ність та специфічність позитивного та негативного антигенів, активність та специфічність позитивної та негативної сироваток повністю відповідає вимогами ТУ У 24.4-00497087-038.

3. Позитивні компоненти тест-системи специфічні та активні, що дозволяє виявляти антитіла до авіаденовірусу курей першого серотипу.

Список літератури

1. Сюрин, В.Н. Вирусные болезни животных. / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьёв, Н.В. Фомина // Москва, ВНИТИБП, С. 928. ***2.*** Коровин, Р.Н. Аденовирусные инфекции сельскохозяйственной птицы. / Р.Н. Коровин, И.К. Рождественский // Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1990. – С. 79. ***3.*** Справочник ветеринарного врача птицеводческого предприятия / Н.В. Кожемяка, Ф.С. Кудрявцев, Г.А. Грошева // М.: Колос, 1982. – 303 с. ***4.*** Бакулин, В.А. Патоморфогенез и дифференциальная диагностика болезни Гамборо, аденовирусной инфекции и других иммунодепрессивных болезней птиц. / В.А. Бакулин // (приложение к т. 1(48) «Архив ветеринарных наук»), Санкт-Петербург, Ломоносов, 1998, С. 322. ***5.*** Dottori, M. Su alcuni episodi di adenovirosi in piccioni viaggiatori / M. Dottori. D. Gelmetti; A. Lavazza; S. Perini; C. Gambetti // Selez.veter., 1999. N 8/9, – P. 647-651

The development of test-system «The kit for diagnosis FOWL ADENOVIRUS INFECTION 1 SEROTYPE IN AGID»

Stegniy B.T., Tkachenko S.V., Muzyka D.V.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv,

Borsuk A.M.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Microorganism Strains, Kyiv

The development of test-system «The kit for diagnosis of fowl adenovirus 1 serotype in reaction of AGID » are carried out. Several experimental series of the kit are prepared. Commission investigations are conducted. By their results, the kit registers on the territory of Ukraine.

УДК 57.043;578.71

ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ ВИРУСОВ В МЕХАНИЗМЕ ИХ КРИОПОВРЕЖДЕНИЙ

Стегний М.Ю.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

Важной задачей для понимания механизмов криоповреждения вирусов является выявление значения в этих процессах нарушения их ультраструктуры. Применение современных электронно-микроскопических методов позволяет оценить структурные нарушения морфологии вирионов, которые могут быть вызваны тем или другим фактором внешней среды [2]. Перестройки и повреждения ДНК или РНК вирусов могут быть причиной перерождения биологического материала с дальнейшей сменой его свойств. Одним из наиболее информативных методов выявления этих нарушений является электронно-микроскопический. Целью наших исследований было: оценить роль нарушений структурной целосности вирионов, в частности, вирусных оболочек и нуклеокапсида в механизме криоповреждений вирусов инфекционного бронхита кур (ИБК). Вирус ИБК относится к семейству коронавирусов роду коронавирус, обладает тропностью к эпителиальным клеткам дыхательных путей почек и репродуктивных органов цыплят и кур [3, 5]. Впервые этот вирус был выделен в США в 1936 году. Занимает важное место в инфекционной патологии птицы не только по причине потери поголовья в процессе острой вирусной инфекции, но и за счет снижения яйценоскости кур репродуктивного возраста [4].

Материал и методы исследований. Изучение ультраструктуры проводили методом негативного контрастирования препаратов вируса инфекционного бронхита кур (штамма Массачуссетс), полученного из коллекции вирусов отдела изучения болезней птиц ННЦ «ИЭКВМ». Для выявления структурных изменений, вызванных замораживанием-оттаиванием применяли электронно-микроскопические методы исследований. Электронно-микроскопическим исследованиям подвергали размороженные образцы, которые замораживали и хранили криоконсервированными на протяжении от трех суток до 8 с лишним лет в условиях умеренно-низкой (-20єС), низкой (-70єС) и температуры жидкого азота (-196єС). Размораживание осуществляли медленно или в течение 1-2 минут на водяной бане при температуре 38-39єС. Для проведения електронно-микроскопических исследований методом негативного контрастирования были использованны медные сетчатые платформы, которые покрывали формваровой пленкой. Адсорбция вирусных частиц, предварительно очищенных в градиенте плотности сахарозы [1], на пленки-подложки проводилась в течение 3-5 минут. Контрастирование полученных вирусных препаратов осуществляли с помощью фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК) по общепринятой методике. Исследования были проведены на электронном микроскопе ПЭМ-125 с инструментальным увеличением 60-100 тысяч раз.

Результаты и обсуждение. Электронно-микроскопические исследования показали наличие большого количества округлых, эллиптических и полиморфных вирионов размером 90-160 нм в образцах, которые хранились от трех суток до трех с половиной месяцев при температурах минус 20єС и минус 70єС. При этом ультраструктура вирионов была представлена двуслойной липопротеидной оболочкой с булавовидными отростками размером до 20 нм, которые образуют подобие солнечной короны и нуклеокапсидом, составлявшим от 80 нм в диаметре (рис.1). Наличие вирусных частиц с поврежденной липопротеидной оболочкой составляло приблизительно 5-7 % от всего количества имевшихся вирионов.

Анализ электронограмм вирусов, которые хранились на протяжении 6 лет в вышеуказанных условиях, показал наличие полиморфных вирионов с хорошо представленой двуслойной липопротеидной оболочкой, но гликопротеидные отростки, которые формируют подобие солнечной короны, практически отсутствовали (рис.2). Встречались лишь единичные вирионы с сохранившейся короной из гликопротеинов, содержащих гемагглютининэстеразный протеин (НЕ). Следует отметить также возрастающее число (около 40 % от общего количества вирионов) позитивно контрастированных капсидов вирусных частиц в результате длительного, в течение 6 лет, хранения вирусных суспензий в условиях умеренно-низкой температуры (-20єС). В

то же время контрастирование липопротеидной оболочки вирионов в процессе длительного хранения изменялось с позитивного на негативный. Таким образом, електронно-микроскопические исследования показали, что электрический заряд вирусных частиц за счет которого происходит и адсорбция определенного количества вирионов на клеточной мембране изменяется в процессе их длительного хранения. Можно предположить, что в процессе длительного хранения вируса ИБК происходит дестабилизация структуры вирионов за счет конформационных изменений, связанных с внутримолекулярной подвижностью структурных компонентов молекул белка.

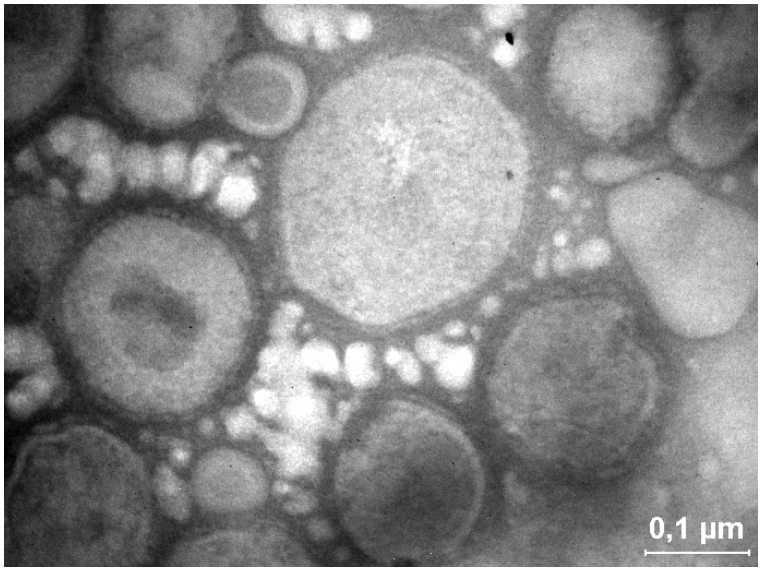

Рис. 1 Морфология и ультраструктура вируса ИБК из образцов, хранившихся при температуре минус 20°С в течение трех месяцев.

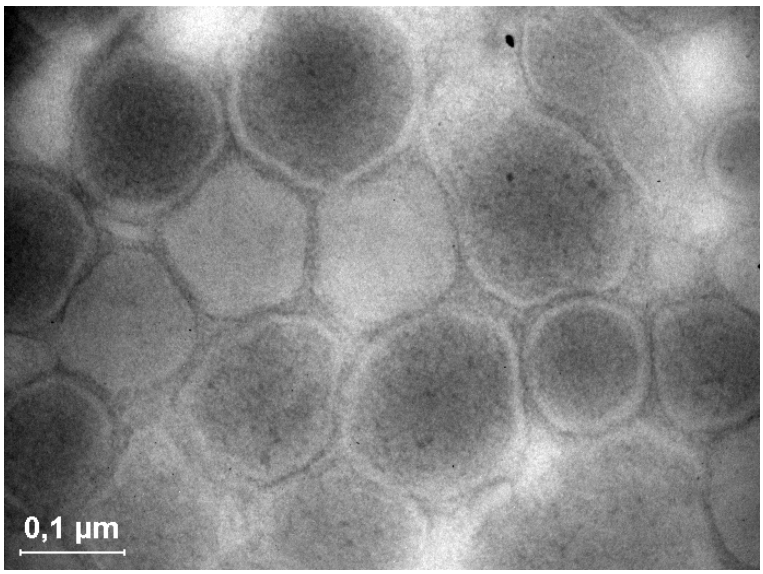

Рис. 2 Морфология и ультраструктура вируса ИБК из образцов, хранившихся при температуре минус 20°С в течение шести лет

Электронно-микроскопические исследования образцов вируса ИБК штамма Массачуссетс АМ, которые хранились на протяжении 8 лет показали выраженное увеличение количества вирионов, имеющих положительно заряженный капсид (более 50 %) и отрицательно заряженную липопротеидую оболочку (рис. 3). Однако степень сохранения ультраструктуры вирионов при этом в образце неодинакова, что позволяет предположить наличие гетерогенних популяций вирусов с различной криоустойчивостью даже в пределах одного штамма; поскольку наряду с вирусными частицами, утратившими гликопротеидные отростки встречаются популяции вируса с сохранившейся ультраструктурой и сохранившимся электричесим зарядом. Об этом свидетельствует как позитивно контрастирования двуслойная мембрана липопротеидной оболочки отдельных вирионов, так и негативно контрастированный капсид (Рис. 4).

При этом количество вирусных частиц с нарушенной целостностью липопротеидной оболочки в исследованных полях зрения образцов, хранившихся более 8 лет не превышало 10 %.

Выводы. Результаты проведенных исследований показали выявленные на электронограммах ультраструктурные изменения вируса ИБК при длительном хранении в условиях умеренно-низкой температуры минус 20єС, которые выражались потерей гликопротеидной «короны» у большинства вирионов и конформационной дестабилизацией структурных компонентов вирусных белков оболочки и капсида.

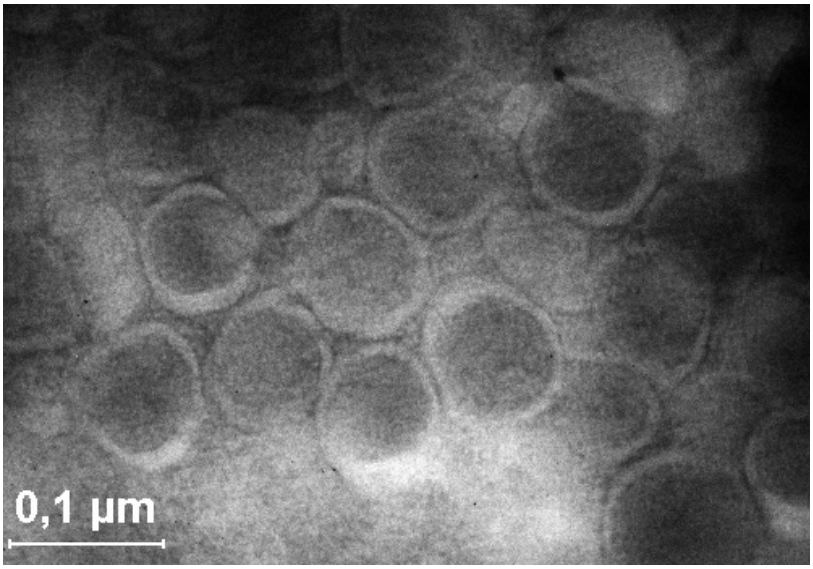

Рис. 3 Морфология и ультраструктура вируса ИБК из образцов, хранившихся при температуре минус 20°С в течение восьми лет

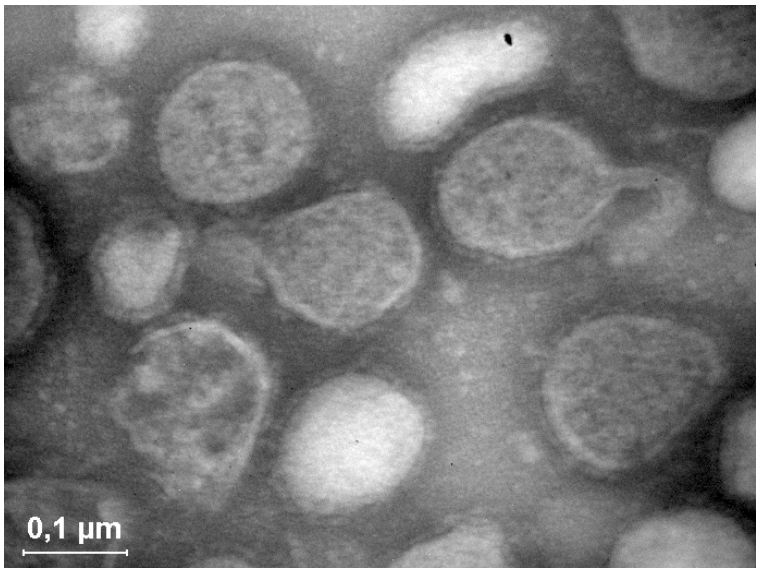

Рис. 4 Разнообразие морфологии и ультраструктуры вируса ИБК из образцов, хранившихся при температуре минус 20°С в течение восьми лет.

Список литературы

1. Бочков, Ю.А., Дрыгин, В.В., Хлыбова, Т.В. Очистка и концентрирование вируса инфекционного бронхита кур //Проблемы инфекционной патологии с.-х. животных: Тез.докл.конф. – Владимир,1997. – С. 152. ***2.*** Пономарев, А.П. Структурно-функциональные аспекты строения изометрических вирусов животных //Вестник РАСХН.-2001. №4. – С. 10-13. ***3.*** Самуйленко, А.Я., Непоклонов, Е.А., Соловьев, Б.В. Инфекционная патология животных В 2 т. – М.; ИКЦ «Академкнига». 2006.Т.1. – 1911 с. ***4.*** Сюрин, В.Н., Самуйленко, А.Я., Соловьев, Б.В. Вирусные болезни животных [Текст] / [и др.]. – М., 1998. – 928 с. ***5.*** Virus Taxonomy. The classification and Nomenclature of viruses: The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses/ M.H.V.van Regenmortel et al. SanDiego. Academic Press, – 2000. – 1167 p.

SIGNIFICANCE OF DAMAGES OF VIRUS ULTRASTRUCTURAL CONTINUITY IN MECHANISMS OF ITS CRYOINJURIES

Stegniy M.Yu.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Results of electron microscopic investigations of infectious bronchitis virus of chickens from the collection of NSC "IECVM", of different shelf life at medium low and low temperatures are presented in the article. Damages of ultrastructure of varions and mechanisms of its cryoinjuries are determined.