

ISPITIVANJE PRISUSTVA KOLOSTRALNIH ANTITELA KOD PRASADI RAZLIČITOG UZRASTA POREKLOM OD KRMAČA VAKCINISANIH KINA SOJEM VIRUSA KLASIČNE KUGE SVINJA

Jasna Prodanov¹, Radoslav Došen¹, Dušan Orlić¹, Marko Maljković¹,
Miroslav Valčić², Tamaš Petrović¹, Radomir Ratajac¹

¹ Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Rumenački put 20, Novi Sad

² Fakultet Veterinarske medicine, Beograd

Kratak sadržaj

Zbog postojanja višeslojne placente, kod svinja ne postoji transfer maternalnih antitela u cirkulaciju fetusa, a pasivni imunitet se u potpunosti stiče unošenjem kolostruma posle prašenja. Sa aspekta proučavanja maternalnog imuniteta, ističe se problem dužine trajanja kolostralne zaštite prasadi poreklom od krmača višekratno vakcinisanih modifikovanim živim vakcinama (Kina soj). Cilj ispitivanja je bio ustanovljavanje prisustva maternalnih antitela protiv virusa klasične kuge svinja (KKS) kod prasadi različitog uzrasta poreklom od krmača koje su tokom perioda eksploatacije višekratno vakcinisane Kina sojem virusa KKS. Ispitivanja su obavljena na 35 prasadi različitog uzrasta poreklom od krmača višekratno vakcinisanih K-sojem virusa KKS primenom imunoenzimske tehnike (ELISA test). Na osnovu rezultata seroloških ispitivanja, proizilazi zaključak da u farmskim uslovima postoji određen broj prasadi koja nisu posisala dovoljnu količinu kolostruma u ranom periodu posle prašenja ili se problem može analizirati sa aspekta vremena poluživota maternalnih antitela protiv KKS. Svakako da bi u sklopu budućih istraživanja trebalo uključiti i laboratorijske metode koje bi nam omogućile precizniju kontrolu promena vrednosti titra antitela protiv virusa KKS, kako kod krmača tako i kod prasadi različitog uzrasta u cilju sagledavanja dinamike perzistencije specifičnih antitela protiv virusa KKS u vakcinisanoj populaciji svinja.

Ključne reči: klasična kuga svinja, Kina soj, kolostralna antitela, pasivni imunitet

EVALUATION OF THE PRESENCE OF COLOSTRAL ANTIBODIES IN PIGLETS OF DIFFERENT AGE ORIGINATING FROM SOWS VACCINATED WITH CHINA CLASSICAL SWINE FEVER VIRUS

Jasna Prodanov¹, Radoslav Došen¹, Dušan Orlić¹, Marko Maljković¹,
Miroslav Valčić², Tamaš Petrović¹, Radomir Ratajac¹

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Rumenački put 20, Novi Sad

²Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade

Abstract

Since the placenta is multilayered, there is no transfer of maternal antibodies into the pig fetal circulation, so passive immunity is completely acquired by post-farrowing colostrum intake. When speaking about investigation of maternal immunity, the problem of lasting colostrum protection of piglets deriving from sows that were repeatedly vaccinated with modified live vaccine (China strain - C strain) is stressed. The objective of this investigation was to detect the presence of maternal antibodies against classical swine fever virus (CSFV) in piglets of different age deriving from sows that were repeatedly vaccinated with China strain CSFV. The examination was carried out on 35 piglets of different age deriving from sows that were repeatedly vaccinated with C-virus strain of CSF by applying immunoenzyme method (ELISA test). On the bases of obtained serological results, it may be concluded that in farm conditions there was a certain number of piglets that did not suck sufficient quantity of colostrum in early post-farrowing period and the problem may be analyzed from the aspect of half-life time of maternal antibodies against CSF. Certainly, future research should include laboratory methods that can provide more precise control of changed values of antibody titre against CSFV, both in sows and in piglets of different age with the aim to view the dynamics of persistence specific antibodies against CSFV in vaccinated pig population.

Key words: classical swine fever, China strain, colostrum antibodies, passive immunity

UVOD

Zbog postojanja višeslojne placente (*placenta epitheliochorialis*), kod svinja ne postoji transfer maternalnih antitela u cirkulaciju fetusa, tako da se pasivni imunitet stiče u potpunosti unošenjem kolostruma posle prašenja (Pescovitz, 1998). Smatra se da kolostralna zaštita prasadi primarno zavisi od vrednosti titra antitela u organizmu krmače-majke i količine kolostruma koje posisa novorođeno prase (Müller i sar., 2005). U svinjarskoj proizvodnji, problem pasivnog imuniteta je posebno značajan sa aspekta kvaliteta i dužine kolostralne zaštite od infekcije prasadi virusom klasične kuge svinja (KKS) (Suradhat i sar., 2003; Suradhat i sar., 2007). Smatra se da maternalna antitela iz kolostruma obezbeđuju pasivnu zaštitu od pojave KKS, pri čemu se zaštita umanjuje kako titar maternalnih antitela opada, a prasad postaje starija (Soós i sar., 2001; Vandeputte i sar., 2001). Rezultati eksperimentalnih istraživanja ukazuju na postojanje velikih individualnih razlika u vrednosti titra specifičnih antitela u leglima prasadi i među krmačama (Soós i sar., 2001; van Oirschot, 2003). Isto tako, i rezultati terenskih istraživanja ukazuju da nivo specifičnih maternalnih antitela protiv virusa KKS kod prasadi značajno varira od farme do farme, zbog različitog imunološkog statusa krmača, što stvara poteškoće u formulisanoj određenog programa vakcinacije prasadi (Damrongwatanapokin i sar., 2006; Suradhat i sar., 2003; Suradhat i sar., 2007). Kao poseban problem ističe se i pitanje dužine trajanja kolostralne zaštite od infekcije virusom KKS kod prasadi koja potiču od krmača višekratno vakcinisanih modifikovanim (atenuisanim) živim vakcinama (Lai i sar., 1989; Precaustra i sar., 1983; Prodanov i sar., 2007).

Cilj ispitivanja je bio da se ustanovi prisustvo maternalnih antitela protiv virusa KKS kod prasadi različitog uzrasta poreklom od krmača koje su tokom perioda eksploatacije višekratno vakcinisane modifikovanom (atenuisanim) živom vakcinom koja sadrži Kina (K) soj virusa KKS.

MATERIJAL I METODE RADA

Ispitivanja su obavljena na 35 prasadi različitog uzrasta poreklom od krmača višekratno vakcinisanih K-sojem virusa KKS. Prasad su prema uzrastu podeljena u pet grupa: uzrast 15, 21, 28, 37 i 47 dana, a svaku grupu je činilo po 7 jedinki. Kriterijumi koji je postavljen za sve jedinice u ogledu je podrazumevao da prasad u okviru svake grupe moraju biti iz 7 različitih legala i da su poreklom od krmača koje se tokom eksploatacije vakcinišu K-sojem virusa KKS 10-15 dana pre svakog zalučenja. Od svakog praseta punkcijom brahiocefaličnog pleksusa vršeno je uzorkovanje krvi radi utvrđivanja prisustva specifičnih antitela protiv virusa KKS i virusa bovine virusne dijareje (BVDV). Utvrđivanje specifičnih antitela protiv virusa KKS vršeno je komercijalnim ELISA set kitom (Herd Chek CSFV Ab-ELISA test, IDEXX Laboratories). Metodom virus neutralizacije (VN) vršeno je utvrđivanje prisustva specifičnih antitela protiv BVDV s obzirom da infekcije ovim virusom mogu interferirati u kliničkoj i laboratorijskoj dijagnostici KKS (Dahle i sar., 1992). Metoda je izvedena upotrebom mikrotitar ploča sa ravnim dnom („NUNC”-proizvođač), MDBK ćelija i

100 TCID₅₀ NADL soj BVDV (National Veterinary Servis Laboratories, Ames, USA).

REZULTATI I DISKUSIJA

Utvrđeni rezultati ispitivanja maternalnih antitela protiv virusa KKS prasadi su prikazani u tabeli 1. Specifična antitela protiv BVDV nisu utvrđena ni u jednom uzorku.

Tabela 1. Rezultati pregleda krvnih seruma prasadi različitog uzrasta na prisustvo specifičnih antitela maternalnog porekla protiv virusa KKS

Uzrast prasadi u danima				
15	21	28	37	47
+	+	-	-	-
+	-	+	-	+
+	+	+	±	+
+	±	±	-	-
+	+	-	+	+
+	±	±	±	-
+	+	+	+	-

(+) pozitivan nalaz ; (±) sumnjiv nalaz; (-) negativan nalaz

Pregledom krvnih seruma prasadi uzrasta od 15 dana, prisustvo kolostralnih antitela je ustanovljeno u svim ispitanim uzorcima. Ovaj nalaz je u saglasnosti sa podatkom da poluživot maternalnih antitela protiv KKS varira od 6 do 17 dana, zavisno od primenjenog programa vakcinacije krmača (Precaustra i sar., 1983; Terpstra i sar., 1987; Vandeputte i sar., 2001). Nalaz kod prasadi uzrasta 21 i 28 dana se razlikuje u odnosu na prethodnu grupu, pri čemu je prisustvo kolostralnih antitela sa sigurnošću ustanovljeno kod 4, odnosno 3 jedinke. Slični rezultati karakterišu i grupu prasadi uzrasta od 47 dana, dok je u grupi prasadi uzrasta 37 dana ustanovljen najmanji broj seropozitivnih prasadi, odnosno kod svega 2 praseta.

U našoj zemlji, Pravilnikom o utvrđivanju programa mera zdravstvene zaštite životinja definisano je da se prva vakcinacija prasadi obavlja u starosti od 45 do 60 dana, sa revakcinacijom; vakcinacija nazimica i krmača najkasnije 15 dana pre svakog pripusta i vakcinacija nerastova dva puta godišnje u intervalu od šest meseci. Vakcinacija svih kategorija svinja se obavlja atenuisanom (živom) vakcinom koja sadrži Kina (K) soj virusa KKS. Analizom podataka na farmi o vakcinaciji krmača od kojih potiče prasad uzrasta 21 i 28 dana, ustanovljeno je da je svaka od krmača u dosadašnjem periodu eksploatacije vakcinisana protiv KKS u proseku 8 puta, a najmanje 5 puta. Isto tako, za grupu prasadi uzrasta 37 i 47 dana ustanovljeno je da je svaka od krmača vakcinisana protiv KKS u proseku 7 puta, a najmanje 4 puta. Jedino su prasad uzrasta 15 dana bila poreklom od prvopraskinja koje su vakcinisane protiv

KKS dvokratno u uzrastu praseta (45. i 90. dana života) i jednom kao nazimica, pre pripusta.

Mali je broj eksperimentalnih i terenskih rezultata novijeg datuma koji se odnose na proučavanje perzistencije maternalnih antitela kod prasadi poreklom od krmača koje se višekratno vakcinišu K-sojem virusa KKS jer su u većini zemalja Evropske unije (EU) u sklopu kontrole i eradikacije KKS prestali sa primenom modifikovanih živih vakcina (Vandeputte i sar., 2001; van Oirschot, 2003). U okviru eksperimentalnih istraživanja Coggins i sar. (1964) su kod prasadi 24 časa nakon sisanja kolostruma ustanovili maternalna antitela u vrednostima koje su bile približne vrednostima u serumu krmača. Kada su prasad bila uzrasta od 14 dana, zabeležen je pad vrednosti titra kolostralnih antitela za 65%, a u uzrastu od 28 dana, ove vrednosti su opale za 85%. Titar kolostralnih antitela je kod prasadi dnevno opadao za 5% i bio je relativno konstantan unutar jednog legla, ali se značajno razlikovao među različitim leglima. Smatra se da nivo kolostralnih antitela kod prasadi opada sa uzrastom, pri čemu se njihove početne vrednosti razlikuju zavisno od titra specifičnih antitela u serumu krmača (Damrongwatanapokin i sar., 2006; van Oirschot, 2003). Prvih 60 mililitara kolostruma koje posisa prase nakon rođenja, je odlučujuće za količinu resorbovanih kolostralnih antitela i smatra se da je unošenje kolostruma u prvih 3-6 časova po rođenju od najvećeg značaja (Pescovitz, 1998). Međutim, treba uzeti u obzir i činjenicu i da prase, koje se zadnje oprasi, u velikom leglu neće uspeti da posisa istu količinu kolostruma kao prase koje je prvo rođeno (Lai i sar., 1989). Isto tako je ustanovljeno da koncentracija imunoglobulina (Ig) u serumu prasadi nakon ingestije kolostruma direktno zavisi od proteklog vremenskog perioda između vakcinacije i prašenja krmače: ukoliko se krmače vakcinišu pre prašenja, više od 5 meseci, kolostralna antitela imaju polужivot karakterističan za klasu IgG, odnosno 10-14 dana. Nasuprot tome, ukoliko se vakcinacija krmača obavi u kratkom periodu pre prašenja (npr. 55 dana), maternalna antitela kod prasadi pokazuju polужivot karakterističan za IgM klasu, odnosno 5 dana (Corthier i sar., 1978). Ispitivanjem dužine trajanja zaštitnog nivoa maternalnih antitela, eksperimentalno je ustanovljeno da su prasad poreklom od krmača vakcinisanih K-sojem virusa KKS samo delimično zaštićena od infekcije virulentnim virusom, uprkos činjenici da kolostralna antitela još uvek perzistiraju (Prodanov i sar., 2007; Terpstra i sar., 1987).

Kada se razmatra pitanje primene atenuisanih (živih) vakcina protiv KKS, treba istaći činjenicu i da maternalni imunitet prasadi drastično interferira sa indukovanjem aktivnog imuniteta nakon vakcinacije (Damrongwatanapokin i sar., 2006; Suradhat et al., 2003; Suradhat et al., 2007). Antitela maternalnog porekla značajno suprimiraju imunološki odgovor nakon vakcinacije prasadi: što je viši titar maternalnih antitela pri vakcinaciji, to je snažnija inhibicija razvoja aktivnog imuniteta (Suradhat i sar., 2007; van Oirschot, 2003). Stoga je i prevazilaženje problema interferencije maternalnog imuniteta sa aktivnom imunizacijom jedan od najvećih izazova za epizootiologe (van Oirschot, 2003; Vandeputte et al., 2001).

U okviru terenskih istraživanja tokom suzbijanja KKS u Holandiji 80-tih godina prošlog veka, Terpstra i Wensvoort (1987) su ustanovili da kod određenog broja krmača sa višim početnim titrom antitela protiv KKS dolazi do opadanja vrednosti istih nakon obavljene revakcinacije. Najveći broj krmača koje su bile jednokratno vakcinisane, posle 1-3 godine kada je izvršena aplikacija druge vakcine, nije odgovorila porastom titra specifičnih antitela. U slučaju kada su krmače jednom vakcinisane, nakon 6 godina nisu imale, ili su imale veoma nizak titar specifičnih antitela. Ukoliko se želi postići doživotna zaštita, s obzirom na ustanovljene razlike u serološkom odgovoru nakon jednokratne vakcinacije K-sojem, potrebno je ponoviti vakcinaciju krmača na terenu (Suradhat i sar., 2003). Smatra se da ukoliko se vakcinacija krmača obavi 6 meseci pre gestacije (10 meseci pre prašenja), maternalna antitela štite prasad do 7 nedelje, u nekim slučajevima čak i do 10 nedelje života (Precaustra i sar., 1983; Vandeputte i sar., 2001). Ovim se svakako još jednom ističe značaj sprovođenja vakcinacije krmača, koje treba da bude pre koncepcije, u cilju obezbeđenja kvalitetne kolostralne zaštite prasadi.

ZAKLJUČAK

Imajući u vidu postignute rezultate istraživanja drugih autora koji su proučavali ovu problematiku, proističe zaključak da je za kolostralni imunitet prasadi poreklom od vakcinisanih krmača značajniji vremenski interval između vakcinacije i prašenja, nego učestalost vakcinacija svake pojedinačne krmače. Postignuti rezultati u okviru našeg istraživanja svakako otvaraju brojna pitanja sa aspekta kvaliteta kolostralne zaštite prasadi u uslovima kada je KKS endemično prisutna. Na osnovu rezultata seroloških ispitivanja, proizilazi zaključak da u farmskim uslovima postoji određen broj prasadi koja nisu posisala dovoljnu količinu kolostruma u ranom periodu posle prašenja ili se problem može analizirati sa aspekta vremena poluživota maternalnih antitela protiv KKS. Svakako da bi u sklopu budućih istraživanja trebalo uključiti i laboratorijske metode koje bi omogućile utvrđivanje promene u vrednosti titra antitela protiv virusa KKS kod krmača neposredno pre, kao i posle prašenja ali i kod prasadi različitog uzrasta sa ciljem sagledavanja dinamike perzistencije specifičnih antitela protiv virusa KKS u vakcinisanoj populaciji svinja.

Istraživanja su finansirana od strane Ministarstva nauke Republike Srbije, u okviru projekta br. 20117.

LITERATURA

1. Coggins L.: Study of Hog Cholera Colostral Antibody and Its Effect on Active Hog Cholera Immunization. *Am. J. Vet. Res.*, 25, 613–617, 1964.
2. Corthier G. and Charley B.: Influence of colostral antibodies on pig immunization against hog cholera virus. *Ann. Rech. Vét.*, 9, 245–253, 1978.
3. Dahle J. and Liess B.: A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 15, 3, 203–211, 1992.

4. Damrongwatanapokin S., Pinyochon W., Parchariyanon S., Patchimasiri T., Molee L., Udomphanth S., Damrongwatanapokin T.: Efficacy of classical swine fever E2 subunit vaccine in vaccinated maternal-derived antibody positive pigs. In: Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, 2, 2006, 119.
5. Lai S.S., Lai L. Y. and Ho W. C: Changes of antibody levels in sows influenced by pregnancy. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 15, 327-333, 1989.
6. Müller T., Teuffert J., Staubach C., Selhorst T., Depner K.R.: Long-Term Studies on Maternal Immunity for Aujeszky's Disease and Classical Swine Fever in Wild Boar Piglets. *J. Vet. Med. B* 52, 432-436, 2005.
7. Pescovitz, M. D.: Immunology of the Pig. In: Pastoret P.-P., Griebel P., Bazin H., Govaerts A. (Eds.), *Handbook of Vertebrate Immunology*. San Diego: Academic Press, 1998, 373-420.
8. Precaustra P., Kato F. and Brun A.: Swine fever. Immunisation of piglets. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.* 6, (4), 281-289, 1983.
9. Prodanov J., Došen R., Pušić I., Bugarski D., Valčić M.: Passive immunity evaluation in piglets originating from sows vaccinated with china strain of classical swine fever virus. *Acta Veterinaria*, 57, 5/6, 413-427, 2007.
10. Soós P., Schubert H. J., Depner K. R.: Evaluation of vaccine-induced maternal immunity against classical swine fever. *Acta Veterinaria Hungarica* 49, 1, 17 - 24, 2001.
11. Suradhat S., Damrongwatanapokin S.: The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2. infection. *Vet Microbiol*, 92, 187 - 194, 2003.
12. Suradhat S., Damrongwatanapokin S., Thanawongnuwech R.: Factors critical for successful vaccination against classical swine fever in endemic areas. *Vet Microbiol* 119, 1-9, 2007.
13. Terpstra C. and Wensvoort G.: Influence of the vaccination regime on the herd immune response for swine fever. *Vet. Microbiol*, 13, 143-151, 1987.
14. Vandeputte J., Too H. L., Fook K. N., Chen C., Chai K. K., Liao G. A.: Adsorption of colostral antibodies against classical swine fever, persistence of maternal antibodies, and effect on response to vaccination in baby pigs. *AJVR*, 62, 11, 1805 - 1811, 2001.
15. van Oirschot J.T.: Vaccinology of classical swine fever: from lab to field. *Vet Microbiol*, 96, 367-384, 2003.

Primljeno: 15.06.2009.

Odobreno: 28.06.2009.