

Original researches

Features of Humoral Immunity Formation Under Oral and Parenteral Immunoprophylaxis of Porcine Epidemic Diarrhea

Received: 01 June 2018
Revised: 11 June 2018
Accepted: 14 June 2018

D. M. Masiuk, A. V. Kokariiev, O. I. Sosnytsky, T. O. Vasilenko, Y. V. Hustova
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Dnipro State Agrarian and Economic University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro, 49600, Ukraine

Tel.: +38-056-236-17-14
E-mail: masiuk.d.m@dsau.dp.ua

Cite this article: Masiuk, D. M., Kokariiev, A. V., Sosnytsky, O. I., Vasilenko, T. O., & Hustova, Y. V. (2018). Features of humoral immunity formation under oral and parenteral immunoprophylaxis of porcine epidemic diarrhea. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 18–22. doi: 10.32819/2018.63004

Abstract. The research was carried out on the basis of the Scientific Research Center of Biosafety and Environmental Control AIC of the Dnipro State Agrarian and Economic University. The experimental and control groups of second and third farrow sows with 10 heads in each group were formed. Sows of the control group were immunized 21 days before farrowing by individual oral feeding of a virus-containing homogenate tissue of 50 g per animal, which was produced from intestines of suckling piglets who died with clinical manifestations of diarrhea syndrome. Sows of the experimental group were immunized with parenteral injection of an autogenous live vaccine against porcine epidemic diarrhea twice, at 90 and 100 days of fertility at a dose of 2 cm³. Injections were performed intramuscularly in the area behind the ear. Blood samples were taken on 1, 7 and 14 days after farrowing and on 1, 7 and 14 days of life in pigs for the specific IgG analysis. It has been established that parenteral immunization of sows against porcine epidemic diarrhea provides induction of specific IgG and reduces the risk of newborn piglets' infection in the first days of life. The obtained results show that oral immunization of sows against EDF contributes to seroconversion in 40% of animals of specific IgG in the titre of 1: 200, and for double parenteral immunization, specific IgGs are registered in the diagnostic titer in 70% of sows. Also, an increase in the antibody level in sows of the experimental group was detected by almost 40% in the first 14 days after farrowing against the background of an increase in homogeneity of the S/P index by 14.4% relative to the values in sows after oral immunization. It has been shown that parenteral vaccination of sows contributes to the formation of a specific colostral IgG immunity in 100% of piglets, which is preserved during the first 14 days of life in more than 60% of the animals. Oral immunization of farrowing sows provides the formation of specific IgG immune protection in 60% of animals, which is preserved during the first 14 days of life in only 20% of pigs.

Keywords: immunization, IgG, PED, sows, neonatal piglets.

Особливості формування гуморального імунітету за пероральної та парентеральної імунопрофілактики епідемічної діареї свиней

Д. М. Масюк, А. В. Кокареєв, О. І. Сосницький, Т. О. Василенко, Ю. В. Густова
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Дослідження проведені на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Для дослідження було сформовано дослідну та контрольну групи свиноматок другого – третього опоросу по 10 голів. Кожну свиноматку контрольної групи імунізували за 21 добу до опоросу шляхом індивідуального перорального згодовування 50 г вірусомісного тканинного гомогенату, який виготовляли з кишечників підсисних поросят, що загинули з клінічними проявами діарейного синдрому. Свиноматкам дослідної групи вводили шляхом парентеральної ін'єкції аутогенну живу вакцину проти епідемічної діареї свиней двічі, на 90 та 100 добу поросності, у дозі 2 см³. Ін'єкції виконували внутрішньом'язово в ділянку позаду вуха. Для дослідження специфічних IgG у свиноматок після опоросу та народжених від них поросят відбирали проби крові на 1, 7 і 14 добу. Встановлено, що парентеральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней забезпечує індукцію в них антигенспецифічного IgG та сприяє зменшенню ризику інфікування новонароджених поросят у перші доби життя. Пероральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней сприяє сероконверсії у 40% тварин специфічних IgG в титрі 1:200, а за дворазової парентеральної імунізації специфічні IgG рееструються в діагностичному титрі в 70% свиноматок. За пероральної імунізації свиноматок проти епідемічної діареї свиней у 60% поросят добового віку виявлено специфічні IgG в титрі 1:200, які зберігалися протягом 14 діб життя лише у 20% тварин. За парентеральної імунізації свиноматок у 100% поросят добового віку містилися специфічні IgG, які зберігалися в діагностичному титрі 14 діб у 67% тварин.

Ключові слова: імунізація, специфічний IgG, епідемічна діарея свиней, свиноматки, неонатальні поросята.

Вступ

В останні роки, у зв'язку з активним розвитком свиначства, великого значення набувають захворювання, які раніше не реєструвалися на території нашої держави. Однією з таких інфекцій є епідемічна діарея свиней (ЕДС), яка індукується РНК-геномним вірусом з роду *Alphacoronavirus* сімейства *Coronaviridae* (Hanke et al., 2017; Jang et al., 2018). Уперше на території України ЕДС була зареєстрована J. Carr у 2014 році (Dastjerdi et al., 2015). Результати епізоотологічного моніторингу 2016–2017 р. указують на значне поширення ЕДС серед свиней сільськогосподарських підприємств в Україні (Masiuk et al., 2017a).

До вірусу ЕДС сприйнятливі свині всіх вікових груп, але найбільш чутливими і вразливими є поросята перших 10 днів життя (Jung et al., 2015). Ураження свиней вірусом ЕДС супроводжується розвитком водянистої діареї та дегідратацією їх організму, що спричиняє загибель тварин, особливо в підсисний період. За повідомленнями Т. Appamalai зі співавторами (2015), інфікування збудником ЕДС поросят у перші 9 днів життя може викликати стовідсоткову смертність тварин протягом 2–4 днів, що завдає господарствам значних економічних збитків. Зараження поросят віком понад 10 днів від народження знижує рівень летальності до 50%, а за індукції ЕДС у групах тварин, які старше трижневого віку, летальність не перевищує 5–6% (Hanke et al., 2017). З огляду на викладене, у неблагополучних з ЕДС господарствах нагальним стає проведення лікувально-профілактичних заходів, які спрямовані на попередження інфікування молодяку свиней у перші доби життя.

Одним з основних заходів попередження виникнення та поширення інфекційних хвороб тварин є активна імунопрофілактика (Kravtsov & Maslianko, 2008). Імунізація поросних свиноматок забезпечує формування в новонароджених поросят колострального імунітету, специфічного до ЕДС, що попереджує інфікування молодяку свиней у перші тижні життя, а відповідно й сприяє зниженню економічних збитків (Bjuström-Kraft et al., 2016). Натепер свиначські господарства України найчастіше використовують методи активної імунопрофілактики ЕДС з-поміж яких є пероральна та парентеральна імунізація свиноматок (Masiuk et al., 2017b). Кожен з цих методів має ряд недоліків, які пов'язані зі способом застосування, із впливом на організм тощо. У зв'язку з цим метою наших досліджень було з'ясувати особливості формування гуморального імунітету за пероральної та парентеральної імунопрофілактики епідемічної діареї свиней.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету відповідно до наукової теми «Визначення теоретичних аспектів епізоотичного процесу з урахуванням генетичних варіантів штамів вірусу епідемічної діареї свиней» (державний реєстраційний № 0117U004293).

Експериментальну частину проведено в одному зі свиначських підприємств західного регіону України, яке є стаціонарно неблагополучним з ЕДС. Загальна чисельність поголів'я на підприємстві становить понад 20 000 свиней. Щотижня на свиноматках народжується понад 2 800 поросят.

Для дослідження було сформовано дослідну та контрольну групи свиноматок другого – третього опоросу, по 10 голів. Кожну свиноматку контрольної групи імунізували за 21 добу до опоросу шляхом індивідуального перорального згодовування 50 г вірусомісного тканинного гомогенату, який виготовляли з кишечників підсисних поросят, що загинули з клінічними проявами діарейного синдрому. Свиноматкам дослідної групи вводили шляхом парентеральної ін'єкції аутогенну живу вакцину проти епідемічної діареї свиней двічі, на 90 та 100 добу поросності, у дозі 2 см³. Ін'єкції виконували внутрішньом'язово в ділянку позаду вуха.

Для дослідження специфічних IgG у свиноматок після опоросу та народжених від них поросят відбирали проби крові на 1, 7 і 14 добу їх життя. Дослідження рівня специфічного IgG у сироватці крові від свиноматок та поросят проводили методом ELISA з використанням аналізатора-фотометра EL×800 («BioTek», США) та тест-системи «Swinecheck® PED» («Biovet», Канада). Згідно з настановою до тест-системи сироватки досліджували в діагностичному титрі 1:200. Проби вважали позитивними за ЕДС, якщо значення їх показника S/P було понад 40%.

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

Результати

У результаті проведеного дослідження з'ясовано особливості формування специфічного імунітету у свиноматок та народжених від них поросят за активної імунопрофілактики епідемічної діареї шляхом пероральної імунізації вірусомісного тканинного гомогенату та парентеральної вакцинації живою аутогенною вакциною.

За пероральної імунізації свиноматок у першу добу після опоросу серопозитивними були лише 40% тварин, тоді як за дворазової внутрішньом'язової ін'єкції живою вакциною кількість свиноматок, у сироватці крові яких виявлено специфічні IgG, становила 70% (табл. 1).

Рівень специфічного IgG у сироватці крові тварин дослідної групи зареєстровано вищим на 43,8%, а коефіцієнт варіації (CV) – на 11,4% нижчим відносно значень у тварин контрольної групи.

На 7 добу після опоросу кількість серопозитивних свиноматок у контрольній групі становила 20%, а в дослідній – 50%. Рівень S/P у тварин контрольної групи зменшився на 47,8%, а у

Таблиця 1. Рівень специфічного IgG у сироватці крові свиноматок за активної імунопрофілактики ЕДС ($\bar{x} \pm SE$; n = 10)

Час після опоросу, доба	Контрольна група			Дослідна група		
	кількість серопозитивних, тварин	S/P, %	CV, %	кількість серопозитивних, тварин	S/P, %	CV, %
1	4	69,02 ± 13,51	44	7	99,25 ± 17,53	39
7	2	36,11 ± 6,94	52	5	48,78 ± 11,35	43
14	1	22,57 ± 6,01	60	3	30,40 ± 9,69	71

свиноматок дослідної групи – на 50,9%, тоді як показник CV у тварин контрольної групи збільшився на 18,2%, а у свиней дослідної групи – на 10,3% відносно значень, отриманих у першу добу після опоросу. Відзначимо, що рівень S/P у тварин дослідної групи перевищує значення у тварин контрольної групи на 35,1%, а показник CV зафіксовано меншим на 17,3%.

На 14 добу після опоросу виявлено лише 10% серопозитивних свиноматок контрольної групи та 30% – дослідної групи. Значення показника S/P у цей час, як у тварин дослідної, так і у тварин контрольної груп були найменшими за період дослідження, а показник CV, навпаки, найвищим за всі 14 днів після опоросу. Підкреслимо, що тенденція до збільшення показника S/P у свиноматок дослідної групи зберігалася, і становила 34,7% відносно значень у тварин контрольної групи.

Отже, пероральна імунізація свиноматок вірусомісним тканинним гомогенатом сприяє сероконверсії в титрі 1:200 сироваткових імуноглобулінів класу G у 40% тварин, а дворазова внутрішньом'язова вакцинація свиноматок живою вакциною забезпечує синтез специфічних IgG у 70% тварин та підвищення рівня антитіл у перші 14 днів після опоросу майже на 40% на тлі підвищення рівня гомогенності показника S/P на 14,4% відносно значень у свиноматок після пероральної імунізації.

Дослідження IgG специфічних до вірусу ЕДС у сироватці крові неонатальних поросят указує на формування колострального імунітету у 60% поросят контрольної групи та стовідсоткове в поросят дослідної групи в першу добу життя (табл. 2).

На 7 добу життя кількість серопозитивних поросят у контрольній групі становила на 11,2% менше за значення 1-ої доби. Серед поросят дослідної групи кількість серопозитивних тварин на 7 добу життя зменшилася на 6,7% порівняно зі значенням 1-ої доби життя (93,3%).

На кінець другого тижня життя специфічні IgG у сироватці крові виявлено у 20% поросят контрольної групи та у 66,7% тварин дослідної групи, що в 3,3 рази більше за значення контрольної групи.

Отже, парентеральна вакцинація свиноматок сприяє формуванню специфічного колострального імунітету в 100% поросят, який зберігається протягом перших 14 днів життя більш ніж у 60% тварин. Пероральна імунізація поросних свиноматок забезпечує формування специфічного імунного захисту у 60% тварин, який перші 14 днів життя зберігається лише у 20% поросят.

Порівняння вмісту антитіл за показником S/P свідчить про те, що в поросят дослідної групи в 1-шу добу життя рівень специфічних імуноглобулінів реєструється вірогідно вищим на 35,0% ($P < 0,01$), а показник варіабельності меншим на 58,9% відносно тварин контрольної групи.

На 7 добу життя у крові поросят дослідної та контрольної груп виявлено зниження рівня специфічних IgG, що означає зниження показника S/P у середньому на 24,8%, ніж у свиней 1-ої доби життя. Рівень специфічних антитіл у крові поросят дослідної групи є вірогідно вищим (на 36,1%; $P < 0,01$), а показник CV нижчим (на 55,0%) порівняно з показниками у тварин дослідної групи.

Вірогідність різниці між рівнем імуноглобулінів зберігалася до 14-добового віку. У цей час показник S/P у тварин дослідної групи був вищим на 57,6% ($P < 0,05$) відносно тварин контрольної групи. Зберігалася тенденція й до зниження значення варіабельності рівня антитіл, яке є нижчим у тварин дослідної групи на 30,0%, ніж у свиней контрольної групи.

Дані переконують, що активна імунізація проти ЕДС свиноматок перед опоросом шляхом дворазової внутрішньом'язової ін'єкції живої вакцини сприяє формуванню в поросят більш високого та гомогенного рівня колостральних специфічних IgG і посилює його тривалість порівняно з пероральною імунізацією свиноматок.

Обговорення

Роботу проведено для визначення імунної відповіді свиноматок та рівня антиген специфічного IgG у неонатальних поросят за активної імунопрофілактики епідемічної діареї методами пероральної та парентеральної імунізації поросних свиноматок. У науковій літературі є повідомлення про те, що вірус епідемічної діареї свиней індукує кишкову інфекцією (Lin et al., 2016; Hanke et al., 2017; Masiuk et al., 2018). Найбільш тяжко інфекція проявляється в новонароджених поросят (Annamalai et al., 2015). Зважаючи на це, стратегія специфічної імунопрофілактики повинна бути зосереджена на індукції імунітету слизової оболонки в новонароджених поросят для захисту цільових кишкових ентероцитів. Імунітет, індукований у поросної свиноматки і пасивно перенесений до молочних поросят через молозиво і молоко (колостральний імунітет), має вирішальне значення для захисту новонароджених поросят від ЕДС (Vjstrom-Kraft et al., 2016).

Нашими дослідженнями встановлено, що за пероральної імунопрофілактики ЕДС свиноматок на 90 добу поросності специфічні IgG у титрі 1:200 виявлено в 40% імунізованих тварин на 1-шу добу після опоросу зі середнім рівнем S/P ($69,02 \pm 13,51$). Висока варіабельність рівня антитіл серед тварин контрольної групи вказує на низький рівень імунної відповіді їх організму в цілому. Надалі виявлено різке зменшення рівня антитіл у сироватці крові тварин контрольної групи. Отримані дані узгоджуються з результатами інших дослідників, які підтверджують швидке зникнення з периферичної крові специфічних IgG (Scherba et al., 2016; Poonsuk et al., 2016).

За внутрішньом'язової вакцинації на 90 та 100-ту добу поросності виявлено збільшення кількості серопозитивних тварин на 75% та підвищення рівня антитіл на 35,1% станом на 1-шу добу після опоросу, що сприяло зниженню показника варіабельності на 11,4%. Scherba G. зі співавторами (2016) такі результати пов'язують із більш вираженою дією парентеральної імунізації свиноматок на формування гуморальної імунної відповіді їх організму в цілому.

Результати наших досліджень указують на те, що парентеральна імунізація сприяє індукції специфічної імунної відповіді у свиноматок, яка супроводжується сероконверсією більш високого рівня специфічного IgG, ніж за пероральної імунізації.

Таблиця 2. Рівень специфічного IgG у сироватці крові підсисних поросят за активної імунопрофілактики ЕДС у свиноматок ($x \pm SE$; $n = 15$)

Вік поросят, доба	Контрольна група			Дослідна група		
	кількість серопозитивних тварин	S/P, %	CV, %	кількість серопозитивних тварин	S/P, %	CV, %
1	9	74,27 ± 7,40	39	15	100,27 ± 4,30**	16
7	8	55,67 ± 5,70	40	14	75,74 ± 3,44**	18
14	3	31,95 ± 5,81	70	10	50,35 ± 6,32*	49

Примітка: різниця вірогідна за значення * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ відносно показників контрольної групи.

ції, та пролонгованим часом їх циркуляції у кров'яному руслі тварин. Відомо, що зі загальної кількості імуноглобулінів у сироватці крові свиней понад 70% припадає на білки класу G (Setcavage & Kim, 1976). Останні шляхом селективного транспорту надходять з крові безпосередньо до молозива, де, завдяки своїм опсонізуючим властивостям, кон'югують антигени, що сприяє посиленню їх фагоцитозу та елімінації з організму (Опорієнко, 2011). З огляду на такі процеси, наголосимо, що підвищення рівня циркулюючих у крові свиноматок дослідної групи специфічних IgG підвищує їх рівень у молозиві.

Після споживання перших порцій молозива в новонароджених поросят формується колостральний імунітет (Kokarev & Masiuk, 2014) як на слизових оболонках за рахунок SIgA, так і в організмі в цілому за рахунок специфічних IgG, що посилює рівень імунного захисту поросят (Ogawa et al., 2016). Тому виявлене в результаті дослідження підвищення рівня IgG, специфічного до вірусу ЕДС, у крові свиноматок сприятиме формуванню в новонароджених більш високого рівня імунного захисту, який перешкоджатиме реплікації вірусу в клітинах епітелію кишечника поросят.

Отримані результати дослідження сироваток крові від поросят, народжених свиноматками дослідної та контрольної груп, узгоджуються з наведеною інформацією і вказують на більш ефективне формування гуморального імунітету за специфічним IgG у поросят дослідної групи відносно контролю. Зауважимо, що серед поросят, народжених від свиноматок після пероральної імунізації, 40% тварин належать до серонегативних. Дослідження Gerber & Opriessnig (2015) указують на відсутність кореляції між рівнем специфічних сироваткового IgG та секреторного SIgA в молозиві свиноматок (Clement et al., 2016). Проте відзначимо, що серонегативні тварини є критичною ланкою в ензоотії, оскільки характеризуються як сприйнятливі до патогенної дії збудника ЕДС (Lin et al., 2015). Дані наукової літератури (Ouyang et al., 2015) зазначають, що пероральна імунізація свиноматок проти ЕДС зупиняє ензоотію, але сприяє реінфекції, адже імунізовані свиноматки виділяють збудник захворювання в навколишнє середовище протягом 25 днів після останньої інюкуляції. Пероральна імунізація свиноматок також забезпечує зниження репродуктивних якостей свиноматок шляхом зменшення частоти опоросів на 12% та збільшення кількості абортів і муміфікованих плодів, відповідно, на 1,3% і 2% (Olanratmanee et al., 2010).

Парентеральна імунізація свиноматок забезпечує формування в поросят групового імунітету на 100%, а рівень антитіл у тварин дослідної групи вірогідно вищий відносно значень у тварин контрольної групи. Це сприяло збільшенню тривалості циркуляції у крові поросят дослідної групи специфічних IgG. За повідомленнями D. I. Shour (1997), специфічні антитіла сироватки крові не можуть забезпечити належного захисту як проти ТГС, так і проти ЕДС, оскільки протективний імунітет проти кишкових інфекцій формується внаслідок активної стимуляції імунної системи кишечника, яка шляхом клітинно-опосередкованого імунітету активує індукцію секреторного SIgA (Chattha et al., 2015). Останній формує імунний захист у поросят та перешкоджає реплікації вірусу ЕДС в ентероцитах (Gimenez-Lirola et al., 2016).

За повідомленнями Scherba зі співавторами (2016), народжені поросята від парентерально імунізованих проти ЕДС свиноматок, які містять у крові специфічні IgG, не проявляють клінічних ознак інфекції протягом першого тижня життя за парентерального інфікування, а тварини, яким інюкулювали вірус у більш старшому віці (5 днів життя), мають м'якший перебіг, відносно проявів первинного спалаху захворювання, які реєструються в поросят уже з перших днів життя. Схожі результати отримані й іншими дослідниками, які дійшли висновку, що циркулюючі антитіла 100%-во не захищають поросят від інфікування вірусом ЕДС, але забезпечують більш м'який перебіг

захворювання та значно знижують рівень смертності поросят (Poonsuk et al., 2016).

Узагальнюючи результати аналізу літературних джерел і отримані нами експериментальні дані, можна зазначити, що парентеральна імунізація проти ЕДС свиноматок забезпечує індукцію в них антигенспецифічного IgG та сприяє зменшенню ризику інфікування новонароджених поросят у перші доби життя.

Висновки

Пероральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней сприяє сероконверсії у 40% тварин специфічних IgG у титрі 1:200, а за дворазової парентеральної імунізації специфічні IgG реєструються в діагностичному титрі в 70% свиноматок.

За парентеральної імунізації свиноматок проти ЕДС у 60% поросят добового віку виявлено специфічні IgG у титрі 1:200, які зберігаються протягом 14 днів життя лише у 20% тварин. За парентеральної імунізації свиноматок у 100% поросят добового віку містяться специфічні IgG, які перебувають у діагностичному титрі два тижні у 67% тварин.

References

- Annamalai, T., Saif, L. J., Lu, Z., & Jung, K. (2015). Age-dependent variation in innate immune responses to porcine epidemic diarrhea virus infection in suckling versus weaned pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 168(3–4), 193–202.
- Bjuström-Kraft, J., Woodard, K., Gimenez-Lirola, L., Rotolo, M., Wang, C., Sun, Y., Lasley, P., Zhang, J., Baum, D., Gauger, P., Main, R., & Zimmerman, J. (2016). Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) detection and antibody response in commercial growing pigs. *BMC Veterinary Research*, 12(1).
- Chattha, K. S., Roth, J. A., & Saif, L. J. (2015). Strategies for Design and Application of Enteric Viral Vaccines. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3(1), 375–395.
- Clement, T., Singrey, A., Lawson, S., Okda, F., Nelson, J., Diego, D., Nelson, E., & Christopher Hennings, J. (2016). Measurement of neutralizing antibodies against porcine epidemic diarrhea virus in sow serum, colostrum, and milk samples and piglet serum samples after feedback. *Journal of Swine Health and Production*, 24, 1–10.
- Dastjerdi, A., Carr, J., Ellis, R. J., Steinbach, F., & Williamson, S. (2015). Porcine epidemic diarrhea virus among farmed pigs, Ukraine. *Emerging infectious diseases*, 21(12), 2235–2237.
- Gerber, P. F., & Opriessnig, T. (2015). Detection of immunoglobulin (Ig) A antibodies against porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in fecal and serum samples. *MethodsX*, 2, 368–373.
- Gimenez-Lirola, L., Kraft, J. B., Woodard, J. B., Wang, C., Baum, D., Zimmerman, J., & Main, R. (2016). PEDV antibody responses in fecal and oral fluid specimens. *American Association of Swine Veterinarians*. New Orleans, 64.
- Hanke, D., Pohlmann, A., Sauter-Louis, C., Höper, D., Stadler, J., Ritzmann, M., Steinrigl, A., Schwarz, B. A., Akimkin, V., Fux, R., Blome, S., & Beer, M. (2017). Porcine epidemic diarrhea in Europe: in-detail analyses of disease dynamics and molecular epidemiology. *Viruses*, 9(7), 177.
- Jang, J., Yoon, S. H., Lee, W., Yu, J., Yoon, J., Shim, S., & Kim, H. (2018). Time-calibrated phylogenomics of the porcine epidemic diarrhea virus: genome-wide insights into the spatio-temporal dynamics. *Genes & Genomics*, 40(8), 825–834.
- Jung, K., Annamalai, T., Lu, Z., & Saif, L. J. (2015). Comparative pathogenesis of US porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain PC21A in conventional 9-day-old nursing piglets vs. 26-day-old weaned pigs. *Veterinary Microbiology*, 178(1–2), 31–40.
- Kokarev, A., & Masiuk, D. (2014). The dynamics of factors non-specific immune protection in colostrum of sows at action of drug "Imunolak". *Science and Technology Bulletin of Scien-*

- tific research center for biosafety and environmental control of agro-industrial complex, 2(1), 75–80 (in Ukrainian).
- Kravtsiv, R. Y., & Maslianko, R. P. (2008). Suchasnyi stan rozvytku imunoprofilaktyky infektsiinykh zakhvoriuvan tvaryn. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 10(2), 148–155 (in Ukrainian).
- Lin, C.-M., Annamalai, T., Liu, X., Gao, X., Lu, Z., El-Tholoth, M., Hu, H., Saif, L. J., & Wang, Q. (2015). Experimental infection of a US spike-insertion deletion porcine epidemic diarrhea virus in conventional nursing piglets and cross-protection to the original US PEDV infection. *Veterinary Research*, 46(1).
- Lin, C.-M., Saif, L. J., Marthaler, D., & Wang, Q. (2016). Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains. *Virus Research*, 226, 20–39.
- Masiuk, D. M., Sosnitsky, O. I., Nedzvetsky, V. S., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2017a). Epidemiology, etiology and gene analysis of spike S protein of porcine epidemic diarrhea virus infection in Ukraine during 2016–2017. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 602–610.
- Masiuk, D. M., Sosnitsky, O. I., Nedzvetsky, V. S., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2017b). Endemic course of epidemic diarrhea of pigs in the stabilized focus of infection. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 410–416.
- Masiuk, D. N., Nedzvetsky, V. S., Sosnitskiy, A. I., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2018). The characteristics, emergent properties and manner of spread in Ukraine of the Porcine Epidemic Diarrhea Virus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3).
- Ogawa, S., Tsukahara, T., Imaoka, T., Nakanishi, N., Ushida, K., & Inoue, R. (2016). The effect of colostrum ingestion during the first 24 hours of life on early postnatal development of piglet immune systems. *Animal Science Journal*, 87(12), 1511–1515.
- Olanratmanee, E. O., Kunavongkrit, A., & Tummaruk, P. (2010). Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows. *Animal Reproduction Science*, 122, 42–51.
- Onoprienko, L. V. (2011). Molecular mechanisms regulating the activity of macrophages. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 37(4), 437–451 (in Russian).
- Ouyang, K., Shyu, D. L., Dhakal, S., Hiremath, J., Binjawadagi, B., Lakshmanappa, Y. S., Guo, R., Ransburgh, R., Bondra, K. M., Gauger, P., Zhang, J., Specht, T., Gilbertie, A., Minton, W., Fang, Y., & Renukaradhya, G. J. (2015). Evaluation of humoral immune status in porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) infected sows under field conditions. *Veterinary Research*, 46, 140.
- Poonsuk, K., Giménez-Lirola, L. G., Zhang, J., Arruda, P., Chen, Q., Correa da Silva Carrion, L., Magtoto, R., Pineyro, P., Sarmiento, L., Wang, C., Sun, Y., Madson, D., Johnson, J., Yoon, K.J., Zimmerman, J., & Main, R. (2016). Does circulating antibody play a role in the protection of piglets against porcine epidemic diarrhea virus? *PLOS ONE*, 11(4), e0153041.
- Scherba, G., Bromfield, C. R., Jarrell, V. L., & Shipley, C. F. (2016). Evaluation of responses to both oral and parenteral immunization modalities for porcine epidemic diarrhea virus in production units. *Journal of Swine Health and Production*, 24(1), 21–28.
- Setcavage, T. M., & Kim, T. B. (1976). Characteristics of porcine serum immunoglobulins IgG, IgM and IgA and the preparation of monospecific anti-chain sera. *Immunochem*, 13, 643–652.
- Shoup, D. I., Jackwood, D. J., & Saif, L. J. (1997). Active and passive immune responses to transmissible gastroenteritis virus (TGEV) in swine inoculated with recombinant baculovirus-expressed TGEV spike glycoprotein vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 242–250.