

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОГО РОДСТВА ИЗОЛЯТА «КАЛУЖСКИЙ» К РАЗЛИЧНЫМ СЕРОТИПАМ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР

Чупина О.А., Фролов С.В., Диев В.И., Борисов А.В.

ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ ВНИИЗЖ), г. Владимир, Россия

**Введение**

Заболевание инфекционный бронхит кур (ИБК) остается одной из актуальных проблем промышленного птицеводства. Высокая вариабельность вируса и его широкое распространение способствуют постоянному возникновению новых, серологически отличных от уже известных, штаммов вируса ИБК (3, 4).

По данным отечественных исследователей, в нашей стране большинство изолятов вируса ИБК относится к серотипу Массачусетс (2). Однако в последние годы выделен ряд изолятов, которые по генетической структуре отличаются от указанного серотипа и от остальных известных серотипов этого возбудителя болезни, что приводит к недостаточной эффективности вакцинации против ИБК (1). Поэтому постоянное изучение изолятов ИБК с целью определения их антигенных свойств и способности имеющихся вакцин защищать птицепоголовье от заражения вариантами штаммами необходимо для успешной борьбы с этим заболеванием.

В связи с вышеизложенным, было проведено исследование антигенного родства изолята «Калужский» по отношению к наиболее распространенным вакцинным штаммам H-120, 4/91, D 274, являющихся представителями наиболее распространенных на территории РФ серотипов вируса ИБК. Исследуемый изолят был выделен из патматериала от больных ИБК цыплят-бройлеров птицефабрики «Калужская» в 1999 г. и адаптирован к развивающимся куриным эмбрионам (РКЭ).

**Материалы и методы**

Для оценки биологических свойств и антигенного родства изолят «Калужский» исследовали в реакции нейтрализации (РН) с использованием аметода, когда десятикратные разведения вируса смешивали с постоянным разведением (1:10) сыворотки (3).

**Вирус.** Использовали следующие штаммы вируса ИБК:

-полевой штамм «Калужский», выделенный во ВНИИЗЖ (15 пассаж на РКЭ);

-вакцинный штамм H-120 и патогенный штамм M41; серотип Массачусетс (получены из ВГНКИ);

-вакцинный штамм 4/91 серотипа 793/B (реизолирован из голландской вакцины);

-вакцинный штамм D274 серотипа D207 (реизолирован из голландской вакцины).

**Сыворотки.** Для нейтрализации вируса использовали специфические сыворотки, полученные от свободных от патогенных факторов цыплят, иммунизированных соответствующими штаммами вируса ИБК и нормальную сыворотку от незараженных птиц. Сыворотки перед исследованием инактивировали при температуре 58 °С в течение 30 мин.

Тест-системой служила трахеальная органная культура (ТОК), приготовленная из свободных от патогенных факторов РКЭ 20-суточного срока инкубации. Культуры помещали в стеклянные пробирки со средой ПСП (0,8 мл) с антибиотиками (гентамицин-сульфат, 200 мг/л и энрофлоксацин, 50 мг/л).

При постановке РН готовили последовательные 10-кратные разведения исследуемых штаммов вируса ИБК, используя среду поддержания ТОК. Смешивали в равном объеме сыворотки к каждому штамму, разведенные 1:10, с разведениями вируса со 2-ое по 7-ое, оставляли для контакта на 1 час при температуре 20-22 °С, периодически встряхивая. Затем по 0,2 мл смеси вносили в пробирки с ТОК. Культуры инкубировали в роллерном аппарате при температуре 37 °С. Цилиарную активность (ЦА) наблюдали в течение 5 суток. Цилиостаз, наступивший ранее 48 ч после заражения, считали неспецифическим.

Реакцию нейтрализации с каждым штаммом проводили в 3-х повторностях.

**Результаты**

Изолят «Калужский» вируса ИБК оказывал выраженное цитопатическое действие на цилиарный эпителий эксплантатов трахеи. Первые признаки поражения ресничных клеток проявлялись через 24 ч после заражения: биение цилий замедлялось и становилось менее скоординированным, подслизистый слой набухал и становился рыхлым, в просвете трахеального кольца появлялись округлые слущившиеся клетки. Цилиостаз, сопровождаемый очаговой или полной десквамацией эпителия, наступал через 4-5 суток после заражения. Вакцинные штаммы, использовавшиеся в РН, продуцировали специфическую гибель ТОК через 3-5 суток после инокуляции вируса, вызывая сходные поражения.

Для определения антигенного родства исследуемого изолята «Калужский» проводили РН с гомологичной и гетерологичными сыворотками. Было установлено, что наиболее высокий индекс нейтрализации (ИН) был при исследовании вышеуказанных штаммов с гомологичными сыворотками крови, тогда как с гетерологичными этот показатель был ниже, что обуславливается их антигенным различием. Так, ИН изолята «Калужский» с гомологичной сывороткой соответствовал 3,22, а против сывороток, полученных на штаммы H-120, D 274 и 4/91, - 2,14, 0,37 и 1,37. Аналогичные результаты получены при исследовании других штаммов. Так, ИН штамма H-120 с гомологичной сывороткой был 4,42, а с изолятом «Калужский», штаммами D 274 и 4/91 он соответствовал 3,42, 1,91 и 1,58. Установлены более выраженные отличия штаммов 4/91 и D 274 от изолята «Калужский». С гомологичными сы-

воротками крови ИН штамма 4/91 был 3.65, а с гетерологичными он был в пределах 0.73-2.41.

В конечном итоге расчет индексов нейтрализации с гомологичной и гетерологичными сыворотками был необходим для определения антигенного родства R(%) изолята «Калужский» к определенным серотипам вируса ИБК, представленных вышеперечисленными вакцинными штаммами. Антигенное родство R (%) вычисляли по формуле Архетти (3).

В результате проведенных вычислений было установлено, что изолят «Калужский» имеет наиболее близкое антигенное родство к штамму Н-120 (серотип Массачусетс), которое составило 71.7%, что подтверждают предшествующие исследования данного изолята в ПЦР и методом секвенирования гена S1 о генетическом сходстве данных штаммов (около 75%) (1). Антигенное родство изолята «Калужский» к другим исследованным штаммам было меньшим. Значение R составило 53.0 % к штамму 4/91 (серотип 793В) и 2.3% к штамму D274 (серотип D207).

#### Выводы

Выделенный во ВНИИЗЖ отечественный изолят «Калужский» вызывает характерное для вируса ИБК цитопатическое действие на цилиарный эпителий трахеальной органной культуры, цилиостаз в ней наступает через 4-5 суток после заражения.

Изолят «Калужский» вируса ИБК имеет наи-

большее антигенное родство со штаммом Н-120 (серотип Массачусетс) – 71.7%, меньшее – со штаммом 4/91 (серотип 793В) и самое малое – со штаммом D 274 (серотип D207). Однако антигенное родство, выраженное на 72%, не достаточно, чтобы отнести исследуемый изолят к данному серотипу. Таким образом, подтвердились выводы, сделанные ранее на основании данных ПЦР и секвенирования гена S1, о том, что данный изолят не принадлежит ни к одному из описанных ранее серотипов вируса ИБК.

#### Литература.

1. Борисов А.В., Бочков Ю.А., Фролов С.В. и др. Изучение спектра полевых изолятов вируса инфекционного бронхита кур в России с использованием молекулярно-биологических и серологических методов. // Птицеводство – мировой и отечественный опыт. Материалы конф. – Москва. – 28-31 января. – 2002. – с. 23-24.
2. Бочков Ю.А., Батченко Г.В., Луговская Н.Н. и др. Изучение инфекционного бронхита кур в России: исторический аспект // Актуальн. пробл. инфекц. патологии жив-х: Матер. Междунар. науч. конф., посвящен. 45-летию ФГУ ВНИИЗЖ. – Владимир, 2003.
3. Троценко Н. И., Белоусова Р. В., Преображенская Э. А. Практикум по ветеринарной вирусологии. - 2-е изд. - М.: Колос, 1999. – С 128-130.
4. Darbyshire J. H., Rowell J. G., Cooc J. K., Peters R. W. Taxonomic studies on strains of infection bronchitis virus using neutralization tests in tracheal organ cultures // Archives of Virol. - 1979. - v. 61. - P. 227-238.
5. Ignjatović J., Sapats S. Avian infectious bronchitis virus // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. – 2000. – V. 19. - № 2. – P. 493-408.

УДК 619:616.98:578.824.11:636.4:636.32/38:615.371.57.083.3

### ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ АУЕСКИ СВИНЕЙ И ОВЕЦ ИЗ МАРКИРОВАННОГО ШТАММА «ВК» НА КОЗАХ

Яснева Е.А., Басова Д.К., Диев В.И., Константинов А.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных, Россия

#### Введение

Болезнь Ауески – остро протекающая, в виде энзоотий и спорадических случаев вирусная болезнь сельскохозяйственных животных всех видов, пушных зверей и грызунов. Характеризуется признаками поражения головного и спинного мозга (3), легких (2), сильным зудом и расчесами (у всех видов кроме свиней), а также септициемией. Болезнь Ауески наносит значительный экономический ущерб животноводству даже в развитых странах. Она регистрируется в Южной и Северной Америке, Азии и Европе (1).

Начиная с 50-х годов в нашей стране и за рубежом разработаны различные живые и инактивированные вакцины против болезни Ауески. Во многих странах мира широко используются маркированные вакцины на основе делеционных мутантов, т.к. они позволяют дифференцировать вакцинальный и инфекционный иммунитет и тем самым способствуют искоренению болезни Ауески в неблагополучных хозяйствах.

В нашей стране разработана и широко применяется вирусвакцина из маркированного штамма

«ВК», эффективность которой проверяется на свиньях или овцах.

Целью наших исследований было определить возможность контроля безвредности и иммуногенной активности такой вакцины на козах.

#### Материалы и методы

В работе использовали лиофильно высушенную вирусвакцину против болезни Ауески из маркированного штамма «ВК», которую разводили до исходного объема охлажденной питательной средой ПСП, а затем готовили разведения 1:25 и 1:100.

Безвредность определяли на 2-х козах, котрым подкожно в области внутренней поверхности бедра вводили вакцину в исходном разведении по 5,0 мл.

Иммуногенную активность определяли введением вакцины в разведении 1:25 4-м и в разведении 1:100 – 2-м козам. В качестве контроля использовали 2-х неиммунных животных. Всего в опытах было использовано 10 коз 2-3-х летнего возраста.

Через 14 и 21 день после вакцинации у всех животных брали пробы крови для получения сыворотки, которую исследовали в реакции нейтрализа-