

лейкопении кошек, а также энтерита норок, енотов и собак. Вирион лишен внешней липидной оболочки и имеет диаметр 25,5 нм. В состав капсида входит три белка – VP1, VP2, VP3. Белок VP2 является основным структурным белком и в наибольшей степени представлен в вирионе. Геном представлен одноцепочечной ДНК.

Сравнение геномных структур, кодирующих белок VP2 различных парвовирусов плотоядных, показывает более их 98% гомологии. В связи с этим работы по изучению новых изолятов представляют большой научный и практический интерес, так как даже небольшие отличия в геноме парвовирусов определяют такие свойства, как антигенный тип и круг хозяев.

С помощью моноклональных антител и молекулярно-биологического анализа генома парвовирусный энтерит собак четко дифференцируется от парвовирусов кошек и норок. Кроме того, возбудители различаются по чувствительности к ним различных культур клеток. Так, вирус панлейкопении кошек размножается в кошачьих, но не в собачьих культурах клеток, а парвовирус энтерита собак – в культурах клеток как собак, так и кошек.

Возбудитель парвовирусного энтерита собак штамма «R-72» был изолирован от павшей собаки в 1994 году, адаптирован к первично-трипсинизированным культурам клеток почки котенка (ПК) и щенка (ПЩ), а также перевиваемой культуре клеток почки поросенка (ППК). Через 48-120 часов после заражения вирус вызывал характерное ЦПД на 60-80% поверхности монослоя и накапливался в титрах 3,0-9,0 \log_2 в РГА с эритроцитами свиньи. Инфекционный титр вируса составлял 3,66-7,33 \lg ТЦД₅₀/см³ на культуре клеток ППК.

Для наработки вирусспецифического сырья наиболее технологичной оказалась перевиваемая линия клеток ППК, в которой вирус накапливался в титрах 6,5-7,5 \log_2 в РГА. Однако, с увеличением пассажей наблюдалось снижение выхода вируса, поэтому необходимо было периодическое «освежение» на первично-трипсинизированных культурах ПК или ПЩ.

Изучение антигенных свойств штамма «R-

72» с помощью моноклональных антител в ИФА подтвердило близкое родство с возбудителями энтерита норок и панлейкопении кошек. В РТГА с сыворотками животных, иммунизированных парвовирусом собак штамма «Дан», вирусом энтерита норок штамма «Родники», парвовирусом свиней штамма «Вл-94», было показано серологическое родство штамма «R-72» с указанными возбудителями.

Сравнительный анализ первичной структуры участка генома штамма «R-72» в ПЦР с другими штаммами и изолятами возбудителей ПВЭ, проведенный на базе лаборатории особо опасных болезней ФГУ ВНИИЗЖ, показал замены в 18 и 41 кодоне, которые являются значимыми.

Полученные данные позволили сделать заключение, что возбудитель штамма «R-72» является оригинальным в таксономическом отношении, ранее неизвестным вариантом ПВЭ собак, что впоследствии было подтверждено патентом Российской Федерации, и может быть использован для изготовления диагностических и вакцинных препаратов.

В настоящее время вирус парвовирусного энтерита собак штамма «R-72» применяется в качестве вакцинного в ассоциации с живым возбудителем чумы плотоядных. Биологическая активность вируса чумы плотоядных в препарате составляет не менее 4,5 \lg ТЦД₅₀/см³, гемагглютинирующая активность ПВЭ собак – не менее 7,0 \log_2 в РГА.

Как показали исследования, компоненты препарата не оказывают ингибирующего влияния друг на друга. Испытания иммуногенности ассоциированной вакцины по отношению к парвовирусному энтериту на щенках 2-4 месячного возраста показали, что после однократной иммунизации в дозе 1 см³ уровень вирусспецифических антител составлял 8,5-9,5 \log_2 , а после ревакцинации увеличивался до 12,5-13,5 \log_2 в РТГА и был сравним с таковым при иммунизации монопрепаратом.

Изготавливаемая живая лиофилизированная вакцина на основе ПВЭ собак штамма «R-72» обеспечивает стойкий иммунитет, сохраняющийся в течение года и может быть применена для вакцинации щенков, имеющих высокий уровень колостральных антител.

УДК 619 : 616. 98 : 579. 834. 115 : 615.373

ПОДГОТОВКА СЫВОРОТКИ ОВЕЦ-ДОНОРОВ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕПТОСПИР

Зайцев В.В.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

При изготовлении противолептоспирозных вакцин используют овец-доноров в возрасте 1,5-2 лет живой массой не менее 50 кг, свободных от лептоспиросительства и не имеющих специфических антител к лептоспирам.

Сыворотку крови каждой овцы ежеквартально исследуют в реакции микроагглютинации

(РМА) в разведении 1:10 (с антигеном 1:20) с лептоспирами следующих серологических групп: Помона, Тарассови, Гриппотифоза, Иктерогеморрагия, Гебдомадис и Сейро.

Для постановки реакции берут 1,8 см³ физиологического раствора и добавляют 0,2 см³ исследуемой сыворотки.

Всех овец-доноров, в сыворотке крови которых выявлены специфические антитела к лептоспирам в разведении 1:20, изолируют от основной отары и обрабатывают стрептомицином или другим антибиотиком курсом 4-5 раз с интервалом 24 часа.

Кровь овец для приготовления питательных сред берут не раньше, чем через семь дней после последней инъекции антимикробного препарата.

В процессе эксплуатации кровь у овец-доноров берут один раз в 15 дней из расчета 10-12 см³ крови на 1 кг живой массы. Срок эксплуатации овец-доноров не более 3 лет.

Кровь берут в стерильные бутылки вместимостью 3 литра, увлажненные физиологическим раствором. После свертывания крови бутылки встряхивают для отделения кровяного сгустка от стенок и помещают для отстоя сыворотки на 18-24 часа при температуре + 2-10°С.

Отстоявшуюся сыворотку сливают (отсасывают) в стерильные бутылки вместимостью 10-16 литров, которые помещают в водяную баню с температурой 57-58°С и прогревают при периодическом перемешивании в течение 60 минут с момента достижения внутри бутылки указанной температуры. Передержка сыворотки при комнатной температуре не допускается.

Полученную сыворотку фильтруют, исследуют на содержание общего белка, стерильность, а также исследуют в РМА на наличие специфических противолептоспирозных антител.

При обнаружении у отдельных животных или в отдельной партии приготовленной сыворотки специфических антител к лептоспирам в разведении 1:20 на 2 креста и выше у всех доноров прекра-

щают взятие крови для приготовления питательной среды и проводят обработку антибиотиками.

Таким образом, значительная часть сыворотки выбраковывается, а в производственном процессе до 40% животных не используется в приготовлении вакцины.

Алсынбаев М.М. и др. (2004) изучали специфическое сырье для производства препаратов иммуноглобулина против геморрагической лихорадки с почечным синдромом и установили существование влияния процесса замораживания – оттаивания на снижение титра специфических антител.

Цель работы – изыскание способа инаktivации специфических противолептоспирозных антител в сыворотке овец-доноров, используемой в рецептуре питательных сред для культивирования производственных штаммов лептоспир.

Нами было проведено пять циклов замораживания-оттаивания шести серий сывороток овец, содержащих специфические противолептоспирозные антитела в титре 1:20 – 1:160.

В результате проведенного эксперимента установили, что однократное замораживание обеспечивает снижение титра специфических противолептоспирозных антител в 2-3 раза, а двукратное – в 7-8 раз. Последующие циклы замораживания не обеспечивают существенного снижения титра антител.

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что двукратное замораживание-оттаивание позволяет инаktivировать специфические антитела в сыворотках с титром 1:80 – 1:160 и, следовательно, использовать их в производственном цикле выбракованные сыворотки и поголовье овец.

УДК 576. 8 : 57. 086. 3

ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДГОТОВКИ ЖЕЛАТИНА С ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ЗАЩИТНЫХ СРЕД ДЛЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ И КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ

Зайцев В.В., Дремач Г.Э., Воробьев М.А., Пухлякова Е.В., Зайцева А.В.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Лиофилизация, как сублимационная сушка в вакууме предварительно замороженных биологических материалов, – один из современных методов обратимого консервирования микроорганизмов и биопрепаратов (И.В. Звягин, 1981; М.В. Заболотных, А.В. Заболотных, 2000). Благодаря этому методу, состоящему из двух приемов консервирования – замораживания и высушивания, влагу из замороженного состояния в препарате испаряют под вакуумом, минуя жидкую фазу.

В процессе сублимации влага перемещается в препарате не в виде жидкости, а в виде пара. В результате удается в максимальной степени сохранить специфические свойства белков, свести к минимуму процессы денатурации и обмена веществ и обеспечить живой клетке переход в состояние дли-

тельного анабиоза, облегчаются задачи стандартизации микроорганизмов и биопрепаратов. При этом упрощаются условия хранения и транспортирования препаратов.

Сублимационная сушка биопрепаратов по сравнению с другими материалами является более глубокой – влажность высушенных препаратов в среднем не превышает 3%.

На стадии замораживания часть клеток погибает. Причинами гибели могут быть следующие факторы: внутриклеточная кристаллизация, действие электролитов, концентрация которых возрастает в межкристаллических пространствах по мере вымораживания влаги, механическое повреждение клеток кристаллами льда и др.

Для предохранения микроорганизмов от