

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 Н-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 Н-120 и патогенный штамм М41; серотип Массачусетс (получены из ВГНКИ);
- вакцинный штамм 4/91 серотипа 793/В (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 слизившиеся 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 Н-120, D 274 и 4/91, - 2,14, 0,37 и 1,37. Аналогичные результаты получены при исследовании других штаммов. Так, ИН штамма Н-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 H-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 H-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, которм 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-