

пола животного в клиническом проявлении диминирует один или несколько ведущих клинических синдромов.

УДК 619:616.98:578.833.31

Моделирование *in vitro* пассивного иммунитета против вируса классической чумы свиней

В.И.Чермашенцев, Н.А.Чермашенцева, Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Всероссийский НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии

Полученные нами ранее данные показали, что наиболее чувствительными к вирусу классической чумы свиней (КЧС) являются первичные культуры свинных клеток гемопозитического происхождения, так же было экспериментально доказано, что главные клетки-"мишени" при КЧС это клетки системы мононуклеарных фагоцитов(СМФ) [2,3].

Целью работы являлось моделирование пассивного иммунитета против вируса КЧС при помощи свинных макрофагов как самых чувствительных клеток-"мишеней" для репродукции и накопления вирулентного вируса.

Объектом исследования служили первичные культуры макрофагов крови свиней, в которые вносились определённые дозы гипериммунной сыворотки свиней (моделирование пассивного иммунитета различного уровня), имеющей титр вируснейтрализующих антител $12 \log_2/\text{мл}$, а затем добавляли различные дозы вирулентного штамма "Ши-Мынь" вируса КЧС.

Титр вируса КЧС в культуре макрофагов и уровень вируснейтрализующих антител (ВНАг) в сыворотке крови исследуемых животных при помощи иммунофлуоресцентного метода в перевиваемой культуре клеток почки поросёнка (РК-15), осуществляемого по "Методическим указаниям по иммунофлуоресцентной диагностике КЧС" (ВНИИВВиМ, 1984) [1].

Мононуклеарные клетки получали от свиней-доноров путём седиментации клеток из плазменной фракции крови, стабилизированной цитратполивиниловой смесью или путём деления клеток крови на градиенте плотности фиколл-пака. В серии предварительных экспериментов были установлены оптимальные условия для титрования вируса в культуре ЛС (лейкоцитов свиней): посевная концентрация клеток $5-7 \cdot 10^6$ кл./мл, посадочный объём культуры на пробирку 2,5 мл, возраст культуры клеток от 4 до 21 суток после посадки, использование свиной аутологичной сыворотки, не содержащей

ВНАг к вирусу КЧС, разведение вирусосодержащего биоматериала 1:10-10000000, объём инфицирующей дозы на пробирку 0,25-0,5 мл, срок культивирования заражённых клеток 2-5 суток.

Реакция серозащиты макрофагов крови поросёнка против вирулентного штамма "Шн-Минь" вируса классической чумы свиней

Доза вируса, вносимая в культуру макрофагов (ЛД ₅₀)	Уровни ¹⁾ серозащиты макрофагов, обеспечиваемые указанным количеством ВНЕ		
	I	II	III
1 000 000	64 ²⁾ и более	9-63	8 и менее
100 000	32 и более	7-31	6 и менее
10 000	16 и более	5-15	4 и менее
1 000	8 и более	3-7	2 и менее
100	4 и более	0,6-3	0,5 и менее
10	2 и более	0,2-1	0,1 и менее
1	1 и более	0,05-0,5	0,04 и менее

Примечание: 1) I - полное отсутствие репродукции вируса;

II - резкое снижение накопления вируса (на 90-99);

III - уровень накопления вируса не отличается достоверно (P 0,05)

от такового в контроле,

2) - количество вируснейтрализующих единиц (ВНЕ это величина, обратная разведению сыворотки)

В 10 сериях опытов на культуре ЛС определяли условия, при которых происходит полная или частичная нейтрализация переменных доз вирулентного вируса КЧС (1-1000000 ЛД₅₀) в макрофагах как модели клеток-"мишеней" пассивно-иммунных поросят. Как видно из данных таблицы, при использовании постоянной дозы вируса в количестве 1 000 ЛД₅₀/млн кл. происходит его полная нейтрализация при титре ВНАг 1:8 и более. При более низких титрах вируснейтрализующих антител наблюдали частичный эффект серозащиты свинных макрофагов, однако репродукция вируса наблюдается в 10-100 раз более низкая и достигает максимальных значений при следовых количествах ВНАг, выявляемых в реакции антителозависимого усиления на культуре ЛС.

Установлено следующее количественное соответствие между дозой вирусом и количеством нейтрализующих антител: увеличение инфицирующей дозы вируса КЧС в 10 раз вызывает необходимость увеличения уровня ВНАг в 2 раза для того, чтобы полностью нейтрализовать вирулентный вирус

На практике, естественно, циркулируют в большинстве случаев небольшие заражающие дозы вирулентного вируса (в пределах 1-1000 ЛД₅₀) и, соответственно, титры ВНАт 1:16 и выше - вполне достаточны для защиты свиней от клинического проявления КЧС.

По нашим данным в промышленном свиноводстве колостральный (пассивный) иммунитет у поросят наступал с первых часов жизни (0-1:8), достигал максимума по напряжённости в 3-28 суточном возрасте (1:16-1:256) и полностью отменялся к 70-80 суткам после рождения поросят (0-1:2). Эффективность пассивной защиты от КЧС-инфекции поросят-сосунов определялась постоянно убывающей величиной титров колостральных (молозивных) ВНАт в их крови. При определении срока наступления колострального иммунитета у поросят в опытах с контрольным заражением оказалось, что в первые двое суток после рождения животные восприимчивы к эпизоотическому вирусу КЧС независимо от метода заражения. Процент защиты таких поросят от гибели составил 25-67%, от болезни - 0-33%. Начиная с 3-х суток после рождения поросята проявляли 100%-ную устойчивость к гибели и 80%-ную устойчивость к симптомам КЧС.

З а к л ю ч е н и е. Таким образом, разработана эффективная клеточная модель для изучения пассивного иммунитета против классической чумы свиней и найдены оптимальные условия для использования в этом качестве макрофагов крови свиней-доноров. Данные полученные при помощи такой модели полностью соответствуют результатам исследования колострального иммунитета против КЧС у поросят.

Л и т е р а т у р а.

1. Методические указания по определению эффективности вакцинации и иммунитета против КЧС/ И.Ф.Вишняков и др.- Покров, 1992.-10 с. 2. Фрейндлих И.С. Система моноклеарных фагоцитов.- М.: Медицина, 1984.- 272 с. 3. Чермашенцев В.И. Совершенствование средств и способов иммунизации поросят против классической чумы свиней// Дисс. канд. вет. наук.- Витебск, 1990 - 237 с