

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНОВ ВИРУСОВ И БАКТЕРИЙ ДЛЯ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ КУР ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ПОЛУЧЕНИЮ ЖЕЛТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

*Борисовец Д.С., *Зуйкевич Т.А., *Насонов И.В., **Красочко П.А.,
*Якубовский С.М.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной
медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. Желудочно-кишечные болезни телят вирусно-бактериальной этиологии имеют широкое распространение и наносят огромный экономический ущерб животноводству [1, 3-5].

Наиболее изученным классом иммуноглобулинов у млекопитающих является иммуноглобулин класса G (IgG). Его молекулярная структура и функции хорошо изучены. В середине XX века птичьим иммуноглобулином обозначались также IgG. Но в настоящее время известно, что птичий иммуноглобулин отличается от IgG млекопитающих по структуре и по функциям. Поэтому было принято решение называть их IgY (от слова «yolk» – желток). Сывороточные иммуноглобулины птиц полностью идентичны желточным. Концентрация IgY в желтке сравнима с концентрацией IgY в сыворотке и составляет 6–13 мг/мл. Большое количество IgY, которое можно получить неинвазивным способом, делает кур идеальным поставщиком специфических антител. Из-за значительной филогенетической дистанции, отделяющей птиц от млекопитающих, иммунологические свойства IgY сильно отличаются от IgG. Так, IgY не взаимодействуют с компонентами комплемента млекопитающих, ревматоидным фактором и Fc-рецепторами млекопитающих, следовательно, IgY-антитела не взаимодействуют с эффекторами иммунной системы млекопитающих и не вызывают системных осложнений при лечении [9].

Благодаря высокой иммунореактивности птиц по отношению к чужеродным белкам инфекционного происхождения (бактериальным, вирусным, паразитарным), а также к растительным токсинам и искусственным, генно-инженерным антигенам, аффинность IgY-антитела выше аффинности антител млекопитающих [10].

Кроме того, расходы на содержание птиц значительно ниже, чем на содержание крупных млекопитающих часто используемых для пассивной иммунизации [6,7].

Несистемное (местное) введение антител, специфичных для возбудителей, является привлекательным подходом для установления защитного иммунитета, особенно в отношении желудочно-кишечного тракта. Яйца являются нормальным компонентом питания, нет практически никакого риска от перорального применения IgY [11].

Использование IgY для пассивной иммунизации в кишечнике может быть определяющим фактором профилактики некоторых кишечных заболеваний, вызванных *Salmonella*, *E. coli* или ротавирусами. Эти антитела обеспечивают почти мгновенную защиту после перорального приема, тогда как активная иммунизация или вакцинация полагается на иммунную систему хозяина, чтобы генерировать иммунный ответ, который, как правило, развивается через несколько дней или недель. Пероральное введение IgY-антител предоставляет

антимикробный зонтик, подавляя пролиферацию патогенов и предотвращая повреждения слизистой оболочки, при этом птичьи иммуноглобулины не являются источником воспалительных реакций в желудочно-кишечном тракте [5]. Агглютинирующие или токсин-нейтрализующие эффекты IgY делают микроорганизмы неспособными к колонизации поверхности слизистой оболочки или выполнению токсигенных или других функций, необходимых для проявления их вирулентности [2, 8-11].

Исходя из вышесказанного, в данной работе стало целью – определение антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур при проведении исследований по получению желточных иммуноглобулинов.

Материалы и методы исследований. Работа выполнялась на базе отдела вирусных инфекций и отдела болезней птиц и физико-химических исследований РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», вивария института.

Определение оптимального состава антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур-несушек проведено на основании исследований по установлению этиологической структуры вирусов и бактерий-возбудителей инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота.

Исходя из полученных данных для гипериммунизации кур-несушек были отобраны следующие штаммы, депонированные в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»:

- штамм вируса диареи крупного рогатого скота «КМИЭВ-V120» – РНК-содержащий, представлен 1-нитевой РНК. Использован в виде вируссодержащей взвеси с инфекционным титром 6,5 lg ТЦД₅₀/мл. Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на перевиваемой культуре клеток почки эмбриона крупного рогатого скота MDBK;

- штамм коронавируса крупного рогатого скота «КМИЭВ-V122» – РНК-содержащий, содержит положительно заряженную, одноцепочечную, несегментированную полиаденилированную РНК. Использован в виде вируссодержащей взвеси с инфекционным титром 5,25 lg ТЦД₅₀/мл. Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на культуре клеток MDBK.

- штамм вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота «КМИЭВ-V122» – ДНК-геномный, содержит непрерывную, линейную, двуспиральную ДНК. Использован в виде вируссодержащей взвеси с инфекционным титром 6,75 lg ТЦД₅₀/мл. Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на культуре клеток MDBK.

- штамм ротавируса крупного рогатого скота «КМИЭВ-116» – РНК-содержащий, диаметр вириона 70-75 нм, нуклеиновая кислота представлена 11 сегментами двунитевой РНК. Использован в виде вируссодержащей взвеси с инфекционным титром 7,0 lg ТЦД₅₀/мл. Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на культуре клеток СПЭВ.

- штаммы бактерий *Escherichia coli* с адгезивными антигенами K88 (F4), K99 (F5), A20 (F17). Концентрация бактериальных клеток – 500 млн./см³. Среда культивирования – бульон Хоттингера.

Для определения оптимального соотношения антигенов вирусов и бактерий при гипериммунизации птицы подобраны группы по 3 головы кур-несушек в возрасте 147 суток.

Кур иммунизировали внутримышечно в большую грудную мышцу вируссодержащим материалом и бактериальной суспензией четырехкратно с интервалом 14 суток согласно схемы, представленной в таблице 1.

Таблица 1 - Схема гипериммунизации кур-несушек для определения оптимального соотношения антигенов вирусов и бактерий

№ п/п	Группа животных	Антигены	Доза на одно введение, см ³
1.	Опытная группа № 1	ИРТ	0,5
2.	Опытная группа № 2	ВД	0,5
3.	Опытная группа № 3	ротавирус	0,5
4.	Опытная группа № 4	коронавирус	0,5
5.	Опытная группа № 5	E. coli	0,5
6.	Опытная группа № 6	ИРТ+ВД	1,0
7.	Опытная группа № 7	ИРТ+ВД+рота	1,5
8.	Опытная группа № 8	ИРТ+ВД+рота+корона	2,0
9.	Опытная группа № 9	ИРТ+ВД+рота+корона+E. coli	2,5
10.	Контрольная группа	Физ. раствор	0,5

Через 14 суток после последней иммунизации отбирали пробы крови из подкрыльцовой вены иммунизированных кур-несушек с целью получения сыворотки и проверки ее на наличие антител к вирусам в РНГА и бактериям в реакции агглютинации.

Результаты исследований. Результаты опытов по определению оптимального соотношения антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур-несушек представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Определение оптимального соотношения антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур-несушек

№ п/п	Группа животных	Антиген	Титры антител в РНГА и РА, log ₂
1.	Опытная группа № 1	ИРТ	5,0
2.	Опытная группа № 2	ВД	5,0
3.	Опытная группа № 3	ротавирус	6,0
4.	Опытная группа № 4	коронавирус	5,0
5.	Опытная группа № 5	E. coli	8,0
6.	Опытная группа № 6	ИРТ	4,0
		ВД	5,0
7.	Опытная группа № 7	ИРТ	4,0
		ВД	5,0
		ротавирус	4,0
8.	Опытная группа № 8	ИРТ	4,0
		ВД	4,0
		ротавирус	5,0
		коронавирус	3,0
9.	Опытная группа № 9	ИРТ	4,0
		ВД	3,0
		ротавирус	4,0
		коронавирус	3,0
		E. coli	5,0
10.	Контрольная группа	ИРТ	0
		ВД	0
		ротавирус	0
		коронавирус	0
		E. coli	2,0

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее оптимальной является схема иммунизации кур-несушек с использованием монокомпонентов вирусов и бактерий, применение которой приводило к выработке специфических антител в организме птицы в титрах – 5,0-8,0 log₂, что на 2,0-5,0 log₂ выше в сравнении с сочетанным введением антигена.

Такие результаты обусловлены тем, что многокомпонентные смеси, по-видимому, оказывают чрезмерную иммунологическую нагрузку организм птицы, что приводит к снижению уровня гуморального ответа на каждый антиген в отдельности.

Заключение. Наиболее оптимальной является иммунизация кур-несушек с использованием монокомпонентов вирусов и бактерий, которая приводила к выработке специфических антител в организме птицы в титрах – 5,0-8,0 log₂, что на 2,0-5,0 log₂ выше в сравнении с сочетанным введением антигенов. Кроме того, применение монокомпонентов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур позволит в дальнейшем конструировать препараты на основе трансвариальных иммуноглобулинов к тем вирусам и бактериям, которые будут циркулировать в каждом конкретном хозяйстве в зависимости от эпизоотической ситуации.

Литература. 1. *Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.* 2. Каплин, В. С. IgY-технологии в медицине. Желточные антитела птиц в иммунотерапии / В. С. Каплин, О. Н. Каплина // *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье.* – 2016. – № 4. – С. 59-75. 3. Машеро, В. А. *Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». - 2007. - Т. 43, вып. 2. - С. 83-86.* 4. *Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.* 5. Красочко, П. А. *Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П. А. Красочко, В. М. Голушко, Е. А. Капитонова // Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства : тезисы докладов международной научно-практической конференции / РУП «Научно -практический центр НАН Беларуси по животноводству». - 2008. - С. 292-294.* 6. *Руководство по вакцинному и сывороточному делу.* – Москва, 1978. – 440 с. 7. *Руководство по профилактике в практическом здравоохранении / Под ред. Глазунова И.С., Оганова Р.Г. [и др.]. – Москва, 2000. – 217 с.* 8. Mine Y., Kovacs-Nolan J. // *J. Med. Food.* – 2002. – Vol. 5, № 3. – P. 159–169. 9. Nilsson E., Larsson A., Olesen H.V. [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 2008. – Vol. 43, № 9. – P. 892– 899. 10. Shofiqur Rahman, Faustino C. Icatlo and Nguyen Van Sa. // *Austin J. Clin. Med.* – 2014. – Vol. 1, № 3. – P. 1012. 11. Spillner E., Braren I., Greunke K. [et al.] // *Biologicals.* – 2012. – Vol. 40. – P. 313–322.