УДК 619:636.1

ВИКОРИСТАННЯ ОРГАНІЗМУ КРОЛЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ ДО ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ КОНЕЙ ДРУГОГО ТИПУ

М.Л. Радзиховський, кандидат ветеринарних наук
Житомирський національний агроекологічний університет

Наведено дані щодо 5-разової внутрішньовенної імунізації кроля з інтервалом 4 доби впродовж 20-ти діб культуральним антигеном щодо герпесвірусної інфекції другого типу у коней, що дало змогу отримати гіперімунну сироватку, придатну для постановки серологічних реакцій.

Герпесвірусна інфекція другого типу, організм кроля, культура клітин, титр антитіл.

Конярство є однією із найважливіших галузей сільського господарства України. Останнім часом внаслідок інтенсивного ведення конярства спостерігається тенденція до поширення латентного перебігу інфекційних захворювань. Серед них найпоширенішими є герпесвірусні інфекції коней [1].

Значною проблемою для фахівців ветеринарної медицини, що обслуговують конегосподарства є захворювання системи органів дихання, які спричиняються герпесвірусом другого типу (ГВК-2), та є актуальною проблемою у багатьох країнах світу. Зявившись у конегосподарстві вперше, інфекція набуває характер стаціонарної. Згодом перебіг захворювання ускладнюється секундарною мікрофлорою: як наслідок – з'являються тяжкі пневмонії, після чого тварина гине. Тому у системі заходів, спрямованих на боротьбу з ГВК-2 важливе значення мають швидкі і точні методи лабораторної діагностики [1, 3, 7].

© М.Л. Радзиховський, 2013

На сьогодні для діагностики герпесвірусів коней використовуються такі реакції - реакція нейтралізації (РН), реакція імунофлуоресценції (РІФ), реакція затримки гемаглютинації (РЗГА), полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), реакція зв'язування комплементу (РЗК), реакція дифузійної преципітації (РДП), імуноферментний аналіз (ELISA-метод) [3, 4]. Для діагностики герпесвірусу другого типу (ГВК-2) у Європі використовується ПЛР [1, 2].

В Україні лабораторна діагностика ГВК-2 проводиться на досить низькому рівні [6]. У зв'язку із викладеним, удосконалення лабораторних методів діагностики ГВК-2, є актуальним питанням ветеринарної науки і практики.

Мета дослідження – вивчення можливості використання організму кроля як лабораторної моделі для отримання гіперімунної сироватки придатної для постановки серологічних реакцій як контролю на наявність антитіл щодо ГВК-2

Матеріали і методи дослідження. Робота виконувалася на факультеті ветеринарної медицини, у навчально-дослідній лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології Житомирського національного агроекологічного університету.

Специфічну гіперімунну сироватку для постановки РДП отримували на 5 кролях, яких імунізували внутрішньовенно клоном вірусу "ГВК-2 ТТ".

Результати дослідження. Імунізацію кролів проводили 5 разів, з інтервалом 4 доби, вводячи внутрішньовенно по 1,5 $см^3$ суспензії вірусу у периферійні судини вуха.

Вірусовмісний матеріал отримували із зараженої перещеплювальної культури трахеї теляти, яка мала на 9-ту добу 90 % ЦПД. Вірусовмісний матеріал переморожували три рази, внаслідок чого відбувалося руйнування клітин і вихід з них вірусу (руйнування, "лопання" клітин відбувається завдяки різкому розморожуванню за температури +37,5 ^{0}С). Вірусовмісний матеріал центрифугували протягом 10 хв при 2 тис. об/хв. Надосадову рідину відбирали і проводили постановку РГА. При титрі антигену в РГА не менше 1:4 (рис. 1) використовували його для імунізації кроля.

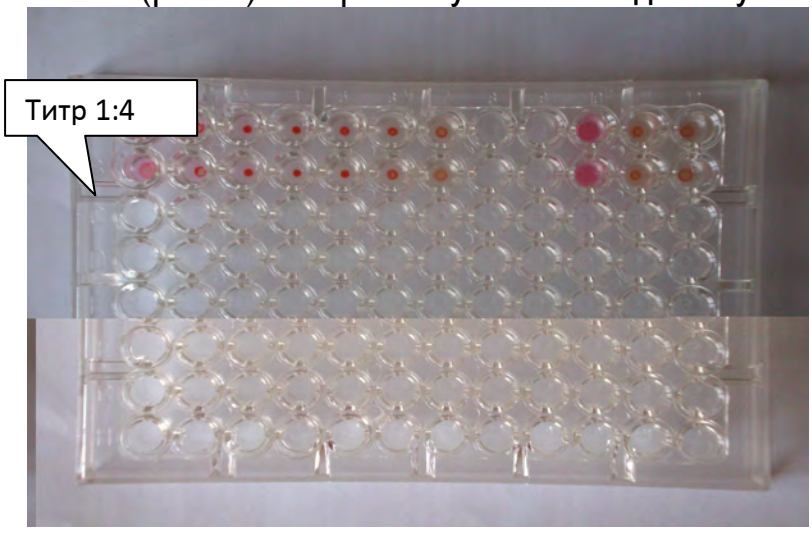

Рис. 1. Постановка РГА

Через 7 діб після останньої імунізації кроля проводили відбір проб крові для отримання сироватки.

Отримані сироватки змішували, давали мертіолат 1:10000, для запобігання розвитку вторинних збудників, визначали титр і зберігали до використання замороженими.

Кожні 4 доби після імунізації проводили забір проб сироваток крові з периферійних судин і визначили титр антитіл у реакції дифузійної преципітації.

Титр антитіл у гіперімунній сироватці залежно від періоду імунізації наведено на рис 2.

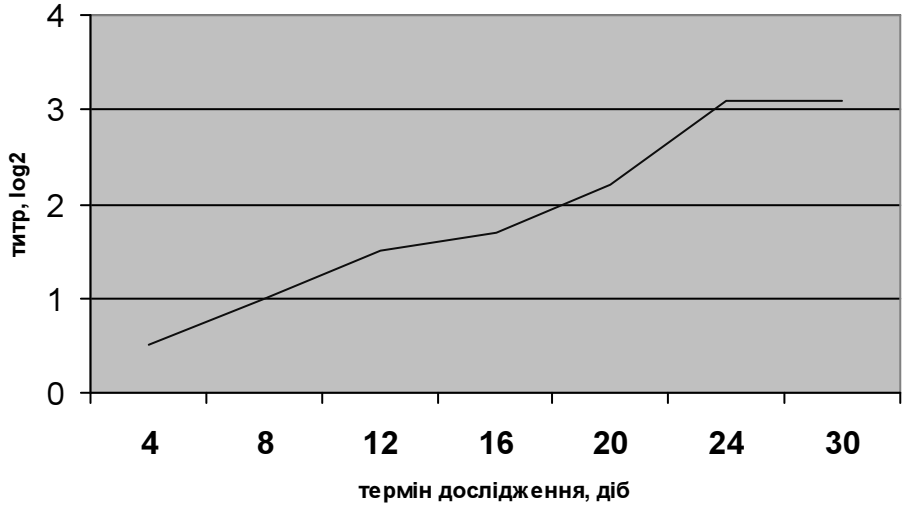

Рис. 2. Динаміка вмісту антитіл у сироватці крові кролів (РДП)

З рис. 2 видно, що на 24- та 30-ту добу після проведення гіперімунізації титр специфічних антитіл до ГВК-2 становив 1:8 або $3\log_2$. Такий титр достатній для постановки РДП. Отже, ця схема імунізації дає змогу отримувати діагностичні сироватки, що придатні для постановки РДП.

Після того, як було визначено оптимальний рівень антитіл у сироватці крові проводили забір крові з серця і використовували отриману сироватку для моніторингових досліджень у РДП.

Внутрішньовенна імунізація кролів вірусовмісною культуральною рідиною у дозі 1,5 $см^3$ з інтервалом 4-и доби впродовж 20-ти діб дають змогу на 27 – 34 добу отримувати гіперімунну сироватку, придатну для постановки серологічних реакцій.

Висновки

1. Оптимальною лабораторною твариною для отримання гіперімунної сироватки щодо ГВК-2 є організм кроля.

2. Оптимальним методом імунізації кроля є – 5 разів, з інтервалом 4 доби впродовж 20 діб, вводячи внутрішньовенно по 1,5 $см^3$ суспензії вірусу.

3. Для постановки серологічних реакцій найоптимальнішим було використання сироватки після 27–34 діб після імунізації організму кроля.

Перспективи досліджень. Подальша робота буде спрямована на проведення моніторингових досліджень щодо розповсюдження герпесвірусної інфекції другого типу на території України, удосконалення існуючих і розробка нових методів діагностики цієї патології.

Список літератури

1. Галатюк О.Є. Заразні хвороби коней / Галатюк О.Є. – Житомир: Волинь, 2003. – 273 с.
2. Потоцький М.К. Герпесвірусні інфекції коней / М.К. Потоцький Ветеринарія. – 2003. – № 7. – С.24.
3. Робинсон Э. Герпесвирусные инфекции. Болезни лошадей, современные методы лечения / Робинсон Э. – М., 2007. – С. 66–70.
4. Сюрин В.Н. Ринопневмония: Справочник. Диагностика вирусных болезней у животных / Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. М.: Агропромиздат, –1991. – С. 130–141.
5. Юров К.П. Респираторные болезни лошадей / К.П. Юров // Ветеринария. – 2003. – № 6. – С.6–8.
6. Official site of O.I.E. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: URL:http://www.oie.int/eng/en_index.htm.
7. Prevalence of equine herpesvirus types 2 and 5 in horse populations by using type – specific PCR assays / A. Nordengrahn, M. Mereza at al. // Received. 4 January 2002.-P. 251-259.

Представлены данные о том, что пятикратное внутривенное введение кролю с интервалом 4 дня в течение 20-ти дней культурального антигена к герпесвирусной инфекции второго типа у лошадей дало возможность получить гипериммунную сыворотку, пригодную для проведения серологических реакций.

Герпесвирусная инфекция второго типа, организм кроля, культура клеток, титр антител.

In the article information is presented about that to five multiple intravenous introduction rabbit with an interval 4 days during the 20-ti days of cell culture antigen to the gerpesviridae infection of the second type for horse enabled to get a hyperimmune whey suitable for the leadthrough of serum reactions.

Equine gerpesviridae 2 - type, organism of rabbit, cell culture, title of antibodies.