. Ці тести часто проводяться з вірусним антигеном одного генотипу, що означає, що антитіла, спрямовані проти іншого, гетерологічного генотипу, можуть бути виявлені з меншою чутливістю.

Блокуючий ELISA, у якому використані антигени вірусів обох типів дає можливість одночасно досліджувати антитіла до першого та другого типів вірусу РРСС. Такий варіант ELISA стає все більш розповсюдженим у Європі, оскільки серед популяцій свиней циркулює вірус 2 типу, який має вакцинне походження, оскільки у господарствах використовували вакцини з ізолятів Американського типу вірусу РРСС [65].

На теперішній час доступний широкий спектр комерційних ELISA наборів з хорошою чутливістю та специфічністю, ефективність застосування яких порівнювалась між собою [34, 76]. Також є варіанти наборів ELISA які здатні диференціювати антитіла проти живого та інактивованого вірусу, що дає можливість модифікувати та удосконалити схеми з ерадикації вірусу зі стада [21].

Проте, на тлі високої варіабельності генетичного матеріалу вірусу РРСС відбуваються і фенотипові зміни у структурі віріону, що змушує виробників комерційних наборів, як і у випадку з ПЛР-тестами, постійно удосконалювати свої діагностичні продукти [47].

Отже, виявлення вірусу РРСС або ознак його персистенції є надзвичайно складним завданням, що обумовлено високою варіабельністю збуднику та, відповідно, фенотиповими змінами. Саме тому, для більш ефективної лабораторної діагностики діагностики необхідно використовувати комбінацію методів прямого виявлення вірусу – ПЛР, та опосередкованого – ІФА, що дасть можливість максимально ефективно оцінити статус стада або окремої тварини [41].

### **1.3. Специфічна імунопрофілактика репродуктивно-респіраторного синдрому свиней**

На сьогоднішній час у світі основною стратегією контролю інфекції РРСС на підприємстві стратегією вважається профілактика вірусної інфекції за допомогою імунізації свиней проти збуднику. Першу вакцину проти вірусу РРСС було створено з живого ослабленого збуднику більше 25 років тому, після чого вона стала комерційно доступною. Ця вакцина забезпечувала гомологічний захист і допомагала зменшити пресинг епізоотичного вірусу, але вона не повністю захищала свиней від гетерологічних польових штамів [67].

Сьогодні виробляють два основні типи вакцин проти РРСС – модифіковані ослаблені але живі (MLV) та інактивовані (вбиті) вакцини, які ліцензовані та комерційно доступні у багатьох країнах для контролю РРСС [61].

Вважається, що найбільша користь від вакцинації виникає у разі використання вакцини, яка виготовлена із генетично спорідненого штаму збуднику РРСС відносно епізоотичного, тобто того, що циркулює на підприємстві [75]. Однак на сьогодні не існує доступних методів для прогнозування ефективності вакцини. Хоча вакцинація свиней не запобігає на 100 % їх інфікуванню вірусом РРСС, проте вона може бути корисною у стадах, які мають економічні проблеми з РРСС.

У більшості випадків інактивовані вакцини використовують у неблагополучних господарствах на свиноматках як допоміжний засіб для зменшення кількості абортів та народження слабких нежиттєздатних поросят, вакцинуючи останніх систематично перед заплідненням за кожним туром.

MLV-вакцини призначені для використання у свиноматок та свинок за 3–6 тижнів до заплідненням та у поросят віком від 3 тижнів або старше з метою формування синетичної сероконверсії у стаді та зменшенні клінічних проявів захворювання РРСС [65].

Слід відзначити, що MLV-вакцини не призначені для використання у благополучних стадах, навіть для імунізації кнурів, оскільки вакцинний збудник може зберігатись в організмі кнурів і поширюватися через сперму [91].

Проте, застосування як живих так й інактивованих вакцин не забезпечує повного захисту в широкому масштабі у питаннях боротьби з захворюванням РРСС або його поширенням. Це обумовлено рядом факторів, серед яких у першу чергу виступають імунодепресивні стани організму тварин на момент вакцинації, які можуть утворюватися на тлі токсичних уражень тварин, індукцією інфекційних або паразитарних захворювань, дією стрес-факторів, тощо [90]. У результаті чого організм свиней у відповідь на введення інактивованої вакцини проявляє слабку імунну відповідь, або взагалі всі імунні реакції відбуваються на місцевому рівні у тканинах (за умови парентеральної імунізації), що забезпечує повну відсутність або слабку виражений протективний (захисний) імунітет проти вірусу РРСС. Все це обумовлює підвищення сприйнятливості цих свиней до дії епізоотичного штаму збуднику РРСС. Введення в організм живих ослаблених вакцин на тлі імуносупресивного стану може сприяти розвитку патологічного процесу індукованого вакцинним ізолятом вірусу.

З огляду на це, слід відзначити, що під час розробки схеми імунопрофілактичних заходів обов'язково необхідно враховувати загальний стан організму тварини та їх ветеринарні обробки з метою попередження формування імуносупресивних станів, які можуть знижувати ефективність імунної відповіді організму свиней у відповідь на введення вакцинного антигену.

Іншим важливим фактором, пов'язаним з ефективністю вакцинації, є час вакцинації відповідно до впливу епізоотичного штаму вірусу РРСС, тобто вакцинація має бути проведена на фермі до періоду інфікування тварин вірусом РРСС. З досвіду авторів, ефективність застосування живої аттенуйованої вакцини на тваринах у період інфікування вірусом РРСС може



бути незначною [25], проте за умови використання тієї ж вакцини на поголів'ї свиней до інфікування останніх польовим вірусом РРСС науковці відзначили її суттєву ефективність, що позначилось на економічних показниках господарства [57].

Особливої уваги заслуговує імунізація свиней які перехворіли на РРСС. Повідомлялося про сприятливі наслідки екстреної вакцинації, коли живу ослаблену вакцину вводили свиням, які у той же день контактували з інфікованими вірусом РРСС тваринами [50], тоді як при вакцинації групи свиней серед яких вже є інфіковані тварини результати менш чіткі.

Ці та інші результати підтверджують знижену сприйнятливість до інфекції PRRSV у реконвалесцентних тварин. Вакцини можуть покращити такий процес в довгостроковій перспективі, що може спричинити сприятливі повідомлення про схеми боротьби із захворюваннями, засновані як на вакцинації, так і на управлінні стадом у цілому [23].

Однак слід відзначити, що наявність тривалих віремій у інфікованих поросят сприяє подальшому поширенню інфекції за умови використання багаторазових голок для ін'єкцій свиням [13].

Ще одним вектором боротьби з РРСС на підприємстві є імунізація свиней епізоотичним ізолятом вірусу, отриманим від хворих тварин. Ця нова стратегія контролю РРСС базується на інокуляції здоровим свиням сироватки, що містить збудник РРСС який циркулює у стаді. Є повідомлення про успішну імунізацію свиней та формуванню повноцінного синетичного імунітету шляхом сироваткової інокуляції [29]. Інші дослідники виявили, що інокуляція польового ізоляту вірусу здоровим свиням збільшує ризик виникнення анорексії свиноматок та їх смертність [86]. Одразу після інокуляції сироватки можна очікувати на прояви клінічних ознак РРСС, про які повідомляли інші. Batista L. Із співавторами [15] спостерігали лихоманку, анорексію та депресію у свиней протягом 48-72 годин після імунізації їх сироваткою, що містить епізоотичний штам вірусу.

Зазвичай імунізацію свиней епізоотичним штамом вірусу РРСС проводять лише у тому випадку, якщо попередньо було використано багато інших комерційних вакцин, проте ефективності майже не відзначалось або вона була мінімальною. Більша за все такі випадки обумовлені циркуляцією високо гетерогенних порівняно до вакцинних ізолятів штамів вірусу РРСС, у зв'язку з чим ці штами могли спричинити більш серйозні клінічні ознаки, навіть анорексією свиноматки та смерть, що відмічали у своїх експериментальних дослідженнях В. Young із співавторами [86].

Отже, основною стратегією контролю вірусу РРСС у популяції свиней є вчасна імунізація всіх сприйнятливих тварин вакцинами, які здатні індукувати імунну відповідь в організмі свиней за результатами якої тварини матимуть протективний імунний захист, проте існує ряд факторів які впливають на рівень імунної відповіді вакцинованих свиней, що зменшує ефективність превентивних ветеринарних заходів. З огляду на це на тлі проведення вакцинації свиней у господарстві обов'язковою умовою є проведення лабораторного супроводу щодо визначення ефективності проведених заходів.

## 2. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Матеріали і методи дослідження

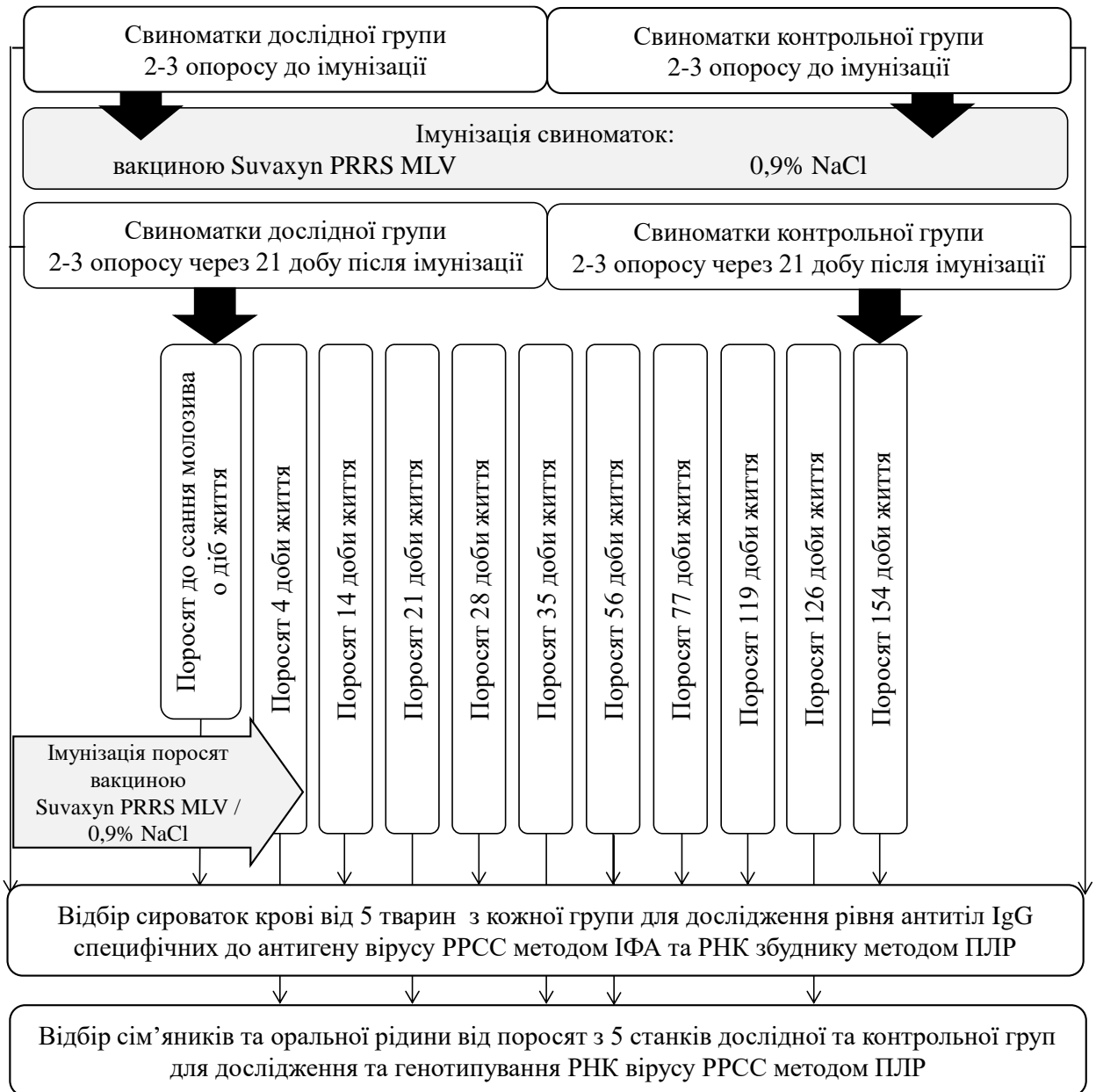
Експериментальні дослідження для дипломної роботи проведені на базі свинокомплексу циклу опорос-відгодівля із загальною кількістю 42 700 свиней, серед яких 3100 свиноматок. Лабораторні дослідження виконані в умовах відділу імунохімічних та молекулярно-генетичних досліджень науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Всі дослідження проведені за науково-технічним договором, згідно якого заборонено розголошення результатів лабораторних досліджень та будь якої іншої інформації про замовника, яка була отримана виконавцем у зв'язку з виконанням ним робіт за даним договором. У зв'язку з цим назва підприємства у дипломній роботі не наводиться.

Свиноферма є неблагополучна за репродуктивно-респіраторним синдромом свиней. У господарстві реєструвалися борти свиноматок у другій половині поросності, а у свиней на відгодівлі відмічалось зменшення продуктивності на 12 %.

*Формування дослідних груп та проведення експерименту.* Для проведення експерименту було сформовано дві аналогічні групи свиноматок 2-3 опоросу – дослідна і контрольна, по 50 голів у кожній (рис. 1).

Свиноматок дослідної групи імунізували вакциною Suvaxyn PRRS MLV (Zoetis, США) за 4 тижні до запліднення у дозі 2 мл. Ін'єкцію проводили у ділянку шиї позаду вуха. Свиноматкам контрольної групи вводили по 2 мл ізотонічного розчину NaCl.

Всіх поросят отриманих від свиноматок дослідної групи імунізували на 4 добу життя вакциною Suvaxyn PRRS MLV (Zoetis, США) у дозі 2 мл. Ін'єкцію проводили у внутрішню сторону стегна. Поросяткам контрольної групи ін'єкували по 2 мл ізотонічного розчину NaCl.



**Рис. 1.** Схема дослідю

*Відбір матеріалу для дослідження.* Від свиноматок відбирали сироватку крові до вакцинації, та через 21 добу після імунізації.

Від поросят відбирали сироватку крові на першу добу життя до ссання молозива (0), а також на 14, 28, 56, 77, 119, 154 доби від народження.

Сироватку крові центрифугували та заморожували при  $-18 - -22^{\circ}\text{C}$  та зберігали у замороженому стані до проведення дослідження.

Від поросят після кастрації на 4 добу життя відбирали сім'яники по 3-5 сім'яників з гнізда. Всього було відібрано сім'яники від поросят з 5 гнізд дослідної групи та 5 гнізд контрольної групи.

Також для дослідження від свиней дослідної та контрольної груп відбирали оральну рідину на 21, 35, 56, 91, 126 та 154 доби життя з трьох різних станків кожної вікової групи.

Зразки сім'яників та оральної рідини заморожували при  $-18 - -22^{\circ}\text{C}$  та зберігали у замороженому стані до проведення дослідження.

*Методи дослідження. ІФА дослідження.* У сироватці крові свиноматок та поросят визначали рівень антитіл сироваткового IgG специфічного до антигену вірусу РРСС 1 типу за допомогою тест-системи ID Screen® PRRS Indirect (ID, Франція).

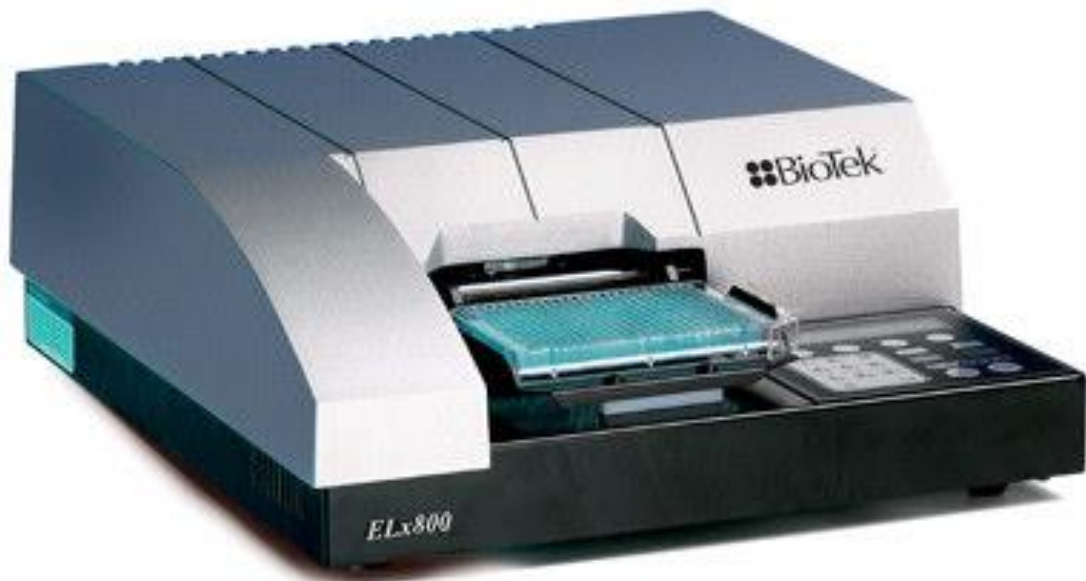
Дослідження проводили за допомогою набору одно та восьми канальних дозаторів змінного об'єму.

Відмивання 96-лінкових планшетів під час дослідження проводили фосфатним буферним розчином, що входив до складу реагентів набору за допомогою автоматичного вошеру BioTek ELx50 (рис. 2).



**Рис. 2.** Прилад для автоматичного відмивання 96-лінкових планшетів  
BioTek ELx50

Оптичну щільність зчитували на імуноферментному аналізаторі BioTek ELx800 за довжини оптичної хвилі 450 нм (рис. 3).



**Рис. 3.** Прилад для вимірювання оптичної щільності у 96-лінкових планшетах BioTek ELx800

Отримані результати враховували у тому випадку, якщо середнє значення оптичної щільності (Ощ.) негативних контрольних зразків (К-)  $\leq 0,150$  Од., а різниця між середніми значеннями позитивних контрольних зразків (К+) та негативних контрольних зразків (К-)  $\geq 0,150$

Результати дослідження обраховували за наступною формулою:

$$S/P = (\text{Ощ зразка} - \text{Ощ К-}) / (\text{Ощ К+} - \text{Ощ К-})$$

де: Ощ.К+ – середнє значення оптичної щільності позитивного контрольного зразку;

Ощ.К- – середнє значення оптичної щільності негативного контрольного зразку;

Ощ зразка – середнє значення оптичної щільності зразку.

Інтерпретацію результатів проводили згідно настанови до тест-системи: Якщо S/P менше або дорівнює 0,4, зразок вважається негативним; якщо S/P більше 0,4, зразок вважається позитивним.

*ПЛР-дослідження.* У сироватці крові, сім'яниках та слині від поросят визначали РНК вірусу РРСС 1 типу за допомогою тест-системи Bio-T kit ® PRRSV (Biosellal, Франція). Всі проби, в яких було виявлено РНК вірусу РРСС тестували набором BIO-T KIT® PRRSV DIVA Suvaхун для диференціації генетичного матеріалу епізоотичного штаму вірусу РРСС, ізольованого з біологічного матеріалу, від вакцинного Suvaхун PRRS MLV.

Проби сироваток крові від п'яти свиней з кожної статеві-вікової групи для дослідження об'єднували у один досліджуваний зразок. Об'єднання проводили шляхом змішування 200 мкл сироватки крові з кожної проби у віковій групі, після чого об'єднану пробу ретельно перемішували, після чого відбирали середню пробу для екстракції нуклеїнових кислот.

Проби тканинної рідини із сім'яників відбирали за рекомендаціями С. Vilalta із співавторами [81], об'єднуючи під час відбору по 5 сім'яників у 1 пробу.

***Екстракцію генетичного матеріалу*** з біологічного матеріалу проводили у декілька етапів. Спочатку пробу об'ємом 200 мкл або мг поміщали у пробірки об'ємом 2,0 мл куди доливали по 500 мкл лізуючого буферного розчину “ ATL Buffer ” виробництва Biosellal (Франція) та поміщали по 2 цирконієві кульки діаметром 2-3 мм. Пробірки щільно закручували і поміщали у ротор приладу для гомогенізації «FastPrep-24». Гомогенізацію зразків проводили у продовж 40 секунд зі швидкістю 6 м/с та часом прискорення у 2 секунди.

Після гомогенізації пробірки центрифугували у продовж 1 хв. За 13000 об/хв. Для подальшої екстракції нуклеїнових кислот використовувати 200 мкл надосадової рідини.

Екстракцію нуклеїнових кислот проводили автоматично за допомогою приладу «KingFisher Duo Prime». Для цього, з метою попередження контамінації, попередньо підготовлювали реактив «LAB-SMB-carrier». Потім готували плашки для екстракції нуклеїнових кислот. В ряд Е 96-луночного планшету додавали по 700 мкл «W1 Buffer» попередньо розведеного етанолом.

В ряд F планшету вносили по 700 мкл «W2 Buffer» попередньо розведеного етанолом. У ряд G 96-луночного планшету додавали по 750 мкл етанолу. В стрип для елюції (в кожену лунку) додавали по 100 мкл «EL Buffer». В ряд A вносили по 20 мкл розчину ферменту «Proteinase K». Потім додавали по 200 мкл досліджуваних зразків. Далі у лунки з пробами додавали по 500 мкл попередньо приготовленого лізуючого розчину «LAB-SMB-carrier».

Надалі два 96-луночні планшети поміщали у прилад для екстракції нуклеїнових кислот і активували протокол екстракції. Процес очищення нуклеїнових кислот тривав 45 хв. За один цикл роботи приладу одночасно нуклеїнові кислоти екстрагували з 12 досліджуваних зразків.

Після закінчення процесу екстракції у стрипах для елюції було отримано очищений розчин НК, який використовували у подальших ПЛР дослідженнях.

Ампліфікацію проводили на приладі «BioRad CFX96» (США) за наступним температурним режимом (табл. 2):

Таблиця 2

#### Температурний режим ампліфікації

№ етапу	Температура $^{\circ}C$	Час	Кількість циклів
1	50	20 хв.	1
2	95	5 хв.	1
3	95	10 сек.	40
4	60	45 сек	

Вимірювання рівня флуоресценції проводили під час 4 етапу температурного режиму за каналами:

- FAM за довжини збудження флуоресценції при 490 нм та реєстрації рівня флуоресценції при 520 нм;

- VIC за довжини збудження флуоресценції при 520 нм та реєстрації рівня флуоресценції при 548 нм;

- ROX за довжини збудження флуоресценції при 580 нм та реєстрації рівня флуоресценції при 605 нм;



- R6G за довжини збудження флуоресценції при 524 нм та реєстрації рівня флуоресценції при 557 нм;

- Cy5 за довжини збудження флуоресценції при 650 нм та реєстрації рівня флуоресценції при 670 нм.

Оцінювання результатів ампліфікації проводили за кривою рівня флуоресценції, яка перетинає порогову лінію, що свідчить про наявність у ній специфічної ділянки ДНК, яка характерна для цільового гену. Цикл, на якому відбувається перетин порогової лінії визначали як показник Ct.

Оцінювання результатів ампліфікації, щодо відповідності умов проведення реакції проводили враховуючи значення Ct для контрольних зразків згідно настанови до діагностичного набору реактивів BIO-T KIT® PRRSV за наступними показниками (табл. 3):

*Таблиця 3*

**Умови валідації результатів ампліфікації для тест-системи  
BIO-T KIT® PRRSV**

<b>Контрольні зразки</b>	<b>FAM</b>	<b>ROX</b>	<b>R6G</b>
Негативний контрольний зразок екстракції НК	Ct < 40	Ct > 40	Ct > 40
Негативний контрольний зразок приготування реакційної суміші	Ct < 40	Ct > 40	Ct > 40
Позитивний контрольний зразок кДНК вірусу РРСС 1 типу (Європейський генотип)	Ct > 40	Ct < 40	Ct > 40
Позитивний контрольний зразок кДНК вірусу РРСС 2 типу (Американський генотип)	Ct > 40	Ct > 40	Ct < 40

При відповідності значень контрольних зразків, вираховували Ct досліджуваних зразків. Результати визначали згідно настанови до діагностичного набору реактивів BIO-T KIT® PRRSV за наступними показниками (табл. 4).

**Інтерпретація результату дослідження за показником Ct для тест-системи BIO-T KIT® PRRSV**

<b>FAM</b>	<b>R6G</b>	<b>ROX</b>	<b>Результат</b>
Ct <40	Ct >40	Ct >40	РНК вірусу РРСС не виявлено
Ct <40	Ct <40	Ct >40	Виявлено РНК вірусу Європейського генотипу
Ct <40	Ct >40	Ct <40	Виявлено РНК вірусу Американського генотипу

Якщо у досліджуваному зразку за каналом FAM Ct >30, або за каналами R6G і ROX Ct >35, то отримані результати є недостовірними у зв'язку з низьким рівнем екстракції НК або контамінацією. У цьому випадку необхідно було повторити дослідження з моменту екстракції НК.

Валідацію отриманих результатів для тест-системи BIO-T KIT® PRRSV DIVA Suvaxyn проводили за контрольними зразками згідно з настанови по застосуванню до тест-системи (табл. 5).

**Умови валідації результатів ампліфікації для тест-системи BIO-T KIT® PRRSV DIVA Suvaxyn**

Контрольний зразок	Цільовий ген			Інтерпретація
	РРСС 1 тип окрім Suvaxyn (FAM)	РРСС Suvaxyn (VIC)	Екзогенний контроль реакції (Cy5)	
1	2	3	4	5
Негативний контроль виділення НК	Ct >40	Ct >40	Ct <40	Результат валідний
	Ct <40		Ct <40	Контамінація позитивним зразком
	Ct >40	Ct >40	Ct >40	Невдала екстрація НК

1	2	3	4	5
Негативний контроль приготування реакційної суміші	Ct >40	Ct >40	Ct >40	Результат валідний
	Ct <40			Контамінація позитивним зразком
Позитивний контрольний зразок РРСС РРСС 1 тип окрім Suvaxun	Ct <40	Ct <40	Ct >40	Результат валідний
	Ct >40	Ct >40	Ct >40	Проблема під час приготування реакційної суміші
	Ct <40	Ct <40	Ct <40	Контамінація дослідним зразком
Позитивний контроль РРСС Suvaxun	Ct >40	Ct <40	Ct >40	Результат валідний

Після валідації умов ампліфікації, враховуючи відповідність усіх контрольних зразків визначали результати ампліфікації досліджуваних проб. Результати визначали згідно настанови до діагностичного набору реактивів BIO-T KIT® PRRSV DIVA Suvaxun за наступними показниками (табл. 6).

Таблиця 6

**Інтерпретація результату дослідження за показником Ct для тест-системи BIO-T KIT® PRRSV DIVA Suvaxun**

Цільовий ген			Інтерпретація
РРСС 1 тип окрім Suvaxun (FAM)	РРСС Suvaxun (VIC)	Екзогенний контроль реакції (Cy5)	
Ct >40	Ct <40	Ct <40	Виявлено вакцинний штам вірусу РРСС Suvaxun
Ct <40	Ct >40		Виявлено вірус РРСС 1 (європейського) генотипу не вакцинний штам Suvaxun
Ct <40	Ct <40		Виявлено вірус РРСС 1 (європейського) генотипу та вакцинного штаму Suvaxun
Ct >40	Ct >40	Ct >40	Необхідно повторити дослідження

Біометричну обробку експериментальних даних проводили статистично з розрахунком середньо вибіркового ( $M$ ), стандартної похибки середнього ( $m$ ) критеріїв достовірності ( $p$ ) та коефіцієнту варіації ( $CV$ ) за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel з використанням вбудованих статистичних функцій. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при - \* $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

## 2.2. Характеристика Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК

Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету створений у 2008 році на базі проблемної лабораторії фізіології та функціональної морфології продуктивних тварин, що була створена на початку 2003 року згідно наказу Міністерства аграрної політики України.

Розташований Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК за адресою м. Дніпро, вул. Мандриківська, 276 у корпусі факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК складається з п'яти основних відділів: імунохімії та молекулярно-генетичного аналізу; фізіології, біохімії та хіміко-токсикологічного аналізу; бактеріології та біотехнології; морфологічних досліджень; інформаційної аналітики.

Директором Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК є д.вет.н., доцент Д.М. Масюк.

Кожен з перших чотирьох відділів у своєму складі містить по дві лабораторії. Так, до складу відділу імунохімії та молекулярно-генетичного аналізу входять лабораторія імунохімії та ПЛР-діагностики. Відділ фізіології, біохімії та хіміко-токсикологічного аналізу формується з лабораторії хіміко-токсикологічних досліджень та клінічної біохімії; відділ бактеріології у своєму складі містить лабораторії бактеріології та біотехнології, а відділ морфологічних досліджень – лабораторію гістології та імуногістохімії, а також лабораторію патоморфології та паразитології. Відділ інформаційної аналітики забезпечує комунікацію усіх лабораторій та відділів центру.

Діяльність лабораторії *ПЛР-діагностики* відділу імунохімії та молекулярно-генетичного аналізу орієнтована на діагностику інфекційних

хвороб тварин, генотипування мікроорганізмів, виявлення генетично-модифікованих мікроорганізмів та визначення фальсифікації продуктів харчування та кормів. Для цього лабораторія має офіційний дозвіл на роботу з мікроорганізмами 3-4 групи патогенності №02-18 від 19.01.2018 року, яке дійсне до 19.01.2023 року.

ПЛР-лабораторія складається з 4 основних приміщень: приміщення реєстрації та первинної обробки матеріалу; приміщення для екстракції нуклеїнових кислот; приміщення приготування реакційних сумішей; приміщення внесення проб у реакційну суміш та проведення ПЛР-ампліфікації.

Усі приміщення ПЛР-лабораторії оснащені бактерицидними лампами з ультрафіолетовим випромінюванням, гігрометрами для контролю показників зовнішнього середовища (температура, вологість) дезінфекційними розчинами для обробки рук та робочих поверхонь, бахілами, одноразовими гумовими рукавичками неопудреними, халатами, тощо.

Всі кімнати лабораторії з'єднані між собою шлюзовими вікнами для передавання досліджуваного матеріалу, що забезпечує поточність біологічного матеріалу та виключає контамінацію.

У приміщенні реєстрації та первинної обробки матеріалу, яка має загальну площу 15 м<sup>2</sup>, розташовані комп'ютера для роботи спеціалістів, робоча та нормативна документація, дві морозильні камери для зберігання досліджуваних матеріалів. Також це приміщення оснащене фарфоровими ступками з пестиками для первинної гомогенізації матеріалу, гомогенізатором «FastPrep-24» (Франція), вагами 2 класу точності «Radwag AS 220.R2» (Польща) та комплектом одноканальних дозаторів змінного об'єму.

Приміщення екстракції нуклеїнових кислот складається з передбоксу та боксу, загальною площею 15 м<sup>2</sup>, обладнане лабораторними меблями, ламінарною шафою 2 класу біологічної безпеки, високошвидкісною центрифугою та двома низкошвидкісними центрифугами для мікропробірок, твердотільним термостатом, гомогенатором та станцією для автоматичної

екстракції нуклеїнових кислот «KingFisher Duo Prime» (Thermo Fisher, США) та комплектом одноканалних дозаторів змінного об'єму.

У цьому приміщенні проводиться екстракція нуклеїнових кислот з різноманітного біологічного матеріалу різними методами – за допомогою центрифужних колонок із силікатною мембраною, на кремнієвому сорбенті та за допомогою магнітних кульок. Всі ці методи дають можливість отримати розчин нуклеїнових кислот високого ступеню очищення.

Приміщення приготування реакційних сумішей є найбільш чистою зоною ПЛР лабораторії, оскільки там зберігаються реактиви, з яких виготовляється реакційна суміш для ПЛР-дослідження. Це приміщення має як і попереднє передбокс з боксом загальною площею 12 м<sup>2</sup> і обладнане ПЛР-боксом, двома морозильними камерами для зберігання реактивів, центрифугою-вортексом, та комплектом одноканалних дозаторів змінного об'єму.

Приміщення внесення проб у реакційну суміш та проведення ПЛР-ампліфікації має передбокс з боксом загальною площею 12 м<sup>2</sup>, у якому розташовані настільний ПЛР-бокс з комплектом дозаторів, центрифугою для 96 лункових мікропланшетів та центрифугою-вортексом. На окремому столі розташовані два ампліфікатори – АНК 32 (Росія) на 32 лінки для одночасної ампліфікації та BioRad CFX 96 (США) на 96 лунок. Кожен з ампліфікаторів обладнаний системою “Rea Time”, тобто здатні реєструвати рівень флуоресценції у режимі реального часу. Прилад АНК 32 обладнаний 4-ма світловими фільтрами для детекції рівня флуоресценції, а BioRad CFX 96 – п'ятьма, з яких чотири детектуючі і один калібруючий.

У ПЛР-лабораторії для проведення досліджень використовуються реактиви світових лідерів своєї галузі, таких як Kuhl (Німеччина), EXOPOL (Іспанія), ID, Biosellal (Франція), ZTH (Португалія), та ін.

Працівники лабораторії систематично проходять стажування у провідних лабораторіях Європи та приймають участь у міжнародних лабораторних порівняльних дослідженнях з провідними лабораторними центрами світу.

*Лабораторія імунохімії* складається з однієї кімнати, яка оснащена чотирма холодильниками з морозильними камерами для зберігання реактивів та досліджуваних сироваток крові відповідно.

Лабораторія імунохімії оснащена двома комплектами мікродозаторів змінного об'єму одноканального та восьмиканального типів, текрмошейкерами для інкубації та перемішування реактивів у 96-лункових планшетах; приладом для автоматичного відмивання 96-лінкових планшетів BioTek ELx50 (США) та приладом для вимірювання оптичної щільності у 96-лінкових планшетах BioTek ELx800 (США).

У лабораторії імунохімії проводять ІФА діагностику більш ніж 50 інфекційних хвороб тварин. Для цього у лабораторії використовують реактиви провідних світових виробників: ID, BioX, Ingenasa, BioVet, Test Line, Svanova, Zoetis, тощо.

Отже, лабораторії відділу імунохімічних та молекулярно-генетичних досліджень науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу оснащені сучасним високотехнологічним обладнанням та реактивами світових лідерів, а також висококваліфікованим персоналом, що дає можливість працювати з високою якістю та постійно підтверджувати свою високу кваліфікацію і ефективність у міжнародних між лабораторних порівняльних дослідженнях організованих провідними лабораторними центрами світу.



## 2.3. Результати власних досліджень та їх аналіз

### 2.3.1. Рівень специфічних антитіл у свиней за імунопрофілактики РРСС

Результати серологічного дослідження антитіл до антигенів вірусу РРСС у сироватці крові свиней вказують на циркуляцію збуднику серед свиноматок та товарного молодняка свиней.

Встановлено, що серопревалентність за вірусом РРСС серед свиноматок до вакцинації складає близько 50 %, на що вказує наявність у сироватці крові тварин IgG специфічних до антигенів збуднику (табл. 7).

*Таблиця 7*

**Рівень специфічних антитіл до вірусу РРСС у свиноматок за специфічної імунопрофілактики ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Свиноматки		% позитивних тварин	SP, Од.	CV, %
До імунізації	Д	60	0,78±0,30	84
	К	40	0,69±0,28	91
На 21 добу після імунізації	Д	100	1,78±0,11***	13
	К	60	0,73±0,23	72

**Примітка:** Д – дослідна група, К – контрольна група; різниця між дослідною та контрольною групами вірогідна за \*\*\* -  $p < 0,001$

При цьому показники рівня антитіл (SP) та варіабельності (CV) між групами суттєво не відрізнялися між собою.

На 21 добу після імунізації у серед свиней контрольної групи суттєвих змін за досліджуваними показниками не виявлено, порівняно до значень отриманих під час дослідження свиноматок перед імунізацією.

Результати дослідження свиноматок дослідної групи характеризуються збільшенням відсотку серопозитивних тварин, достовірним підвищенням

показнику SP у 2,4 рази ( $p < 0,001$ ) та суттєвим зниженням показнику варіабельності порівняно до значень контрольної групи, що вказує на поствакцинальну сероконверсію IgG та формування 100 % гомогенного групового імунного захисту в імунізованих свиноматок за специфічної імунопрофілактики.

Дослідження специфічних імуноглобулінів IgG до антигенів вірусу РРСС у сироватці крові поросят до ссання молозива вказують на наявність антитіл у 20 % новонароджених отриманих від свиноматок контрольної групи (табл. 8). Слід відзначити, що біологічною особливістю плаценти свиноматок є фізіологічна не здатність пропускати крізь себе макромолекули. На тлі цього слід відзначити, що у пізньому плідному періоді імунна система плодів свиней вже є сформованою і може реагувати на антигенні подразнення сероконверсією, про що у своїх роботах повідомляють ряд авторів [35, 58]. З огляду на це можна зробити висновок, що наявність специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС більш за все обумовлено трансплацентарною передачею вірусу від інфікованих свиноматок до плодів. Це узгоджується з результатами Raymond Rowland [70] який повідомляє про можливість вертикального шляху передачі вірусу РРСС.

У новонароджених поросят до ссання молозива, які отримані від свиноматок дослідної групи, серопозитивних тварин не виявлено, що вказує на відсутність трансплацентарного інфікування плодів у свиноматок імунізованих живою вакциною. Наші результати узгоджуються з повідомленнями E. Pileri та E. Mateu [64], які відмічають зниження пресингу вірусу в стаді та зменшення рівня трансплацентарного інфікування плодів на тлі імунізації свиноматок живими атенуйованими вакцинами проти РРСС.

**Рівень специфічних антитіл до вірусу РРСС у товарного молодняка свиней за специфічної імунопрофілактики ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

<b>Вік поросят, діб</b>	<b>Група</b>	<b>% позитивних тварин</b>	<b>SP, Од.</b>	<b>CV, %</b>
0	Д	0	0,19±0,06	72
	К	20	0,25±0,15	130
14	Д	100	2,09±0,48***	52
	К	60	0,85±0,33	86
28	Д	100	1,62±0,37**	31
	К	60	0,61±0,32	46
56	Д	100	0,74±0,14	42
	К	20	0,44±0,22	112
77	Д	100	1,62±0,31	42
	К	80	1,17±0,59	113
119	Д	100	1,50±0,14***	21
	К	100	3,01±0,24	18
154	Д	100	1,04±0,14***	31
	К	100	5,14±0,20	9

**Примітка:** Д – дослідна група, К – контрольна група; різниця між дослідною та контрольною групами вірогідна за \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

На 14, 28 та 56 доби життя серопревалентність серед поросят контрольної групи поступово знижувалась з 60 % до 20 %, що обумовлено зменшенням показнику SP у тварин 56 доби від народження на 48 % порівняно до значень отриманих у поросят 14 добового віку, який вказує на зниження рівня специфічних імуноглобулінів у сироватці крові тварин контрольної групи.

Результати дослідження сироваток крові від поросят дослідної групи у перші 56 діб життя вказують на 100 % сформований груповий імунітет, рівень

якого має тенденцію до зменшення, що позначилось зниженням у тварин 56 доби від народження показнику SP на 64 % порівняно до значень отриманих у поросят 14 добового віку. Проте значення показнику SP у поросят на 14, 28 і 56 доби від народження є вищими відповідно у 2,46 ( $p < 0,001$ ); 2,66 ( $p < 0,01$ ) та 1,68 рази порівняно до значень тварин контрольної групи, що ми пов'язуємо з синтезом організмом поросят дослідної групи власних імуноглобулінів на тлі специфічної імунопрофілактики.

Слід відзначити, що виявлена тенденція до зменшення рівня антитіл специфічних до антигенів вірусу РРСС у крові порося обох груп більш за все обумовлена катаболізмом колостральних імуноглобулінів [26].

З 77 по 154 доби життя у крові поросят контрольної групи виявлено поступове збільшення показнику SP, порівняно до значень отриманих від поросят у 56 добовому віці, що зі збільшенням показнику серопревалентності до 100 % та значним зменшенням показнику варіабельності до 9 % вказує на сероконверсію, яка відбувається на тлі активації інфекції.

Аналізуючи результати дослідження тварин дослідної групи з 77 по 154 доби життя слід відзначити, що груповий імунітет серед поросят дослідної групи складає 100 %, середній рівень антитіл коливався у межах значень від 1,62 до 1,04 Од, що є достовірно меншим з значення тварин контрольної групи на 119 та 154 доби життя відповідно у 2,0 ( $p < 0,001$ ) та майже 5 ( $p < 0,001$ ) разів. Одночасно з цим показник варіабельності коливався у межах від 20 % до 40 %, що характерно для поствакцинальної синтетичної сероконверсії.

Отже, результати серологічного дослідження свиней контрольної групи вказують на циркуляцію збуднику РРСС серед поголів'я свиноматок із серопревалентністю понад 50 %, що сприяє трансплацентарному інфікуванню 20 % новонароджених поросят та формуванню у 60 % тварин до вірусу РРСС колострального імунітету, який зберігається до 28 доби життя, після чого на 56 добу життя реєструється формування «імунологічного вікна». Останнє сприяє активації інфекції РРСС серед тварин контрольної групи, що супроводжується сероконверсією у свиней 77 добового віку і старше.

Імунізація свиноматок живою атенуйованою вакциною проти РРСС забезпечує формування 100 % групового імунітету, що попереджує трансплацентарну передачу вірусу та сприяє формуванню більш високого та тривалого колострального імунітету проти збуднику РРСС у 100 % новонароджених.

Імунізація поросят живою атенуйованою вакциною проти РРСС у 4 добовому віці сприяє поствакцинальній сероконверсії, яка попереджує формування «імунологічного вікна» і тим самим забезпечує протективний імунний захист у свиней старше 28 діб від народження.

### 2.3.2. ПЛР-ідентифікація генетичного матеріалу вірусу РРСС

Результати ПЛР-дослідження сироваток крові від свиноматок дослідної та контрольної груп до імунізації вказують на відсутність цільових генів вірусу РРСС у досліджуваних пробах, що вказує на відсутність віремії у цих тварин (табл. 9).

*Таблиця 9*

#### Ідентифікація цільових генів кДНК вірусу РРСС у сироватці крові свиноматок, Ст

Вік поросят, діб	Група	1 генотипу	2 генотипу	Suvaxyn
До імунізації	Д	–	–	–
	К	–	–	–
На 21 добу після імунізації	Д	37,2	–	37,5
	К	–	–	–

**Примітка:** Д –дослідна група, К – контрольна група; «–» – результат негативний, не виявлено цільових генів кДНК вірусу РРСС

Дослідження сироваток крові від свиноматок на 21 добу після імунізації вказують на наявність генетичного матеріалу вірусу РРСС 1 генотипу

гомологічного вакцинному ізоляту Suvaxyn у тварин дослідної групи, що ми пов'язуємо із розвитком віремії на тлі ін'єкції живого атенуйованого вакцинного вірусу.

Результати ПЛР-дослідження сироваток крові від поросят до ссання молозива вказують на трансплацентарну передачу вірусу поросяттам, що підтверджується наявністю генетичного матеріалу збудник РРСС 1 генотипу у поросят контрольної групи (табл. 10).

Таблиця 10

**Ідентифікація цільових генів кДНК вірусу РРСС у сироватці крові  
товарного молодняка свиней, Ст**

<b>Вік поросят, дів</b>	<b>Група</b>	<b>1 генотипу</b>	<b>2 генотипу</b>	<b>Suvaxyn</b>
0	Д	–	–	–
	К	33,8	–	–
14	Д	35,8	–	36,1
	К	–	–	–
28	Д	–	–	–
	К	–	–	–
56	Д	–	–	–
	К	28,4	–	–
77	Д	–	–	–
	К	32,1	–	–
119	Д	–	–	–
	К	27,6	–	–
154	Д	–	–	–
	К	25,3	–	–

**Примітка:** Д –дослідна група, К – контрольна група; «–» – результат негативний, не виявлено цільових генів кДНК вірусу РРСС

Дослідження поросят контрольної групи у 14 добовому віці свідчать про відсутність у їх сироватці крові генетичного матеріалу епізоотичного штаму вірусу РРСС, що ми пов'язуємо з можливою елімінацією збуднику РРСС із периферичної крові поросят на тлі надходження до їх організму специфічних до антигенів вірусу колостральних імуноглобулінів, оскільки відомо про здатність імуноглобулінів опсонізувати антигенні детермінанти мікроорганізмів, чим опосередковано сприяють утилізації останніх імунними клітинами [38].

Результати дослідження сироваток крові від контрольних свиней більш старших вікових груп вказують на наявність віремії на 56, 77, 119 та 154 доби життя, що ми пов'язуємо з активацією інфекції у цьому віці на тлі формування «імунологічного вікна», наявність якого ми відзначали у розділі 2.3.1. дипломної роботи, а також з імуносупресивним впливом на організм тварин різних технологічних факторів на підприємстві, таких як зміна типу корму та перегрупування свиней, тощо.

За результатами дослідження сироватки від поросят дослідної групи встановлено, що у поросят до ссання молозива не виявлено генетичного матеріалу збуднику РРСС, що ми пов'язуємо із формуванням протективного специфічного імунного захисту у свиноматок на тлі вакцинації, який перешкоджає вертикальній передачі вірусу.

Слід відзначити, що генетичний матеріал вакцинного ізоляту вірусу РРСС 1 генотипу було виявлено у зразках сироватки крові 14 добових поросят дослідної групи, що може бути обумовлене реплікацією вакцинного штаму вірусу РРСС в організмі імунізованих тварин.

Результати ПЛР-дослідження сироваток крові від свиней на 28 добу життя і старше, вказують на відсутність генетичного матеріалу вірусу РРСС у тварин дослідної групи, що більш за все обумовлено формуванням специфічного імунного захисту їх організму на тлі специфічної імунопрофілактики.

Провівши ідентифікацію цільових генів вірусу РРСС у зразках сім'яників та оральній рідині було встановлено, що зразки сім'яників та оральної рідин одержаної від свиней 56 та 126 добового віку містять РНК вірусу РРСС 1 генотипу (табл. 11).

Таблиця 11

**Ідентифікація цільових генів кДНК вірусу РРСС у сім'яниках та оральній рідині товарного молодняка свиней, Ст**

<b>Вік поросят, діб / вид матеріалу</b>	<b>Група</b>	<b>1 генотипу</b>	<b>2 генотипу</b>	<b>Suvarun</b>
4 / сім'яники	Д	–	–	–
	К	31,8	–	–
21 / оральна рідина	Д	–	–	–
	К	–	–	–
35 / оральна рідина	Д	–	–	–
	К	–	–	–
56 / оральна рідина	Д	–	–	–
	К	34,2	–	–
126 / оральна рідина	Д	–	–	–
	К	28,7	–	–

**Примітка:** Д – дослідна група, К – контрольна група; «–» – результат негативний, не виявлено цільових генів кДНК вірусу РРСС

За результатами ПЛР-дослідження біологічного матеріалу від свиней дослідної групи підтверджено відсутність ознак циркуляції епізоотичного штаму вірусу РРСС, на що вказує негативний результат дослідження за генами 1 і 2 генотипів збуднику.

Отже, серед свиней господарства циркулює епізоотичний вірус РРСС 1 генотипу, поширення якого відбувається вертикально – від свиноматки до плода, на що вказує присутність РНК вірусу у сироватці крові новонароджених і сім'яниках 4 добових поросят, та горизонтально у свиней старше 28 добового



віку, про що свідчить ізоляція генетичного матеріалу збуднику РРСС із оральної рідини та сироватки крові тварин контрольної групи.

Імунізація живою вакциною проти РРСС свиноматок за 4 тижні до запліднення попереджує трансплацентарне інфікування їх плодів, а вакцинація поросят на 4 добу життя перешкоджає інфікування свиней у продовж усього періоду вирощування, на що вказує відсутність генетичного матеріалу збуднику РРСС у біологічних зразках тварин дослідної групи.

### 2.3.3. Продуктивні показники за імунопрофілактики РРСС

Отримані результати характеризують стан показників продуктивності свиноматок за специфічної імунопрофілактики РРСС у неблагополучному підприємстві (табл. 12).

Таблиця 12

#### Продуктивні показники свиноматок за імунопрофілактики РРСС (M±m, n=50)

Показник	Дослід	Контроль	Відхилення від контролю
% запліднюваності	79,3±12,8	70,3±9,14	+ 9
Кількість народжених поросят на свиноматку, голів	11,7±0,19	11,9±0,22	- 0,2
Народження мертвих, слабких нежиттєздатних поросят, %	11,8±0,55*	16,5±1,48	- 4,7
Збереженість у підсисний період, %	88,3±11,15	83,5±15,32	+ 4,8
Маса поросят на момент відлучення, кг	7,5±0,87	7,6±0,92	- 0,1

**Примітка:** різниця між дослідною та контрольною групами вірогідна за

\* -  $p < 0,05$

Встановлено, що використання живої атенуйованої вірусної вакцини проти РРСС сприяє підвищенню рівня запліднюваності свиноматок на 9 % порівняно до значень тварин контрольної групи. Одночасно з цим виявлено достовірне зменшення показнику народження мертвих, слабких нежиттєздатних поросят на 4,7 % ( $p < 0,05$ ) та підвищення відсотку збереженості у підсисний період на 4,8 од. порівняно із значеннями тварин контрольної групи.

Порівнюючи продуктивні показники свиней після відлучення слід відзначити, що імунізація поросят сприяє підвищенню показнику збереженості свиней у період дорощення та відгодівлі відповідно на 2,5 % та 3 % порівняно до значень показників тварин контрольної групи. При цьому рівень збереженості свиней за період вирощування після відлучення склав 83,1 % у контрольній групі та 88,0 % у дослідній (табл. 13).

Таблиця 13

**Продуктивні показники поросят товарного стада за  
імунопрофілактики РРСС ( $M \pm m$ )**

Показник	Дослід n=517	Контроль n=497	Відхилення від контролю
Збереженість поросят за період дорощення, %	92,4±3,6	89,9±4,8	+2,5
Маса тіла на кінець періоду дорощення (77 д.ж.), кг	42,1±1,8	39,0±2,2	+3,1
Збереженість за відгодівельний період, %	95,1±0,8	92,3±1,2	+3
Маса тіла на кінець відгодівлі (180 д.ж.), кг	110,7±7,8	106,0±8,5	+4,7
Середньодобовий приріст за період відгодівлі, г	0,742±0,19*	0,705±0,12	+0,037

**Примітка:** різниця між дослідною та контрольною групами вірогідна за

\* -  $p < 0,05$

Одночасно з цим у свиней дослідної групи виявлено збільшення маси тіла за період дорощення та відгодівлі на 3,1 кг та 4,7 кг відповідно, що обумовлено достовірним підвищенням середньодобового приросту на 5,3 %, порівняно із значеннями тварин контрольної групи.

Отже, імунізація свиноматок живою вакциною проти РРСС сприяє підвищенню показнику запліднюваності на 9 % та збереженості поросят у підсисний період на 4,8 %, а також достовірному зменшенню народження мертвих і нежиттєздатних поросят на 4,7 % ( $p < 0,05$ ). Вакцинація поросят на 4 добу життя сприяє збільшенню рівня збереженості у період після відлучення на 4,9 % та достовірне збільшення середньо добового приросту на 5,3 % ( $p < 0,05$ ), що сприяє підвищенню показнику середньої маси тіла свиней у 180 д.ж. майже на 5 кг.

## **2.4. Розрахунок економічної ефективності застосування лабораторних методів для контролю імунопрофілактики РРСС**

У результаті проведених розрахунків встановлено економічну ефективність від застосування молекулярних методів для лабораторного контролю імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней.

Розрахунки економічної ефективності проведені для дослідження трьох основних показників:

1. Дослідження наявності цільових генів вірусу РРСС 1 та 2 типів методом ПЛР;
2. Визначення наявності цільових генів вірусу РРСС 1 типу та вакцинного ізоляту Suvaхup методом ПЛР;
3. Встановлення рівня антитіл до антигенів збуднику РРСС у сироватці крові свиней методом ІФА.

Ефективності проведення лабораторних методів визначали за вартістю одиниці часу провідного фахівця лабораторії, витратами електроенергії на проведення дослідження, вартістю витрачених матеріалів та амортизацією задіяного обладнання.

### *2.4.1. Розрахунок економічної ефективності дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 та 2 типів методом ПЛР:*

Розрахунок вартості одиниці часу фахівця ПЛР-лабораторії:

Оплата праці провідного фахівця ПЛР-лабораторії становить 6000,00 грн., середня кількість робочих днів за календарний місяць – 21, враховуючи тривалість робочого дня, яка складає 7 годин, а також кількість годин, що необхідна для проведення дослідження – 5 годин, можна розрахувати вартість затраченого часу на проведення комплексу ПЛР-досліджень.

За умовами праці можна розрахувати вартість одиниці часу для проведення ПЛР аналізу:  $6000 / 21 / 7 \times 5$ .

Отже, вартість часу провідного фахівця ПЛР-лабораторії затраченого на дослідження складає 204,08 грн.

На електроенергію витрачається в середньому 15 грн.

Амортизаційні відрахування від використання приладів для проведення ПЛР-аналізу в залежності від їх вартості 15400000 грн., строку 5 років, часу використання при дослідженні 7 години, можлива кількість досліджуваних зразків за один аналіз – 92 проб (за умови повної завантаженості приладу).

Амортизаційні відрахування складають:

$$15\,400\,000 / 5 / 12 / 21 / 7 / 92 \times 2 = 37,96 \text{ грн/пробу}$$

Отже, амортизаційні витрати на проведення дослідження однієї проби складають 37,96 грн.

Вартість екстракції нуклеїнових кислот з однієї проби складає 152,15 грн.

Вартість тест-системи на 100 реакцій становить 39 265 грн. При цьому за допомогою одного діагностичного набору можна дослідити 70 проб.

Отже, вартість реактивів для ПЛР-дослідження 1 проби за цільовими генами РРСС 1 і 2 типів складає 560,93 грн.

Відрахування до центру зайнятості, пенсійного фонду та на медичного страхування разом складає близько 36,2% від заробітної плати профідного фахівця. З огляду на це сума нарахувань буде складати:

$$(6000,00 \times 36,2 / 100) / 21 / 7 \text{ (кількість робочих днів у місяці)} \times 5 \text{ (необхідна кількість часу для проведення дослідження)} = 73,88 \text{ грн.}$$

Отже, державні нарахування на проведені дослідження методом ПЛР за цільовими генами РРСС 1 і 2 типів складають 73,88 грн.

Сумуючи вище наведені показники витрат можна розрахувати собівартість проведених ПЛР-досліджень цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 типів:

$$204,08 + 15 + 37,96 + 560,93 + 73,88 = 891,85 \text{ грн.}$$

Отже, собівартість ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів складає 891,85 показник.

Вартість ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів складає у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК складає 1190 грн.

Виходячи з вище наведеного, можна розрахувати економічну ефективність ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів:

$$E_e = V_d - V_{\text{соб}}$$

де:

$V_d$  – вартість дослідження одного зразку за одним показником;

$V_{\text{соб}}$  – собівартість дослідження одного зразку за одним показником.

$$E_e = 1190 - 891,85 = 298,15 \text{ грн}$$

Отже, проведення ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідним та складає 298,15 грн чистого прибутку на одну пробу.

#### *2.4.2. Розрахунок економічної ефективності дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 типу та вакцинного ізоляту Suvaхун методом ПЛР.*

Враховуючи, що для визначення наявності цільових генів вірусу РРСС 1 типу та вакцинного ізоляту Suvaхун методом ПЛР показники вартості часу провідного фахівця ПЛР-лабораторії затраченого на дослідження; витрати на електроенергію; амортизаційні витрати на проведення дослідження; відрахування до центру зайнятості та витрати на екстракцію нуклеїнових кислот не відрізняються від витрат розрахованих у пункті 2.4.2., тому для розрахунку собівартості дослідження необхідно визначити вартість реактивів.

Вартість тест-системи на 100 реакцій становить 44 900 грн. При цьому за допомогою одного діагностичного набору можна дослідити 60 проб.

Отже, вартість реактивів для ПЛР-дослідження 1 проби за цільовими генами вірусу РРСС 1 типу та вакцинного ізоляту Suvaхун складає 748,33 грн.

Підсумовуючи вище наведені показники витрат можна розрахувати собівартість проведених ПЛР-досліджень цільових генів вірусу РРСС 1 генотипу та вакцинного ізоляту Suvaхун:

$$204,08 + 15 + 37,96 + 748,33 + 73,88 = 1079,25 \text{ грн.}$$

Отже, собівартість ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 генотипу та вакцинного ізоляту Suvaхун складає 1079,25 показник.

Вартість ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 генотипу та вакцинного ізоляту Suvaхун у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК складає 1490 грн.

Виходячи з вище наведеного, можна розрахувати економічну ефективність ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів:

$$E_e = V_d - V_{всоб}$$

де:

$V_d$  – вартість дослідження одного зразку за одним показником;

$V_{всоб}$  – собівартість дослідження одного зразку за одним показником.

$$E_e = 1490 - 1079,25 = 410,75 \text{ грн}$$

Отже, проведення ПЛР-дослідження цільових генів вірусу РРСС 1 генотипу та вакцинного ізоляту Suvaхун у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідним та складає 410,75 грн чистого прибутку на одну пробу.

#### *2.4.3. Розрахунок економічної ефективності дослідження специфічних антитіл до антигенів збуднику РРСС у сироватці крові свиней методом ІФА*

Розрахунок вартості одиниці часу фахівця лабораторії імунохімії:

Оплата праці провідного фахівця лабораторії імунохімії становить 6000,00 грн., середня кількість робочих днів за календарний місяць – 21, враховуючи тривалість робочого дня, яка складає 7 годин, а також кількість годин, що необхідна для проведення дослідження – 3 годин, можна розрахувати вартість затраченого часу на проведення ІФА досліджень 90 зразків сироваток крові від свиней.

За умовами праці можна розрахувати вартість одиниці часу для проведення ПЛР аналізу:  $6000 / 21 / 7 \times 3 / 90$ .

Отже, вартість часу провідного фахівця лабораторії імунохімії затраченого на дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у одному зразку сироватки крові складає 1,36 грн.

На електроенергію витрачається в середньому 10 грн. За умови одночасного дослідження 90 проб сироваток крові вартість витрат на електроенергію складає 0,11 грн на 1 пробу.

Амортизаційні відрахування від використання комплексу приладів для проведення імуноферментного аналізу в залежності від їх вартості 434 250,00 грн., строку 5 років, часу використання при дослідженні 7 години, можлива кількість досліджуваних зразків за один аналіз – 180 проб (за умови повної завантаженості приладу).

Амортизаційні відрахування складають:

$$434\ 250,00 / 5 / 12 / 21 / 7 / 180 = 0,27 \text{ грн/пробу}$$

Отже, амортизаційні витрати на проведення дослідження однієї проби складають 0,27 грн.

Вартість тест-системи на 480 реакцій становить 53700 грн. При цьому за допомогою одного діагностичного набору можна дослідити 360 проб.

Отже, вартість реактивів для ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у 1 пробі складає 149,17 грн.

Відрахування до центру зайнятості, пенсійного фонду та на медичного страхування разом складає близько 36,2% від заробітної плати провідного фахівця. З огляду на це сума нарахувань буде складати:

$$(6000,00 \times 36,2 / 100) / 21 / 7 \text{ (кількість робочих днів у місяці)} \times 3 / 90 \text{ (необхідна кількість часу для проведення дослідження)} = 0,49 \text{ грн.}$$

Отже, державні нарахування на проведені дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у 1 пробі складають 0,49 грн.

Враховуючи вище наведені витрати можна розрахувати собівартість проведеного ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у 1 пробі:

$$1,36 + 0,11 + 0,27 + 149,17 + 0,49 = 151,40 \text{ грн}$$



Отже, собівартість ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у 1 пробі складає 151,40 грн.

Вартість ІФА-дослідження 1 проби за рівнем специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК становить 265 грн.

Виходячи з вище наведеного, можна розрахувати економічну ефективність ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у 1 пробі:

$$E_e = V_d - V_{\text{соб}}$$

де:

$V_d$  – вартість дослідження одного зразку за одним показником;

$V_{\text{соб}}$  – собівартість дослідження одного зразку за одним показником.

$$E_e = 265,00 - 151,40 = 113,60 \text{ грн}$$

Отже, проведення ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідним та складає 113,60 грн чистого прибутку на одну пробу.

Підсумовуючи результати вище наведених економічних розрахунків можна зробити висновок, що лабораторна діагностика репродуктивно-респіраторного синдрому свиней молекулярними методами у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідною та складає у перерахунку на одну пробу 298,15 грн чистого прибутку при ПЛР-дослідженні цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів, 410,75 грн за ПЛР-ідентифікації генів збуднику РРСС 1 генотипу і вакцинного ізоляту Suvaxun та 113,60 грн для ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС.

### **3. ОХОРОНА ПРАЦІ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ**

Стан охорони праці у дипломній роботі висвітлений згідно методичних рекомендацій до виконання розділу у дипломних роботах «Охорона праці у ветеринарній медицині» та представлена у вигляді трьох основних розділів, в яких розкриваються питання аналізу стану охорони праці, аналізу небезпечних та шкідливих виробничих факторів та організація пожежної безпеки [10].

#### **3.1. Аналіз стану охорони праці в умовах Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК**

Охорона праці у відділі імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ організована відповідно до інструкції з охорони праці та безпеки життєдіяльності працівників відділу імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ № 10220402, яка розроблена 20.02.2017 р. на основі Положення про розробку інструкцій з охорони праці, затвердженої наказом № 9 Комітету по нагляду з охорони праці Міністерства праці та соціальної політики України від 29.01.89 р. [7].

Згідно інструкції з охорони праці працівники підрозділу інструктуються перед початком роботи під час первинного інструктажу, а потім через кожні 6 місяців проходять повторний інструктаж з техніки безпеки.

За порушення вимог інструкції з охорони праці працівники відділу імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу несуть дисциплінарну, адміністративну, матеріальну і кримінальну відповідальність згідно чинного законодавства та нормативних актів, що діють в університеті.

Постійні робочі місця працівників підрозділу знаходяться у аудиторіях 102, 104, 105, 106, і 107 факультету ветеринарної медицини ДДАЕУ. Вони

обладнані необхідною оргтехнікою, комп'ютерами, достатньо освітлені природнім та штучним світлом.

Початок робочого дня о 8:45, а закінчення о 17:15. Перерва з 12:45 до 13:15, що складає у працівників відділу восьмигодинний робочий день [3].

Перш, ніж приступити до роботи, працівники підрозділу зобов'язані знати безпечні методи праці, свої функціональні обов'язки і вимоги інструкції з охорони праці, а також інструкцій «Про порядок присвоєння 1-ої групи з електробезпеки» і «Правила безпеки під час роботи на персональному комп'ютері».

Працівник відділу імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ проходить навчання з охорони праці, безпеки життєдіяльності, пожежної безпеки у відповідності із Типовим положенням про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці, затвердженим наказом Держнаглядохоронпраці України від 26.01.2005 № 15 [5], а також Положенням про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці в закладах, установах, організаціях, підприємствах, підпорядкованих Міністерству освіти і науки України, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 18.04.2006 № 304 [8], один раз на три роки за місцем роботи обсягом не менш 20 годин.

Працівники підрозділу повинні знати керівні документи з охорони праці, безпеки життєдіяльності, пожежної безпеки; накази ректора університету з цих питань; ймовірні надзвичайні ситуації техногенного, природного, соціального і воєнного характеру, що можуть статися у Дніпровському регіоні, та ступінь їх негативного впливу на територію університету; номери телефонів ректорату, начальника відділу кадрів, безпосереднього керівника та інших працівників підрозділу; порядок оповіщення працівників підрозділу про надзвичайні ситуації техногенного, природного, соціального і воєнного характеру; порядок евакуації працівників і майна відділу в надзвичайних ситуаціях техногенного, природного соціального і воєнного характеру; заходи

щодо попередження або зменшення негативних наслідків надзвичайних ситуацій природного, соціального і воєнного характеру; варіанти розміщення працівників і майна відділу в районах евакуації.

Працівник відділу несуть відповідальність за: виконання вимог керівних документів з охорони праці, безпеки життєдіяльності, пожежної безпеки, санітарно-гігієнічних норм; своєчасне щорічне проходження флюорографії, виконання протиепідемічних заходів; своєчасне інформування безпосереднього керівника, а за його відсутності, проректора з АГР та служби охорони праці про всі надзвичайні ситуації на території університету, або в безпосередній близькості до неї [4].

Працівники відділу зобов'язані брати участь в реалізації заходів щодо попередження, або зменшення негативних наслідків надзвичайних ситуацій техногенного, природного, соціального і воєнного характеру.

### **3.2. Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих факторів**

Робота у відділі імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу організована відповідно до ДСП 9.9.5.-080-02 [2], який регламентує правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях мікробіологічного профілю. Лабораторія має дозвіл на роботу з мікроорганізмами 3-4 групи патогенності (сертифікат №02-18 від 19.01.2018 року, дійсний до 19.01.2023 року).

При виконанні посадових обов'язків на працівника відділу впливають такі шкідливі фактори: напруга аналізаторів (слухових та зорових); нервово-психічне і емоційне навантаження; статичні навантаження при роботі за письмовим столом і за комп'ютером; шум; негативний вплив скупчення людей.

Перед початком роботи працівники відділу опромінюють ультрофіолетом всі приміщення відділу у продовж однієї години, відмічаючи виконання цього у відповідних картках після чого перевіряють своє робоче місце для контролю справності електричного та іншого обладнання, виключаючи можливість

самочинного вмикання приладів. У разі виявлення загроз особистому життю і здоров'ю або інших осіб, співробітники негайно мають доповісти про це безпосередньо керівнику і далі діяти за його вказівками [6].

Виконуючи вимоги безпеки охорони праці під час виконання роботи працівники відділу повинні бути уважним, не відволікатися і не відволікати інших. Мають утримувати в чистоті та порядку робоче місце, не захаращувати його документами та забезпечувати вільний прохід до свого робочого місця та робочих місць співробітників. При тривалій відсутності на робочому місці відключати від електромережі засоби оргтехніки і інше устаткування за винятком устаткування, визначеного для цілодобової роботи, не закривати вентиляційні отвори в корпусах оргтехніки сторонніми предметами, це знижує тепловіддачу і може стати причиною поломок оргтехніки, відключати засоби оргтехніки та інше устаткування від електромережі, тільки тримаючись за вилку штепсельного з'єднувача. Не допускати натягування, скручування, перегину і пережиму шнурів електроживлення, дротів і кабелів, знаходження на них яких-небудь предметів і торкання їх до нагрітих поверхонь.

Працівникам відділу забороняється доторкатися до оголених електропроводів, контактів, самостійно міняти електролампи, світильники, плафони тощо. Також заборонено користуватися несправними електророзетками, вимикачами, електрошнурами, приносити та зберігати в приміщеннях легкозаймисті, вибухові та отруйні речовини, вживати в закладі алкогольні напої та наркотичні речовини, використовувати не за призначенням первинні засоби пожежогасіння, курити в приміщеннях лабораторії, захаращувати шляхи евакуації, користуватися у приміщеннях відкритим вогнем, виконувати роботи не передбачені трудовим договором без відома та розпорядження ректора.

Якщо трапляється нещасний випадок співробітники відділу організують надання першої медичної допомоги потерпілому та його доставку в медичний заклад, одночасно повідомляючи про те, що сталося, керівника і ректорат. Працівники зобов'язані зберегти до прибуття комісії з

розслідування нещасного випадку обстановку на робочому місці та устаткування у такому стані, в якому вони були на момент нещасного випадку (якщо це не загрожує життю чи здоров'ю інших працівників і не призведе до більш тяжких наслідків), а також вжити заходів до недопущення подібних випадків.

Після закінчення роботи працівники відділу щоденно проконтролюють стан безпеки робочого місця та при потребі вживають необхідні заходи. Обов'язково після закінчення роботи співробітники зачиняють вікна, наводять порядок на робочому місці, прибирають у належні місця обладнання та документи (поверхня робочого столу повинна бути вільною), після чого її дезінфікують робочими розчинами антисептиків та опромінюють ультрофіолетом у продовж однієї години. Також працівники відділу вимикають кондиціонер, комп'ютер, та інші електроприлади, освітлення і загальне електроживлення, окрім холодильників та морозильних камер, у яких зберігаються реактиви та досліджувані або референсні зразки.

Під час виникнення будь-яких аварійних ситуацій працівник відділу зобов'язаний у першу чергу забезпечити особисту безпеку, безпеку співробітників, а також зберігання майна підрозділу.

Аварійна ситуація або нещасний випадок можуть статися в разі: ураження електричним струмом, загорання апаратури, поривів трубопроводів, обвалу дерев, відключення електроструму без попередження, надзвичайних ситуацій природного та техногенного характеру, приступних дій сторонніх осіб, тощо.

При пориві трубопроводу працівники мають негайно викликати фахівців АГЧ. У випадку падіння дерев, місце обгородити та викликати фахівців АГЧ.

У разі протиправних дій сторонніх осіб доповісти керівнику підрозділу, викликати поліцію за телефоном 102, а якщо є потерпілі, надавати їм першу медичну допомогу, при необхідності, викликати швидку медичну допомогу за телефоном 103.

### 3.3. Пожежна безпека

У відділі імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу заходи з протипожежної безпеки забезпечені згідно ГОСТ 12.1.004-76 [1], якої направлені на попередження виникнення пожеж, забезпечують пожежну безпеку співробітників та матеріальних цінностей. Враховуючи вище вказане будівельні матеріали, які використовувались під час ремонтних робіт, є стійкими до підвищених температур.

Кожне приміщення лабораторії забезпечене порошковими вогнегасниками «ВП-5», які систематично проходять перевірку та перереєстрацію.

Працівники відділу вміють користуватися первинними засобами пожежогасіння та індивідуальними засобами захисту а також можуть надавати першу медичну допомогу у випадках враження електричним струмом і теплових опіків, у разі отримання травм з переломами, вивихами, або ударами, поранення та кровотеч.

У випадку виникнення пожежі (дим, характерний запах продуктів горіння) працівники відділу зобов'язані вжити заходів задля знаходження джерела займання та припинення енергопостачання, оцінити здатність самостійно загасити джерело займання та, якщо це можливо, загасити вогонь підручними засобами. У випадку коли самостійна боротьба з пожежею малоефективна, доповісти керівнику підрозділу і далі діяти за його вказівками [1].

У холі науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК розташований протипожежний щит, який обладнаний набором інвентарю, до якого обов'язково входить вогнегасники, відра, ящик з піском та пожежний гідрант.

Кожне приміщення у відділі імунохімічного та молекулярно-генетичного аналізу науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК має план евакуації, у якому відображений рух персоналу у разі

виникнення пожежі. Відділ забезпечений пожежним виходом, який знаходиться у вільному доступі, а персонал є проінструктований згідно правил його використання.

Відповідальність за пожежну безпеку покладена на директора науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК–Масюка Дмитра Миколайовича.



## 4. ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Отримані під час виконання дипломної роботи результати комплексу досліджень характеризують особливості застосування молекулярних методів лабораторної діагностики для контролю імунопрофілактики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней.

1. Встановлено, що серед свиней господарства циркулює епізоотичний штам вірусу РРСС 1 генотипу, поширення якого відбувається вертикально – від свиноматки до плода, на що вказує присутність РНК збудника у сироватці крові новонароджених поросят і сім'яниках 4 добових кнурців контрольної групи, та горизонтально – у свиней старше 28 добового віку, про що свідчить ізоляція генетичного матеріалу збуднику РРСС з оральної рідини та сироватки крові тварин контрольної групи.

2. Визначено, що серопревалентність за РРСС серед поголів'я свиноматок становить понад 50 %, що сприяє трансплацентарному інфікуванню 20 % новонароджених поросят та формуванню у 60 % новонароджених тварин колострального імунітету специфічного до антигенів вірусу РРСС, який зберігається у продовж 28 діб життя. Починаючи з 56 доби від народження у контрольній групі поросят реєструється формування «імунологічного вікна», а на 77 добу у 80 % свиней виявлено специфічні до антигенів збудника РРСС антитіла, рівень яких до 154 доби збільшився у 4,4 рази, що вказує на сероконверсію на тлі активації інфекції.

3. Імунізація свиноматок живою атенуйованою вакциною проти РРСС за 4 тижні до запліднення забезпечує формування 100 % групового імунітету, що попереджує трансплацентарне інфікування плодів свиней, та сприяє формуванню більш високого і тривалого колострального специфічного імунітету у всіх новонароджених поросят.

4. Вакцинація свиней у 4 добовому віці сприяє формуванню 100 % специфічного групового імунітету та достовірному збільшенню рівня антитіл у поросят на 14 та 28 доби життя відповідно у 2,6 і 2,7 рази ( $p \leq 0,01$  –  $p \leq 0,001$ ),

що попереджує утворення «імунологічного вікна» на 56 добу життя та активації інфекції.

5. З'ясовано, що імунізація свиноматок живою вакциною проти РРСС сприяє підвищенню показнику запліднюваності на 9 % та збереженості порослят у підсисний період на 4,8 %, а також достовірному зменшенню народження мертвого і нежиттєздатного приплоду на 4,7 % ( $p \leq 0,05$ ). Вакцинація порослят на 4 добу життя сприяє зростанню рівня збереженості у післявідлучному періоді на 4,9 % та достовірному підвищенню середньо добового приросту на 5,3 % ( $p \leq 0,05$ ), що обумовлює збільшення показнику середньої маси тіла свиней у 180 д.ж. майже на 5 кг.

6. Економічна ефективність лабораторної діагностики РРСС молекулярними методами у НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ є економічно вигідною та у перерахунку на одну пробу складає 298,15 грн чистого прибутку при ПЛР-дослідженні цільових генів вірусу РРСС 1 і 2 генотипів, 410,75 грн для ПЛР-ідентифікації генів збуднику РРСС 1 генотипу і вакцинного ізоляту Suvaxyn та 113,60 грн для ІФА-дослідження специфічних антитіл до антигенів вірусу РРСС.

## РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Виробництву рекомендовано у неблагополучних за репродуктивно-респіраторним синдромом свиней підприємствах для його профілактики проводити імунізацію живою атенуйованою вакциною «Suvaxyn PRRS MLV» (Zoetis, США) свиноматок за 4 тижні до запліднення та порослят на 4 добу життя.

Для лабораторного контролю ефективності імунопрофілактичних заходів рекомендовано проводити визначення рівню специфічних антитіл до антигенів збуднику РРСС у сироватці крові свиней методом ІФА та наявності одночасно трьох цільових генів вірусу РРСС, специфічних для 1 і 2 генотипів, а також вакцинного ізоляту Suvaxyn методом ПЛР.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. ГОСТ 12.1.004-76 Пожарная безопасность. Общие требования;
2. ДСП 9.9.5.-080-02 Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю;
3. Закон України «Про охорону праці».– К.: Основа, 2017.– 52 с.;
4. Кодекс законів про працю України. – Харків: Одиссей, 2016. – 158 с.;
5. Наказ Державного комітету України з нагляду за охороною праці «Про затвердження Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці та Переліку робіт з підвищеною небезпекою» (офіційне видання) № 15 від 26.01.2005 р. // Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 15 лютого 2005 р. за № 231/10511;
6. Наказ Держнаглядохоронпраці «Про правила охорони праці в лабораторіях ветеринарної медицини» (офіційне видання) № 67 від 20.04.1999 р. // Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 11 жовтня 1999 р. за N 695/3988;
7. Наказ комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України № 9 від 29.01.1998 р. «Про затвердження Положення про розробку інструкцій з охорони праці» // Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 07 квітня 1998 р. за № 226/2666;
8. Наказ Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці та безпеки життєдіяльності в закладах, установах, організаціях, підприємствах, що належать до сфери управління Міністерства освіти і науки України» № 304 від 18.04.2006 // Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 07 липня 2006 р. за № 806/12680;
9. Пейсак З. Защита здоровья свиней / З. Пейсак. – ООО «Полиграфика» г. Брест. 2012 – 631 с.;

10. Методичні рекомендації до виконання розділу у дипломних роботах «Охорона праці у ветеринарній медицині»: методичні рекомендації / уклад.: В.О. Сапронова, Дніпро, 2019. – 7 с.;

11. Ситюк М. П. Аналіз результатів серологічних досліджень свійських свиней щодо репродуктивно-респіраторного синдрому в Україні за 2013-2015 роки / М. П. Ситюк, Д. М. Масюк, А. В. Кокарев та ін. // Ветеринарна медицина, 2016. – № 102. – С. 180 – 185;

12. Allende R. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: description of persistence in individual pigs upon experimental infection / R. Allende, W.W. Laegreid, G.F. Kutish et al. // Journal of Virology, 2000. – № 74. – P. 10834–10837;

13. Amadori M. Immune Control of PRRS: Lessons to be Learned and Possible Ways Forward / M. Amadori, E. Razzuoli // Frontiers in Veterinary Science, 2014. – №1. – P. 2-8. doi:10.3389/fvets.2014.00002;

14. Baker S.R. Evaluation of a needlefree injection device to prevent hematogenous transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus / S.R. Baker, E. Mondaca, D. Polson, S.A. Dee // J Swine Health Prod., 2012. – № 20. – P. 123–128;

15. Batista L. Experimental injection of gilts with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) during acclimatization / L. Batista, C. Pijoan, M. Torremorell // Journal of Swine Health and Production, 2002. – №10. – P. 147–150;

16. Benfield D. Transmission of PRRSV by artificial insemination using extended semen seeded with different concentrations of PRRSV / D. Benfield, C. Nelson, M. Steffen, R. Rowland // In: Proceedings of the 31st annual meeting of the American association of swine practitioners, Indianapolis, Indiana, 2000. – P. 405–408;

17. Calzada-Nova G. North American Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses Inhibit Type I Interferon Production by Plasmacytoid Dendritic Cells / G. Calzada-Nova, W.M. Schnitzlein, R.J.

Husmann, F.A. Zuckermann // *J. Virol.*, 2011. – №85. – P. 2703–2713. doi: 10.1128/JVI.01616-10;

18. Cavanagh D. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae / D. Cavanagh // *Archives of virology*, 1997. – № 142. – P. 629-633;

19. Chen J. Arterivirus nsp4 Antagonizes Interferon Beta Production by Proteolytically Cleaving NEMO at Multiple Sites / J. Chen, D. Wang, Z. Sun et al. // *Journal of Virology*, 2019. – №93. – e00385–19. doi: 10.1128/jvi.00385-19;

20. Christianson W.T. Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows / W.T. Christianson, J.E. Collins, D.A. Benfield et al. // *American Journal of Veterinary Research*, 1992. – № 53. – P. 485-488;

21. Cong Y. Development and application of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to differentiate antibodies against live and inactivated porcine reproductive and respiratory syndrome virus / Y. Cong, Z. Huang, Y. Sun et al. // *Virology*, 2013. – № 444(1-2). – P. 310-316. doi: 10.1016/j.virol.2013.06.027;

22. de Lima M. Development of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus differentiable (DIVA) strain through deletion of specific immunodominant epitopes / M. de Lima, B. Kwon, I.H. Ansari, A.K. Pattnaik, E.F. Flores, F.A. Osorio // *Vaccine*, 2008. – № 26(29-30). – P. 3594-3600. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.04.078;

23. Dee S.A. Using vaccination and unidirectional pig flow to control PRRSV transmission / S.A. Dee // *Journal of Swine Health and Production*, 1998. – № 6. – P. 21–25;

24. Díaz I. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection / I. Díaz, A. Venteo, B. Rebollo et al. // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2012. – № 24. – P. 344–348;

25. Dotti S. Comparative evaluation of PRRS virus infection in vaccinated and naïve pigs / S. Dotti, R. Villa, E. Soss et al. // *Research in Veterinary Science*, 2011. – № 90(2). – P. 218-225;
26. Drigo M. Comparative evaluation of immune responses of swine in PRRS-stable and unstable herds / M. Drigo, E. Giacomini, M. Lazzaro et al. // *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2018. – №200. – P. 32-39. doi: 10.1016/j.vetimm.2018.04.007;
27. Duan X. Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) / X. Duan, H.J. Nauwynck, M.B. Pensaert // *Veterinary Microbiology*, 2017. – № 56. – P.9–19;
28. Fang Y. The PRRSV replicase: Exploring the multifunctionality of an intriguing set of nonstructural proteins / Y. Fang, E.J. Snijder // *Virus Research*, 2010. – № 154. – P. 61–76;
29. Fano E. Eradication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by serum inoculation of naïve gilts / E. Fano, L. Olea, C. Pijoan // *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2005. – № 69. – P. 71–74;
30. Feng L. Generation and characterization of a porcine endometrial endothelial cell line susceptible to porcine reproductive and respiratory syndrome virus / L. Feng, X. Zhang, X. Xia // *Virus Research*, 2013. – № 171. – P. 209–215;
31. Francisco J. Salguero. Host–pathogen interactions during porcine reproductive and respiratory syndrome virus 1 infection of piglets / F. J. Salguero, J.P. Frossard, J. M.J. Rebel et al. // *Virus Research*, 2015. – № 202. – P. 135–143;
32. García-Nicolás O. Virulence and genotype-associated infectivity of interferon-treated macrophages by porcine reproductive and respiratory syndrome viruses / O. García-Nicolás, A. Baumann, N.J. Vielle et al. // *Virus Research*, 2014. – № 179. – P. 204–211;

33. García-Sastre A. Ten Strategies of Interferon Evasion by Viruses / A. García-Sastre // *Cell Host Microbe*, 2017. – № 22. – P. 176–184. doi: 10.1016/j.chom.2017.07.012;

34. Ge M. Determination of antibody induction by highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus (HP-PRRSV) vaccine: A comparison of two ELISA kits / M. Ge, R.C. Li, W. Gong, C. Tu // *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2019. – № 81(8). – P. 1173-1176. doi: 10.1292/jvms.18-0482;

35. Gerber P.F. Fetal infections and antibody profiles in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2) / P.F. Gerber, F.M. Garrocho, A.M. Lana, Z.I. Lobato // *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2012. – №76 (1). – P. 38-44;

36. Giammarioli M. Development of a novel hot-start multiplex PCR for simultaneous detection of classical swine fever virus, African swine fever virus, porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine parvovirus / M. Giammarioli, C. Pellegrini, C. Casciari, G.M. De Mia // *Veterinary Research Communications*, 2008. – №32(3). – P. 255-262. doi: 10.1007/s11259-007-9026-6;

37. Gibert E. Comparison of protocols for the analysis of type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus by RT-PCR using oral fluids / E. Gibert, G. Martín-Valls, E. Mateu // *Journal of Virological Methods*, 2017. – № 243. – P. 190-195. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.02.010;

38. Go N. How to prevent viremia rebound? Evidence from a PRRSV data-supported model of immune response / N. Go, S. Touzeau, Z. Islam et al. // *BMC Systems Biology*, 2019. – № 13. – P. 15 – 36. <https://doi.org/10.1186/s12918-018-0666-7>;

39. Halbur P.G. Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus / P.G. Halbur, P.S. Paul, M.L. Frey et al. // *Veterinary Pathology*, 2006. – № 33(2). – P. 159–170;

40. Han M., Ke H., Zhang Q., Yoo D. Nuclear imprisonment of host cellular mRNA by nsp1 $\beta$  protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus / M. Han, H. Ke, Q. Zhang, D. Yoo // *Virology*, 2017. – № 505. – P. 42–55. doi: 10.1016/j.virol.2017.02.004;

41. Henao-Diaza A. Understanding and interpreting PRRSV diagnostics in the context of “disease transition stages” / A. Henao-Diaza, J. Jib, L. Giménez-Lirolaa, D. H. Bauma, J. Zimmerman // *Research in Veterinary Science*, 2020. – № 131. – P. 173–176. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.023>;

42. Hermann J.R. Probability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection as a function of exposure route and dose / J.R. Hermann, C.A. Muñoz-Zanzi, M.B. Roof, K. Burkhart, J.J. Zimmerman // *Veterinary Microbiology*, 2005. – №110. – P. 7–16;

43. Ivashkiv L.B. Regulation of type I interferon responses / L.B. Ivashkiv, L.T. Donlin // *Nat. Rev. Immunol.*, 2014. –№ 14. – P. 36–49. doi: 10.1038/nri3581;

44. Jennings R.N. Type I interferon signaling enhances CD8+ T cell effector function and differentiation during murine gammaherpesvirus 68 infection / R.N. Jennings, J.M. Grayson, E.S. Barton // *Journal of Virology*, 2014. – № 88. – P. 14040–14049;

45. Johnson C.R. Novel structural protein in porcine reproductive and respiratory syndrome virus encoded by an alternative ORF5 present in all arteriviruses / C.R. Johnson, T.F. Griggs, J. Gnanandarajah, M.P. Murtaugh // *The Journal of general virology*, 2011. – № 92. – P. 1107-1116;

46. Jusa E.R. Slow-reacting and complement-requiring neutralizing antibody in swine infected with porcine reproductive and respiratory (PRRS) virus / E.R. Jusa, Y. Inaba, M. Kouno et al. // *Journal of Veterinary Medical Science*, 1996. – № 58. – P. 749–753;

47. Kashyap S.P. Development of recombinant nucleocapsid protein-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay for sero-survey of porcine reproductive and respiratory syndrome / S.P. Kashyap, J. Hiremath, S. Vinutha



et al. // *Veterinary World*, 2020. – №13(12). – P. 2587-2595. doi: 10.14202/vetworld.2020.2587-2595;

48. Ke H. The viral innate immune antagonism and an alternative vaccine design for PRRS virus / H. Ke, D. Yoo // *Veterinary Microbiology*, 2017. – № 209. – P. 75 – 89. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.03.014;

49. Kraft C. Evaluation of PRRSV specific, maternally derived and induced immune response in Ingelvac PRRSFLEX EU vaccinated piglets in the presence of maternally transferred immunity / C. Kraft, R. Hennies, K. Dreckmann et al. // *PLoS One*, 2019. – № 14(10). – e0223060. doi:10.1371/journal.pone.0223060;

50. Li X. Emergency vaccination alleviates highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection after contact exposure / X. Li, L. Qiu, Z. Yang, R. Dang, X. Wang // *BMC Veterinary Research*, 2013. – №9. – P. 26 – 38;

51. Linhares D. Comparison of time to PRRSV-stability and production losses between two exposure programs to control PRRSV in sow herds / D. Linhares, J. Cano, M. Torremorell, R. Morrison // *Preventive Veterinary Medicine*, 2014. – № 116. – P. 111–119;

52. Lopez O.J. Protection against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection through passive transfer of PRRSV-neutralizing antibodies is dose dependent / O.J. Lopez, M.F. Oliveira, E.A. Garci et al. // *Clinical and Vaccine Immunology*, 2007. – № 14. – P. 269–275;

53. Loula T. Mystery Pig Disease / T. Loula // *Agri-practice*, 1991. – №28. – P. 23-34;

54. Loving C.L. Innate and adaptive immunity against porcine reproductive and respiratory syndrome virus / C.L. Loving, F.A. Osorio, M.P. Murtaugh, F.A. Zuckermann // *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2015. – № 167. – P. 1–14;

55. Lunney J.K. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): pathogenesis and interaction with the immune system / J.K. Lunney,

Y. Fang, A. Ladinig et al. // *Annual Review of Animal Biosciences*, 2016. – № 4. – P. 129–154;

56. Madera S. Type I IFN promotes NK cell expansion during viral infection by protecting NK cells against fratricide / S. Madera, M. Rapp, M.A. Firth et al. // *Journal of Experimental Medicine*, 2016. – № 213. – P. 225–233;

57. Martelli P. Efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity / P. Martelli, S. Gozio, L. Ferrari et al. // *Vaccine*, 2009. – № 27(28). – P. 3788–3799;

58. Meester M. Infection dynamics and persistence of hepatitis E virus on pig farms – a review / M. Meester, T.J. Tobias, M. Bouwknecht et al. // *Porc Health Manag*, 2021. – № 7. <https://doi.org/10.1186/s40813-021-00189-z>;

59. Morgan S.B. Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance / S.B. Morgan, S.P. Graham, F.J. Salguero et al. // *Veterinary Microbiology*, 2013. – № 163(2). – P. 13–22;

60. Morgan S.B. Pathology and virus distribution in the lung and lymphoid tissues from pigs inoculated with three type 1 PRRS virus isolates of different pathogenicity / S.B. Morgan, J.P. Frossard, F.J. Pallares et al. // *Transboundary and Emerging Diseases*, 2014. – doi: 10.1111/tbed.12272;

61. Murtaugh M.P. Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) / M.P. Murtaugh, M. Genzow // *Vaccine*, 2011. – № 26. – P. 8192–8204;

62. Nelsen C.J. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus comparison: Divergent evolution on two continents / C.J. Nelsen, M.P. Murtaugh, K.S. Faaberg // *Journal of Virology*, 1999. – № 73. – P. 270–280;

63. Otake S. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles / S. Otake, S.A. Dee, K.D. Rossow et al. // *Vet Rec.*, 2002. – № 150. – P. 114–115;

64. Pileri E. Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination / E. Pileri, E. Mateu // *Veterinary Research*, 2016. – № 47. – P. 108-121. DOI 10.1186/s13567-016-0391-4;

65. Porcine reproductive and respiratory syndrome: Chapter 3.8.6. / OIE Terrestrial manual, 2018. – P. 1579 – 1593;

66. Provost C. Identification of a new cell line permissive to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection and replication which is phenotypically distinct from MARC-145 cell line / C. Provost, J.J. Jia, N. Music et al. // *Virology Journal*, 2012. – № 13. – P. 267;

67. Renukaradhya G.J. Live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Current status and future direction / G.J. Renukaradhya, X.J. Meng, J.G. Calvert, M. Roof, K.M. Lager // *Vaccine*, 2015. – №33(33). – P. 4069 – 4080. doi:10.1016/j.vaccine.2015.06.092;

68. Robinson S.R. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus neutralizing antibodies provide in vivo cross-protection to PRRSV1 and PRRSV2 viral challenge / S.R. Robinson, M.C. Rahe, D.K. Gray et al. // *Virus Research*, 2018. – № 248. – P. 13-23. doi:10.1016/j.virusres.2018.01.015;

69. Rodríguez-Gómez I.M. Activation of extrinsic- and Daxx-mediated pathways in lymphoid tissue of PRRSV-infected pigs / I.M. Rodríguez-Gómez, I. Barranco, S.P. Amarilla et al. // *Veterinary Microbiology*, 2014. – № 172. – P. 186–194;

70. Rowland R.R. The interaction between PRRSV and the late gestation pig fetus / R.R. Rowland // *Virus Research*, 2010. – № 154(1-2). – P. 114-122. doi:10.1016/j.virusres.2010.09.001;

71. Sang Y. Differential expression and activity of the porcine type I interferon family / Y. Sang, R.R. Rowland, R.A. Hesse, F. Blecha // *Physiological Genomics*, 2010. – № 42. – P. 248–258;

72. Sang Y. Molecular evolution of the porcine type I interferon family: subtype-specific expression and antiviral activity / Y. Sang, J. Bergkamp, F. Blecha // *PLoS One*, 2014. – № 9. – e112378;

73. Schneider W.M. Interferon-Stimulated Genes: A Complex Web of Host Defenses / W.M. Schneider, M.D. Chevillotte, C.M. Rice // *Annu. Rev. Immunol.*, 2014. – № 32. – P. 513–545. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120231;

74. Schneider W.M. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses / W.M. Schneider, M.D. Chevillotte, C.M. Rice // *Annual Review of Immunology*, 2014. – № 32. – P. 513-527;

75. Scortti M. Effects of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts / M. Scortti, C. Prieto, F.J. Martinez-Lobo et al. // *Veterinary Journal*, 2006. – № 172. – P. 506–514;

76. Seo B.J. Evaluation of two commercial PRRSV antibody ELISA kits with samples of known status and singleton reactors / B.J. Seo, H. Kim, H.S. Cho, B.Y. Park, W.I. Kim // *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2016. – № 78(1). – P. 133-138. doi: 10.1292/jvms.15-0126;

77. Snijder E.J. The molecular biology of arteriviruses / E.J. Snijder, J.J. Meulenberg, // *The Journal of general virology*, 1998. – № 79 (5). – P. 961-979;

78. Song B.H. Packaging of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicon RNA by a stable cell line expressing its nucleocapsid protein / B.H. Song, J.M. Kim, J.K. Kim et al. // *Journal of Microbiology*, 2011. – № 49. – P. 516–523;

79. Song J. The nsp2 Hypervariable Region of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Strain JXwn06 Is Associated with Viral Cellular Tropism to Primary Porcine Alveolar Macrophages / J. Song, P.Gao, C. Kong et al. // *Journal of Virology*, 2019. – № 93. – 24 p.;

80. Terpstra C. Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad

virus: Koch's postulates fulfilled / C. Terpstra, G. Wensvoort, J.M. Pol // *Veterinary Quarterly*, 1991. – № 13. – P. 131-136;

81. Vilalta C. Assessing the litter level agreement of RT-PCR results for porcine reproductive and respiratory syndrome virus in testicles, tails and udder wipes diagnostic samples relative to serum from piglets / C. Vilalta, J.M. Sanhueza, M. Schwartz et al. // *Preventive Veterinary Medicine*, 2021. – №186. – P. 105211. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.105211;

82. Wensvoort G. Mystery Swine Disease in the Netherlands: The Isolation of Lelystad Virus / G. Wensvoort, C. Terpstra, J. Pol et al. // *The Veterinary Quarterly*, 1991. – № 13. – P. 121-130;

83. Wissink E.H. Envelope protein requirements for the assembly of infectious virions of porcine reproductive and respiratory syndrome virus / E.H. Wissink, M.V. Kroese, H.A. Wijk et al. // *Journal of Virology*, 2005. – № 79. – P. 12495–12506;

84. Xie J. A Triple Amino Acid Substitution at Position 88/94/95 in Glycoprotein GP2a of Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV1) Is Responsible for Adaptation to MARC-145 / J. Xie, I. Trus, D. Oh, et al. // *Cells Viruses*, 2019. – № 11. – 36 p.;

85. Yang L. Nonstructural Protein 11 of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Induces STAT2 Degradation To Inhibit Interferon Signaling / L. Yang, J. He, R. Wang et al. // *Journal of Virology*, 2019. – №93. – e01352–19. doi: 10.1128/jvi.01352-19;

86. Young B. Clinical signs and their association with herd demographics and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) control strategies in PRRS PCR-positive swine herds in Ontario / B. Young, C. Dewey, Z. Poljak, T. Rosendal, S. Carman // *Veterinary Research*, 2010. – № 74(3). – P. 170–177;

87. Zhang H.L. Adaptions of field PRRSVs in Marc-145 cells were determined by variations in the minor envelope proteins GP2a-GP3 / H.L. Zhang, Y.D. Tang, C.X. Liu et al. // *Veterinary Microbiology*, 2018. – № 222. – P. 46–54;

88. Zhang Y.T. Field evaluation of two commercial RT-rtPCR assays for porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection using sera from ill and healthy pigs, China / Y.T. Zhang, X.Q. Guo, J.D. Callahan et al. // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2018. – № 30(6). – P. 848-854. doi:10.1177/1040638718800357;

89. Zimmermann J.J. Porcine reproductive and respiratory syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: *Diseases of Swine, Tenth Edition*, Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. eds. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA, 2012. – P. 461 –486;

90. Zimmermann P. Factors That Influence the Immune Response to Vaccination / P. Zimmermann, N. Curtis // *Clinical Microbiology Reviews*, 2019. – № 32 (2). – e00084-18;

91. Christopher-Hennings J. Comparison of RNA extraction methods for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from boar semen / J. Christopher-Hennings, M. Dammen, E. Nelson, R. Rowland, R. Oberst // *Journal of Virological Methods*, 2006. – № 136(1-2). – P. 248-253. doi: 10.1016/j.jviromet.2006.03.012;

## **6. ДОДАТКИ**

*VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів "Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи", травень 2021*

кількість генетичного матеріалу виявлено за показником В токсин кодууючої *Cl. difficile*.

Отже, домінуючим мікроорганізмом у кишечнику клінічно здорових поросят віком 3-5 діб життя є *E. coli*, а у поросят з ознаками діареї – ротавірус типу С.

**Висновки.** Мікробіом кишечника клінічно здорових підсисних поросят у 3-5 добовому віці представлений двома популяціями бактерій *E. coli*, серед яких присутні сліди ентеротоксигенних форм, та *Cl. perfringens* типу А. У кишечнику свиней з ознаками діареї, на тлі вище зазначених бактерій, ідентифіковано В токсин синтезуючу *Cl. difficile* та ротавірус типу С, які є етіологічним чинником діареї у поросят.

УДК 636.4.09:616.98-071

### СЕРОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ВАКЦИНАЦІЇ СВИНЕЙ ПРОТИ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ

*Поїзд В.М., здоб. вищої освіти, Масюк Д.М., д-р вет. наук, доцент, професор,*

*Кокарев А.В., к. вет. н., доцент*

*poizdvasia96@gmail.com*

*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна*

**Вступ.** Вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (PPCC) є широко розповсюдженим у свинарських господарствах усього світу (Terrestrial manual OIE, 2018). Викликаючи патологію респіраторних органів та викликаючи порушення у функціонуванні репродуктивної системи цей вірус завдає значних економічних збитків свинарству всього світу (Linhares D. et al., 2014). Україна на сьогодні є неблагополучною за PPCC, оскільки ознаки циркуляції цього збудника виявлено у багатьох регіонах (Ситюк М. П. та ін., 2016).

Основною стратегією контролю та профілактики PPCC на підприємстві є імунізація тварин (Murtaugh M.P. and Genzow M., 2011). На ринку України сьогодні представлений широкий спектр вакцин проти PPCC 1 генотипу, які поділяються на живі атенуйовані та інактивовані. Кожна з цих вакцин потребує особливої уваги, оскільки їх біологічні властивості є різними, і невірною сформована схема імунопрофілактики може не лише бути малоефективною але й в деяких випадках зашкодити господарству (Renukaradhya G.J. et al., 2015). Одночасно з цим існує ряд інших факторів, які впливають на якість імунопрофілактичних заходів, серед яких є імуносупресивні стани тварин, що утворюються на тлі одночасної циркуляції у стаді свиней декількох патогенних мікроорганізмів, ураження тварин мікотоксинами, порушеннями технології годівлі та утримання, тощо (Zimmermann P., et al., 2019). Саме тому кожен впроваджену схему лікувально-профілактичних заходів необхідно систематично контролювати.

З огляду на це, лабораторна діагностика є невід'ємною частиною розробки схеми лікувально-профілактичних заходів, оскільки дає можливість ідентифікувати критичні технологічні періоди у вирощуванні свиней та визначити рівень серопревалентності (Kashyap S.P. et al., 2020). Зважаючи на це, особливої актуальності набуває контроль імунопрофілактики PPCC серологічними методами.

**Мета роботи.** Встановити особливості серологічного контролю вакцинації свиней проти репродуктивно-респіраторного синдрому.

**Матеріал і методи.** Експериментальні дослідження проведені на базі свинокомплексу циклу опорос-відгодівля із загальною кількістю 42 700 свиней, серед яких 3100 свиноматок. Лабораторні дослідження виконані в умовах лабораторії імунохімії НДЦ біобезпеки та екологічного контролю АПК ДДАЕУ.

Для проведення експерименту було сформовано дві аналогічні групи свиноматок 2-3 опоросу – дослідна і контрольна, по 50 голів у кожній. Свиноматок дослідної групи



*VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів "Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи", травень 2021*

імунізували вакциною Suvaxyn PRRS MLV (Zoetis, США) за 4 тижні до запліднення у дозі 2 мл. Ін'єкцію проводили у ділянку шиї позаду вуха. Всіх поросят отриманих від свиноматок дослідної групи імунізували на 4 добу життя вакциною Suvaxyn PRRS MLV (Zoetis, США) у дозі 2 мл. Ін'єкцію проводили у внутрішню сторону стегна. Свиноматкам та поросят контрольної групи ін'єкували по 2 мл 0,9 % розчину NaCl.

Від поросят відбирали сироватку крові на першу добу життя до ссання молозива (0), а також на 14, 28, 56, 77, 119, 154 доби від народження. Сироватку крові центрифугували та заморожували при  $-18 - -22^{\circ}$  C та зберігали у замороженому стані до проведення дослідження.

У сироватці крові свиноматок та поросят визначали рівень антитіл сироваткового IgG специфічного до антигену вірусу PPRC 1 типу за допомогою тест-системи ID Screen® PRRS Indirect (ID, Франція). Інтерпретацію результатів проводили згідно настанови до тест-системи.

Біометричну обробку експериментальних даних проводили статистично з розрахунком середньо вибіркового (M), стандартної похибки середнього (m) критеріїв достовірності (p) та коефіцієнту варіації (CV) за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel з використанням вбудованих статистичних функцій. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при - \* $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

**Результати.** Результати дослідження вказують на наявність антитіл у 20 % новонароджених отриманих від свиноматок контрольної групи, що більш за все обумовлено трансплацентарною передачею вірусу від інфікованих свиноматок до плодів (Raymond Rowland, 2010).

Серед новонароджених поросят до ссання молозива, які отримали від свиноматок дослідної групи, серопозитивних тварин не виявлено, що вказує на відсутність трансплацентарного інфікування плодів у свиноматок імунізованих живою вакциною.

На 14, 28 та 56 доби життя серопревалентність серед поросят контрольної групи поступово знижувалась з 60 % до 20 %, що обумовлено зменшенням показнику SP у тварин 56 доби від народження на 48 % порівняно до значень отриманих у поросят 14 добового віку. Це вказує на зниження рівня специфічних імуноглобулінів у сироватці крові тварин контрольної групи.

Результати дослідження сироваток крові від поросят дослідної групи у перші 56 днів життя вказують на 100 % сформований груповий імунітет, рівень якого має тенденцію до зменшення, що позначилось зниженням у тварин 56 доби від народження показнику SP на 64 % порівняно до значень отриманих у поросят 14 добового віку. Проте значення показнику SP у поросят на 14, 28 і 56 доби від народження є вищими відповідно у 2,46 ( $p < 0,001$ ); 2,66 ( $p < 0,01$ ) та 1,68 рази порівняно до значень тварин контрольної групи, що ми пов'язуємо з синтезом організмом поросят дослідної групи власних імуноглобулінів на тлі специфічної імунопрофілактики.

Слід відзначити, що виявлена тенденція до зменшення рівня антитіл специфічних до антигенів вірусу PPRC у крові поросят обох груп більш за все обумовлена катаболізмом колостральних імуноглобулінів (Drigo M et al., 2018).

З 77 по 154 доби життя у крові поросят контрольної групи виявлено поступове збільшення показнику SP, порівняно до значень отриманих від поросят у 56 добовому віці, що на тлі збільшення показнику серопревалентності до 100 % та значного зменшення показнику варіабельності до 9 % вказує на сероконверсію, яка відбувається на тлі активації інфекції.

Аналізуючи результати дослідження тварин дослідної групи з 77 по 154 доби життя слід відзначити, що груповий імунітет серед поросят дослідної групи склав 100 %, середній рівень антитіл коливався у межах значень від 1,62 до 1,04 Од, що є достовірно меншим за значення тварин контрольної групи на 119 та 154 доби життя відповідно у 2,0 ( $p < 0,001$ ) та

*VI Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів "Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи", травень 2021*

майже 5 ( $p < 0,001$ ) разів. Одночасно з цим показник варіабельності коливався у межах від 20 % до 40 %, що характерно для поствакцинальної синетичної сероконверсії.

**Висновки.** У свиней контрольної групи виявлено ознаки трансплацентарного інфікування 20 % новонароджених поросят та формування у 60 % тварин до вірусу РРСС колострального імунітету, що обумовлено циркуляцією вірусу РРСС серед свиноматок. Колостральний імунітет зберігається до 28 доби життя, а на 56 добу життя реєструється формування «імунологічного вікна», яке сприяє активації інфекції серед тварин контрольної групи, що супроводжується сероконверсією у свиней 77 добового віку і старше.

Імунізація свиноматок проти РРСС попереджує трансплацентарну передачу вірусу та сприяє формуванню більш високого та тривалого колострального імунітету проти вірусу РРСС у 100 % новонароджених. Вакцинація поросят у 4-добовому віці сприяє поствакцинальній сероконверсії, яка попереджує формування «імунологічного вікна» і тим самим забезпечує протективний імунний захист у свиней старше 28 днів від народження.

УДК 619:616.3:636.7

### **ЗМІНИ КЛІНІКО-БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЗА СУДИННИХ ПАТОЛОГІЙ ПЕЧІНКИ У СОБАК**

*Чудінова Є.А., магістрантка, Єфімов В.Г., к.вет.н., доцент  
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна*

**Вступ.** Частота реєстрації судинних патологій печінки останнім часом постійно зростає. Зокрема, з 1980 по 2002 рік було виявлено 2400 собак з підтвердженим діагнозом портокавальний шунт, а частота реєстрації за цей час збільшилась з 5:10000 собак у 1980 року до 5:1000 собак у 2002 році, що пов'язано з широким використанням комп'ютерної томографії (Tobias K.M. & V.W. Rohrbach, 2003). Необхідно зазначити, що у 95% собак із вродженими позапечінковими шунтами розвивається печінкова енцефалопатія, а неврологічні епізоди часто розвиваються після прийому високобілкового корму (Cornillie P. & P. Simoens, 2005).

Діагностика судинних аномалій печінки має включати в себе детальний збір анамнезу, лабораторні аналізи, ультрасонографічне обстеження черевної порожнини а також КТ-обстеження черевної порожнини. Крім того, окремі автори рекомендують визначення рівню жовчних кислот у плазмі крові натщесерце та після годівлі, а також дослідження рівню амоніаку, що мають високу діагностичну цінність (Meyer D.J., 1986).

Отже, судинна патологія печінки у собак потребує на особливу увагу, адже постановка діагнозу лише на підставі клінічних ознак є неможливою і потребує лабораторних та інструментальних досліджень.

**Метою** роботи було оцінити зміни біохімічних показників крові за судинної патології у собак.

**Матеріали і методи.** Робота виконувалася в умовах клініки ветеринарної хірургії лікаря Малишко (м. Дніпро). Для виконання роботи було відібрано 4 собаки, що мали різну судинну патологію печінки.

Біохімічні показники крові визначались за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Mindray BA-88A з використанням комерційних наборів реагентів.

Ультрасонографічне обстеження черевної порожнини було проведено за допомогою ультразвукового апарату Siemens Acuson SC2000. Комп'ютерну томографію проводили за допомогою 16 зрізового томографа Toshiba Medical Systems Co, Otawara, Japan, КТ-ангіографію проводили у стерильному положенні, у режимі – 1-2 мм, 120 kVp, та 150 mAs.

**Результати досліджень.** *Перший клінічний випадок.* Йоркширський тер'єр Юкка віком



**Валидация**

Результаты теста считаются достоверными, если:

- ✓ среднее значение оптической плотности отрицательного контроля (ОП<sub>н</sub>) меньше или равно 0,150.

$ПО_{\%} \leq 0,150$

- ✓ разница между средним значением ОП положительного контроля (ОП<sub>п</sub>) и ОП отрицательного контроля (ОП<sub>н</sub>) больше либо равна 0,150.

$ПО_{\%} - ПО_{\%} \geq 0,150$

**Интерпретация**

Для каждого образца рассчитывается значение S/P с использованием соответствующих значений тестируемых и контрольных образцов.

$$S/P \% = \frac{ОП_{\text{образца}} - ОП_{\text{н}}}{ОП_{\text{п}} - ОП_{\text{н}}}$$

Значение S/P	Интерпретации
S/P < 0,4	отрицательный
S/P ≥ 0,4	положительный

Certified management system

ALFA BIO

REDMI NOTE 9 AI QUAD CAMERA

**ID Screen®**

**PRRS Indirect**

Непрямой иммуноферментный анализ для обнаружения антител, направленных против европейского и американского штаммов вируса PRRS в сыворотке или плазме крови свиней

Для применения *in vitro*

PRRS версия 1115 RU

Страница 4  
PRRS версия 1115 RU

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE  
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95  
www.id-vet.com - E-mail: info@id-vet.com

0010337

### Общая информация

Этот диагностический набор предназначен для обнаружения антител, направленных против вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней (PRRS) европейского штамма (ЕС-PRRS, тип 1, в том числе, LEM4, подтип 3) и американского (US-PRRS, тип 2) штаммов вируса. Он может быть использован для анализа сыворотки или плазмы крови свиней.

### Описание и принцип действия

Лунки микропланшета, покрыты recombinantным протеином PRRSV ORF7.

Образцы для анализа и контрольные образцы вносятся в лунки. Анти-PRRS антитела, если они присутствуют, образуют комплекс антиген-антитело.

После этапа промывки в лунки вносятся конъюгат anti-BS свиньи меченым пероксидазой, который связывается с антителами образуя комплекс антиген-антитело-конъюгат-НRP.

После промывки микропланшета в лунки добавляется субстратный раствор (ТМВ). Реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент.

Окрасивание раствора в лунках пропорционально количеству специфических антител имеющихся в исследуемых образцах.

При наличии антител раствор имеет синий цвет, который становится желтым после добавления стоп-реактента.

При отсутствии антител раствор не окрасивается.

Оптическую плотность раствора измеряют фотометрически при длине волны 450 нм.

### Компоненты

Компонент*
Микропланшет, лунки которого покрыты recombinantным протеином PRRSV
Концентрат конъюгата (10X)
Положительный контроль
Отрицательный контроль
Буферный раствор 14
Буферный раствор 3
Концентрат промывочного раствора (20X)
Субстратный раствор (ТМВ)
Стоп-реагент (0.5 M)

- \* **Поставляемые количества компонентов обозначены на этикетке конъюгата**
- 1. Конъюгат, контрольные образцы и субстратный раствор хранят при  $T +5^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ).
- 2. Другие реактивы хранят при  $T +2^{\circ}\text{C}$  и  $+8^{\circ}\text{C}$ .

3. Все компоненты, имеющие одинаковые наименования (промывочный раствор, растворитель) могут применяться ко всей гамме продукции Дувет.

**Примечание:** Дувет может предоставить вам дополнительные объемы указанных выше компонентов, при необходимости.

### Дополнительные материалы и оборудование, не поставляемые с наборами

1. Пипетки одноканальные и 8-канальные, откалиброванные к объемам 5 мкл, 10 мкл, 100 мкл и 200 мкл.
2. Одноканальные наконечники к пипеткам.
3. Фотометр оптической плотности для 96-луночного микропланшета.
4. Дистиллированная и деионизированная вода.
5. Ручная или автоматическая промывочная установка

### Меры предосторожности

1. Не пипетировать растворы голыми руками.
2. Субстратный раствор может вызвать раздражение кожи в случае контакта.
3. Стоп-реагент (0.5 M) может быть опасным при проглатывании. Избегать контакта с кожей (S24-S37). При контакте с кожей возможна чувствительность (R22-R43).
4. Не оставлять субстратный раствор под действием прямого солнечного света и не допускать его окисления.
5. Все однодозовые материалы, используемые в работе, необходимо продезинфицировать в 5% растворе натрия гипохлорита за 1 час до начала работы или автоклавать при температуре  $+120^{\circ}\text{C}$ .
6. Дезинфицировать все реактивы перед утилизацией.

### Подготовка промывочного раствора

Доведите концентрат промывочного раствора (20X) до комнатной температуры перед разведением. При наличии кристаллов необходимо тщательно перемешать.

Для приготовления промывочного раствора (1X) необходимо развести концентрат промывочного раствора (20X) в соотношении 1:20 в дистиллированной/деионизированной воде.

### Процедура анализа

Для оптимальных результатов следует строго соблюдать протокол, разработанный производителем.

Все реактивы набора перед использованием должны иметь комнатную температуру ( $21 \pm 5^{\circ}\text{C}$  и перемешаны с помощью Вортекса.

1. В отдельный 96-луночный микропланшет для предварительного разведения внести разбавленные образцы в соотношении 1:40. В каждую лунку внести:
  - 195 мкл Буферного раствора 14
  - 5 мкл каждого испытуемого образца.
 Не разбавляйте Положительный и Отрицательный контроль.
2. В рабочий НЕРАЗБАВЛЕННЫЙ Отрицательного контроля в лунки A1 и B1, - 100 мкл НЕРАЗБАВЛЕННОГО Положительного контроля в лунки A1 и B1, - 100 мкл предварительно разбавленных образцов в оставшиеся лунки.
3. Инкубировать 30 мин  $\pm 3$  мин при температуре  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).
4. Опустошите лунки. Промыть микропланшет 5 раз Промывочным раствором, внося 300 мкл в каждую лунку. Избегать выходящая лужок между этапами промывки.
5. Подготовьте конъюгат (1X) разведением концентрата конъюгата (10X) в соотношении 1:10 в Буферном растворе 3
6. Добавьте 100 мкл конъюгата (1X) в каждую лунку.
7. Инкубировать 30 мин  $\pm 3$  мин при температуре  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).
8. Опустошите лунки. Промыть микропланшет 5 раз Промывочным раствором, внося 300 мкл в каждую лунку. Избегать выходящая лужок между этапами промывки.
9. Внести 100 мкл Субстратного раствора в каждую лунку.
10. Инкубировать 15 мин  $\pm 2$  мин при  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) в темноте.
11. Внести 100 мкл Стоп-реактента в каждую лунку для остановки реакции.
12. Измерить оптическую плотность (ОП) при 450 нм.

---

HANDBOOK

## BioExtract® SuperBall®

Cat. N° BES384 and BES384WO

**ALL SPECIES**


















**Extraction and Purification of Total Nucleic Acids by magnetic beads  
using devices equivalent to KingFisher™ Flex, 96, Duo, mL  
For pathogens detection from animal samples or environment:**

- **viral RNA/DNA**
- **bacterial DNA**
- **parasite DNA**
- **genomic RNA/DNA**

Veterinary use only



## SIMPLIFIED PROTOCOL

	KingFisher™ Flex or 96	KingFisher™ Duo	KingFisher™ mL	Element to add
1 <b>Plate or Strip Preparation</b>	Deep-well Lysate 	Row A 	Position A 	<b>Lysate :</b> 20 µl of Proteinase K 100-200 µl of pretreated sample* 500 µl LAB-SMB-carrier Lysis Solution ± exogenous IPC
	Deep-well Wash 1 	Row E 	Position B 	700 µl W1 Buffer
	Deep-well Wash 2 	Row F 	Position C 	700 µl W2 Buffer
	Deep-well Wash 3 	Row G 	Position D 	750 µl Ethanol (96-100%)
	Elution microplate 	Elution strip 	Position E 	50-200 µl EL Buffer *
	Rod cover microplate 	Row B   (Rows C, D and H are empty)	Rod cover placed manually	Rod Cover
2 <b>KingFisher™</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Switch on the KingFisher™ Flex, 96 Duo or mL.</li> <li>• Slide open the front door of the protective cover.</li> <li>• Select the corresponding BioExtract® SuperBall® program.</li> <li>• Press START and follow the messages to load the different slots of the worktable.</li> </ul>			

\*For sample volume and elution volume, please refer to the specific extraction handbook of each Bio-T kit\* or contact BioSella Technical Service (tech@biosella.com).

To get the KingFisher™ program corresponding to the KingFisher™ system you are using (Flex, 96, Duo or mL), please contact our technical support (tech@biosella.com).



## HANDBOOK

**Bio-T kit® PRRSV DIVA**

Cat. N° BIOTK077 - 50 reactions

Cat. N° BIOTK086 - 100 reactions

**Distinction between Suvaxyn® PRRS MLV vaccine strain (Suvaxyn® vaccine strain) and all other European strains (PRRSV EU other than Suvaxyn®) of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) by real-time RT-PCR (qRT-PCR) with Exogenous internal positive control (IPC)**

**SWINE****Sample types**

- Whole blood (on EDTA), serum
- Organs
- Oral Fluids
- Individual analysis or by pool up to 10 according to the matrix

**Recommended nucleic acids (NA) extractions**

- Magnetic beads extraction (e.g.: BioSella – BioExtract® SuperBall® Cat. N° BES384)
- Silica membrane columns extraction (e.g.: BioSella – BioExtract® Column Cat. N° BEC050 or BEC250)

*Veterinary use only*

## HANDBOOK

**Bio-T kit® PRRSV (Export Edition)**

Cat. N° BIOTK087 - 100 reactions

**Detection of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) and genotyping of European (EU) and North American (NA) strains by real-time RT-PCR (qRT-PCR) with exogenous internal positive control (IPC)****SWINE****Sample types**

- Whole blood (on EDTA), serum
- Oral Fluids
- Cell culture supernatant
- Organs
- Individual analysis or by pool up to 10 according to the matrix

**Recommended nucleic acids (NA) extractions**

- Magnetic beads extraction (e.g.: BioSella – BioExtract® SuperBall® Cat. N° BES384)
- Silica membrane columns extraction (e.g.: BioSella – BioExtract® Column Cat. N° BEC050 or BEC250)

*Veterinary use only*



# Сувакцин PRRS MLV\*



## ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Вакцина – лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций и разбавитель – раствор для разведения лиофилизата для приготовления суспензии для инъекций.

Сувакцин PRRS MLV предназначен для профилактической иммунизации свиней против репродуктивно-респираторного синдрома в свиноводческих хозяйствах с целью снижения вирусемии и выделения вируса с назальными истечениями, вызванных заражением PRRS (генотип 1) и вызывает формирование иммунного ответа к возбудителю РРСС свиней через 21 день после однократной вакцинации, продолжительностью не менее 26 недель.

## ФАСОВКА

50 доз (100 мл)

## ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

Вакцинации подлежат животные с первого дня жизни.

Вакцину вводят с соблюдением правил асептики и антисептики внутримышечно в область шеи в дозе 2 см<sup>3</sup>.

Поросят для откорма вакцинируют однократно.

Допускается массовая вакцинация в серопозитивных стадах, в которых была установлена распространенность европейского штамма вируса репродуктивно-респираторного синдрома.

Вакцинация серонегативных поросят в возрасте 1 день значительно уменьшает поражение легких при контрольном заражении через 26 недель после вакцинации.

Вакцинация клинически здоровых ремонтных свинок и свиноматок, как серопозитивных, так и серонегативных, перед осеменением позволяет снизить трансплацентарное заражение, вызываемое вирусом репродуктивно-респираторного синдрома в третьем периоде супоросности, и снизить связанное с ней негативное воздействие на репродуктивную способность. Снижается частота появления мертворожденных, поросят с вирусемией при рождении и отъеме, а также снижается вирусная нагрузка в легких и поражения в легких у поросят при отъеме.

## ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ

Следует избегать введения вакцинного вируса в регионах, в которых отсутствует вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Вакцинированные животные могут выделять вакцинный вирус более чем 16 недель после вакцинации. Вакцинный вирус может передаваться другим свиньям без проявления клинических признаков. Наиболее частым путем передачи является прямой контакт, однако нельзя исключать передачу через загрязненные объекты или по воздуху.

Следует принять особые меры предосторожности, чтобы избежать передачи вакцинного вируса на не контактировавших с вирусом животных (например, на не контактировавших с вирусом свиноматок во втором периоде супоросности).

Не контактировавших с вирусом ремонтных свинок и свиноматок следует вакцинировать до осеменения.

Рекомендуется вакцинировать всех подлежащих вакцинации свиней в стаде с самого раннего рекомендованного возраста.

\*Подробная информация указана в инструкции по ветеринарному применению лекарственного препарата Сувакцин PRRS MLV (Suvaxyn PRRS MLV).

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.

zoetis