

УДК 619:578:835.1

Л. М. МУЗИКІНА

В. І. БОЖОК

Ю. І. ПУЩИК

В. П. РОМАНЕНКО, доктор ветеринарних наук, академік НААНУ

Інститут ветеринарної медицини НААНУ, м. Київ

ОДЕРЖАННЯ СПЕЦИФІЧНИХ СИРОВАТОК КРОЛІВ НА РЕФЕРЕНТНІ ШТАМИ ЕНТЕРОВІРУСІВ СВИНЕЙ

У статті представлені результати одержання специфічних сироваток кролів на референтні штами ентеровірусів свиней за двома схемами. Використання скороченої схеми дає можливість зменшити час імунізації та затрати на утримання лабораторних тварин при збільшенні титрів антитіл в одержаних сироватках.

Ключові слова: ентеровіруси, специфічні сироватки, референтні штами.

Представники роду *Enterovirus* родини *Picornaviridae* розповсюджені в природі і в багатьох випадках є причиною захворювання домашніх і диких тварин. У свиней ентеровіруси здатні викликати гастроентерити, пневмонію і пневмоентерити, а також ензоотичний енцефаломієліт (хворобу Тешена) [1]. Патогенні штами ентеровірусів у людей викликають поліомієліт, менінгіт, енцефаломіокардит, перикардит, гастроентерит [2].

Починаючи з 1969 року, В. П. Романенко із співавторами проведені дослідження по виділенню та вивченню ентеровірусів свиней з території України, частково Російської Федерації і Молдови, в результаті чого було виявлено 14 нових серотипів ентеровірусів свиней, які захищені авторськими свідоцтвами бувшого СРСР [3].

В 1970 році референтні штами перших 8-ми серотипів ентеровірусів свиней були люб'язно надані В. П. Романенко доктором *J. B. Derbyshire (Pirbright Laboratory, 1970)*, які стали основою для проведення класифікації.

На сьогодні ці штами підтримуються і зберігаються в лабораторії імуногенетики ентеровірусів свиней Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України і використовуються для діагностики ентеровірусних хвороб свиней.

Серологічні дослідження лежать в основі більшості методів діагностики вірусних хвороб [4]. Для визначення типової належності виділених ізолятів ентеровірусів, використовують специфічні сироватки референтних штамів ентеровірусів свиней [5].

Мета досліджень – одержати специфічні сироватки на референтні штами ентеровірусів свиней за двома схемами та визначити титри антитіл.

Матеріали і методи. У роботі використані наступні референтні штами ентеровірусів свиней: *Konratice, Talfan*, “Перечинський 642”, “Березнянський 652”, Т-80, F 34, F 78, F 12, F 7, V-13, М 2323, К 9, К 22, Л 90, М 116, Ч 73, Г 95, Б 111, Ч 184, Д 229, И 249, П 142, В 151, И 393.

Дані штами були поновлені у трьох послідовних пасажах методом крайніх розведень у культурі клітин СНЕВ. З метою одержання необхідного об'єму вірусу для імунізації кролів, підготовлені вірусні матеріали ще один раз пасажували на культурі клітин СНЕВ. Віруси тричі заморожували при -20°C і розморожували, після чого центрифугували з метою звільнення від вмісту клітинного детриту.

Визначення інфекційної активності отриманих антигенів здійснювали на культурі клітин СНЕВ за загально прийнятою методикою[6].

В якості ад'юванту використовували ланолін з вазеліновим маслом у співвідношенні 1:9, який стерилізували автоклавуванням при 1,5 атм протягом 30 хв.

Загальна доза вірусу при імунізації була сталою для всіх референтних штамів ентеровірусів свиней.

Специфічні сироватки на референтні штами ентеровірусів свиней отримували на кролях вагою 2,5-3 кг.

Імунізацію кролів проводили за двома схемами: 1 – контрольна (розроблена В. П. Романенко) – антиген вводили п'ятикратно з семиденним інтервалом, а також експериментальна (модифікована нами схема) – п'ятикратно з триденним інтервалом. Знекровлення проводили через 14 діб після останнього введення.

Титр віруснейтралізуючих антитіл в імунних сироватках кролів визначали в реакції нейтралізації при двократних розведеннях сироваток. Для постановки реакції нейтралізації вірус використовували у дозі $100 \text{ ТЦД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$.

Результати досліджень і обговорення. З метою визначення єдиної дози вірусу для усіх штамів ентеровірусів свиней, що були взяті в дослід, попередньо було встановлено їх інфекційну активність в культурі клітин СНЕВ. Результати викладені в таблиці 1.

Таблиця 1

Інфекційна активність антигенів референтних штамів ентеровірусів свиней в культурі клітин СНЕВ

№ п/п	Штам вірусу	Серо-тип	Титр $\lg \text{ ТЦД} / 50 \text{ см}^3$	№ п/п	Штам вірусу	Серо-тип	Титр $\lg \text{ ТЦД} / 50 \text{ см}^3$
1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>Konratice</i>	1	10,0	13	К 22	12	9,0
2	<i>Talfan</i>	1	9,5	14	Л 90	13	8,5
3	Перечинський – 642	1	9,5	15	М 116	14	8,75
4	Березнянський – 652	1	9,5	16	Ч 73	15	9,5
5	Т-80	2	10,0	17	Г 95	16	9,0
6	Ф 34	3	9,25	18	Б 111	17	10,0
7	Ф 78	4	9,5	19	Ч 184	18	9,75
8	Ф 12	5	9,25	20	Д 229	19	8,75
9	Ф 7	6	9,25	21	И 249	20	9,25
10	V-13	8	9,25	22	П 142	21	9,5
11	М 2323	10	9,25	23	В 151	22	10,0
12	К 9	11	9,25	24	И 393	23	9,25

Згідно проведених досліджень, інфекційна активність в культурі клітин СНЕВ антигенів референтних штамів ентеровірусів свиней коливалась в межах від 8,5 до 10,0 Іг ТЦД₅₀/см³.

Після одержання сироваток, в них додавали пеніцилін та стрептоміцин, розфасовували в об'ємі 2 см³ і заморожували.

Результати визначення титрів віруснейтралізуючих антитіл в імунних сироватках кролів до референтних штамів ентеровірусів свиней зведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Титри віруснейтралізуючих антитіл в імунних сироватках кролів, одержаних на референтні штами ентеровірусів свиней (M±m, n=9)

№ п/п	Штам вірусу до якого одержана гіперімунна сироватка	Серотип	Титри віруснейтралізуючих антитіл в імунних сироватках кролів, log ₂	
			Контрольна схема	Експериментальна схема
			M±m	M±m
1	2	3	4	5
1	<i>Konratice</i>	1	7,33±0,19	7,89±0,16
2	<i>Talfan</i>	1	7,89±0,16	8,56±0,21
3	Перечинський – 642	1	8,56±0,21	8,0±0,09
4	Березнянський – 652	1	7,44±0,21	8,11±0,16
5	T-80	2	7,44±0,26*	8,89±0,16*
6	F 34	3	9,78±0,14	10,22±0,14
7	F 78	4	8,89±0,16*	9,78±0,14*
8	F 12	5	8,33±0,25	9,22±0,23
9	F 7	6	9,67±0,19	10,22±0,14
10	V-13	8	8,78±0,14	9,22±0,14
11	M 2323	10	7,22±0,14*	8,67±0,19*
12	K 9	11	7,89±0,25	8,78±0,22
13	K 22	12	8,89±0,16	8,33±0,18
14	L 90	13	8,0±0,09	8,56±0,21
15	M 116	14	8,11±0,16	8,78±0,22
16	Ч 73	15	8,22±0,22	9,11±0,16
17	Г 95	16	8,44±0,21	9,11±0,16
18	Б 111	17	7,89±0,25	8,67±0,25
19	Ч 184	18	9,0±0,09	8,56±0,21
20	Д 229	19	8,56±0,21	9,44±0,21
21	И 249	20	9,56±0,21	10,11±0,16
22	П 142	21	9,22±0,22	8,89±0,16
23	В 151	22	7,67±0,18	8,55±0,21
24	И 393	23	8,11±0,16	8,67±0,18

Примітка: різниця достовірна відносно контролю при P <0,05, * – P <0,001.

Титри віруснейтралізуючих антитіл в сироватках крові кролів коливались в межах 7–10 log₂. Встановлено, що суттєвої різниці між титрами антитіл специфічних сироваток, одержаних за контрольною та експериментальною схемами, не має. В основному титр антитіл в експериментальній схемі зростає, у порівнянні з контрольною, за винятком штамів вірусів “Перечинський-642”, К 22, Ч 184, П 142, де титр віруснейтралізуючих антитіл знизився в межах 0,5 log₂.

Висновки. Проведені дослідження показали, що при зменшенні інтервалу між ін’єкціями до 3 днів, титр віруснейтралізуючих антитіл збільшився на 0,5–1 log₂. Це дає можливість використовувати скорочену схему з метою зменшення часу імунізації та затрат на утримання лабораторних тварин, а також продовжити дослідження по розробленню нових схем, що зменшують гетерогенність типових властивостей імунних сироваток ентеровірусів свиней.

1. Инфекционные желудочно-кишечные болезни свиней/ Романенко В. Ф.// – М.: Колос, 1984. – С. 158.
2. Методы лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций/ Ворошилова М. К., Жевандрова В. Н., Балаян М. С.// – М.: Медицина, 1964. – С. 152.
3. Романенко В. Ф. Классификация энтеровирусов свиней/ О. Г. Прусс, Н. В. Бабич и др.// Вісник агр. науки. – 1993. – № 1. – С. 94.
4. Общая вирусология/ С. Лурия, Дж. Дарнелл. – М.: Мир, 1970. – С. 103.
5. Практикум з ветеринарної вірусології//В. Г. Скибицький, І. І. Панікар, О. А. Ткаченко та ін./ – К., Вища освіта – 2005, С. 83 – 90.
6. Virologische praxis/ Herausgegeben von G. Starke/ Jena. – 1968. – С. 111-117.

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК КРОЛЕЙ НА РЕФЕРЕНТНЫЕ ШТАММЫ ЭНТЕРОВИРУСОВ СВИНЕЙ/ Л. М. Музыкаина, В. И. Божок, Ю. И. Пущик, В. Ф. Романенко

В статье представлены результаты получения специфических сывороток кроликов на референтные штаммы энтеровирусов свиней по двум схемам. Использование сокращенной схемы позволяет сократить время иммунизации и затраты на содержание лабораторных животных при увеличении титров антител в полученных сыворотках.

Ключевые слова: энтеровирусы, специфические сыворотки, референтные штаммы.

SPECIFIC RABBIT SERA PRODUCTION FOR THE REFERENCE STRAINS OF ENTEROVIRUSES OF SWINE

The article represents data of specific rabbit sera production for the reference strains of enteroviruses of swine in accordance with two schemes. Application of the abridged scheme allows saving immunization time and cut of test animals housing expenses under circumstances of antibody titres increase in the obtained sera.

Key words: enteroviruses, specific rabbit sera production, strains of enteroviruses

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **О. О. Тарасов**