

ПЕРВИННА ІЗОЛЯЦІЯ ВІРУСУ ЧУМИ М'ЯСОЇДНИХ ВІД СОБАК

Проведена первинна ізоляція БН-3, БП-8, ЭН-5 вірусу чуми м'ясоїдних на куриних ембріонах 9-добової інкубації, яка супроводжувалась типовими патологічними змінами. Ізоляти БН-3, БП-8, ЭН-5 володіють гемаглютинуючою активністю відносно 1% зависі еритроцитів півня на рівні 5,0 log, 2,0 log, 5,0 log відповідно.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень

Репродукція вірусу чуми м'ясоїдних успішно відбувається у різних біосистемах. Для розмноження штамів вірусу проводять адаптацію до куриних ембріонів, первинно-трипсинізованих та перещеплювальних культур клітин різного походження [5].

Вірус порівняно швидко (через 3–5 пасажів) адаптується до куриних ембріонів при інокуляції на хоріоантаноїсну оболонку (ХАО) і жовтковий мішок. Його репродукція супроводжується набряком ХАО та утворенням на ній світло-сірих вузликів розміром з просяне зерно або тяжів [1, 6].

О.Наіг та ін. (1948) були першими дослідниками, яким вдалось серійно пасажувати штам Ondersferpoort на куриних ембріонах, заражених на ХАО. Значне потовщення оболонки та появу на ній сірих фокусів спостерігали, починаючи з 9-го пасажу [4].

Штами, адаптовані до куриних ембріонів, розвиваються в культурі клітин HeLa, Нер та інших. Титр адаптованих штамів вірусу в культурі клітин досягає максимуму на 8–9-й день і становить 10^5 – 10^6 ТЦД₅₀ мл⁻¹. Вірус

розмножується в культурі альвеолярних макрофагів легень собак. Через 2–6 днів у зараженій культурі формуються характерні круглі багатоядерні гігантські клітини, які через 1–2 тижні зникають, а на їх місці залишаються синцитії неправильної форми. Вірус утворює бляшки у фібробластах куриних ембріонів [2].

В імунологічному відношенні штами вірусу чуми, що виділені від хворих собак, однорідні та відрізняються лише за вірулентністю. Проте за походженням і деякими біологічними особливостями їх можна поділити на 2 підгрупи: класичні та варіантні [2].

Окремі штами вірусу здатні аглютинувати еритроцити курей. Є повідомлення про часткову гемаглютинацію еритроцитів курчат і морської свинки [3].

Мета дослідження

Первинна ізоляція вірусу від собак з клінічними ознаками чуми на куриних ембріонах та визначення їх гемаглютинуючих властивостей.

Матеріали і методи

Досліджували кров'яні згустки та змиви зі слизових оболонок хворих, з підозрою на чуму, собак (БН-3 – від німецької вівчарки, 3 роки, щеплена одноразово у віці до 1 року «Біовак Д», легенева форма, $t = 40,3\text{ }^{\circ}\text{C}$; БП-8 – від безпородної, 8 місяців, нещеплена, легенева форма, $t = 40,3\text{ }^{\circ}\text{C}$; ЭН-5 – від німецької вівчарки, 5 місяців, нещеплена, нервова форма, $t = 40,2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Як вірусвміщуючий матеріал використовували кров'яні згустки (БН-3_к, ЭН-5_к) та змиви зі слизових оболонок (БН-3_з¹, БП-8_з¹, ЭН-5_з¹).

Ізоляцію вірусу проводили з використанням куриних ембріонів 9-добової інкубації, які інфікували на ХАО в об'ємі 0,2 мл після обробки матеріалу за загальноприйнятою методикою підготовки змивів та згустків крові для вірусологічних досліджень [7]. Для контролю залишали інтактні курині ембріони.

Гемаглютинуючу властивість ізолятів визначали у РГА з 1 %-ною сумішшю еритроцитів півня [7].

Результати досліджень

Первинну ізоляцію вірусу чуми м'ясоїдних проводили на куриних ембріонах: БН-3, БП-8 по 2 пасажі та 3 пасажі ЭН-5.

Індикація збудника чуми м'ясоїдних у досліджуваних матеріалах із використанням куриних ембріонів 9-добової інкубації за патологічними ознаками, індукованими вірусвміщуючими зразками, дозволяє стверджувати про його наявність.

Впродовж послідовних пасажів були виявлені коливання інтенсивності патолого-анатомічних змін у куриних ембріонах, які відображені на рисунках 1, 2.

У 1-му пасажі в ЭН-5, спостерігали потовщення ХАО з утворенням тяжів у 100 % інфікованих ембріонів, набряк та гіперемію ХАО – у 100 %, крововиливи на ХАО – у 60 %. Причому зі збільшенням кількості пасажів відбувалося зменшення відсотка деяких патолого-анатомічних змін. Так у 3-му пасажі ці дані склали 80, 80, 33 % відповідно, тоді як у ізолятив БН-3, БП-8, зі збільшенням кількості пасажів спостерігали підвищення інтенсивності патолого-анатомічних змін. На рисунках 1, 2 наведені дані пасажування вірусвміщуючого матеріалу, отриманого зі змивів та кров'яних згустків.

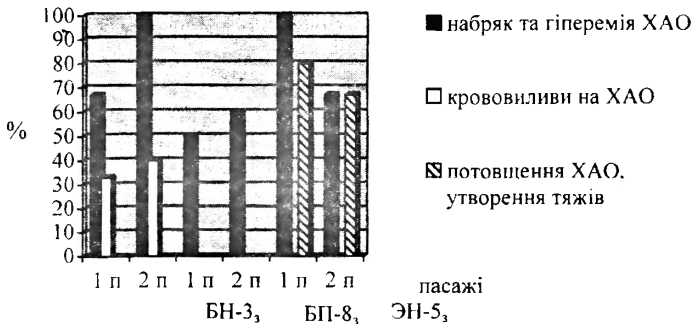


Рис. 1. Характерні зміни на ХАО, інфікованої змивами від хворих собак

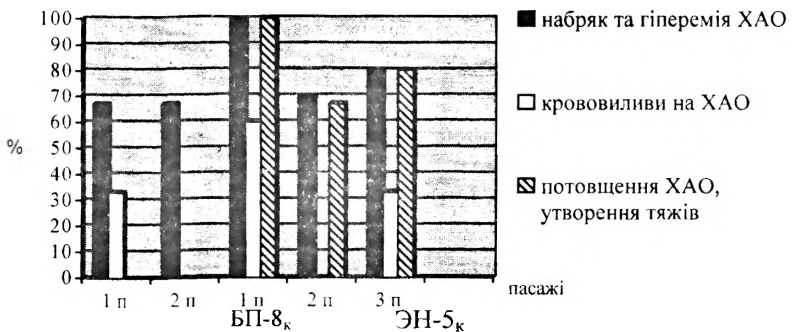


Рис. 2. Характерні зміни на ХАО, інфікованої матеріалом із кров'яного згустка від хворих собак

При порівнянні впливу вірусеміщуючого матеріалу від хворих собак на появу патологічних змін відмітили, що найбільший відсоток спостерігали у ембріонах, інфікованих матеріалом, отриманим з кров'яного згустка. Вірусеміщуючий матеріал БП-8_к, ЭН-5_к, на відміну від БП-8_з, ЭН-5_з, додатково індукував ще крововиливи на ХАО (33 та 60 % відповідно).

Крім змін на ХАО, у куриних ембріонах, інфікованих БН-3, БП-8, ЭН-5, спостерігали неправильне положення ембріона (від 20 до 80 %), крововиливи на тілі зародка (40–100 %), гіперемію легень та серця (до 100 %) та глинистий колір печінки (40–100 %).

Визначали властивість ізолятів БН-3, БП-8, ЭН-5 гемаглютинувати 1 % еритроцити півня. Найбільший титр вірусу реєстрували у змивах: БН-3_з (5,0 log), ЭН-5_з (5,0 log). Тоді як у кров'яному згустку – ЭН-5_к (4,0 log). Кількість пасажів впливає на гемаглютинуючий титр. Так у БН-3_з, ЭН-5_{к з} спостерігали зменшення титру, тоді як у БП-8_{к з} – збільшення (рис. 3).

В подальшій роботі планується пасажування даних ізолятів на куриних ембріонах (до 10 пасажів), вивчення впливу на первинно-трипсинізовану (ФКЕ) та перешеплювальну культуру клітин Vero, а також на гемаглютинуючу активність 0,5–1 %-ної суміші еритроцитів морської свинки та курчат.

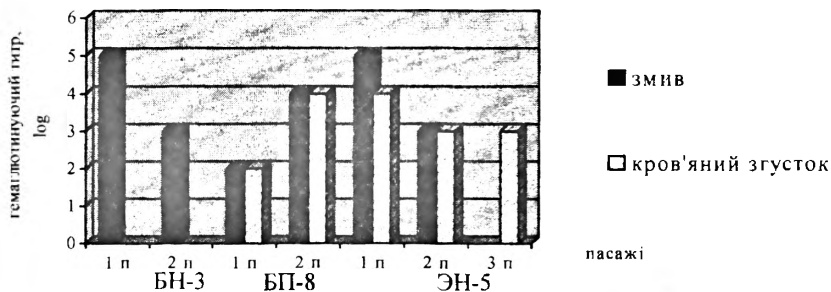


Рис. 3. Гемаглютинуючі властивості ізолятів БН-3, БП-8, ЭН-5

Висновки

1. Первинна ізоляція вірусу від хворих собак з ознаками легеневої та нервової форм чуми супроводжувалась типовими патолого-анатомічними змінами ХАО та зародка.

2. При інфікуванні куриних ембріонів матеріалом із кров'яного згустка патологічні зміни були більш виражені, порівняно до змін, індукованих матеріалом зі змивів.

3. Матеріал, відібраний від собаки з ознаками нервової форми чуми (ЭН-5), індукував найбільш інтенсивні зміни в куриних ембріонах, на відміну від БП-8, БН-3, в яких спостерігали легеневу форму.

4. Ізоляти БН-3, БП-8, ЭН-5 володіють гемаглютинуючою активністю відносно 1 % завісі еритроцитів півня на рівні 5,0 log, 2,0 log, 5,0 log відповідно, яка не є стабільною впродовж пасажів.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження слід спрямувати на вивчення можливості застосування виділеного ізоляту як вакцинного штаму.

Література

1. *Белов А.Д., Данилов Е.П.* Болезни собак. – М.: Колос, 1995. – С. 259–273.
2. *Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомин Н.В.* Вирусные болезни животных. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 268–283, 559–569.
3. *Соловей А.С.* Лабораторные методы исследования. – М., 1954. – С. 473–476.
4. *Корнієнко Л.Є.* Чума м'ясоїдних. – Біла Церква, 2000. – 129 с.
5. *Герман В.В., Пархоменко Л.И., Голубев О.В.* Використання зародків курей у вірусологічних дослідженнях: Методичні рекомендації. – Луганськ: Луганський національний аграрний університет, 2003. – С. 32.
6. *Evans M.B., Bunn T.O., Hill H.T., Platt K.B.* Comparison of in vitro replication and cytopathology caused by strains of canine distemper virus of vaccine and field origin / J Vet Diagn Invest. – 1991. – 3(2). – Pp. 127–32.
7. *Троценко Н.И., Белоусова Р.В., Преображенская Э.А.* Практикум по ветеринарной вирусологии. – М.: Колос, 1999. – 270 с.