

## THE ROLE OF VACCINATION IN THE PREVENTION OF VECTOR-BORNE VIRAL DISEASES IN RABBITS

Novitska O.V., Hulyanych M.M.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

The result of the study of the influence of monovalent vaccine against viral hemorrhagic disease of rabbits on the physiological and immunological status of the vaccinated animals in comparison with associated vaccine from different manufacturers are presented in the paper.

УДК 619:616.98:578.842.1

## КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, ВЫДЕЛЕННОГО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И РЕСПУБЛИКЕ АБХАЗИЯ

Прудникова Е.Ю., Неверовская Н.С., Бальшева В.И.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук, г. Покров, Российская Федерация

Аншба Э.А.

Государственная ветеринарная служба Республики Абхазия

Несмотря на достигнутые успехи ветеринарной науки и практики в борьбе с инфекционными болезнями, они продолжают причинять большой экономический ущерб многим странам мира. К таким болезням относится африканская чума свиней (АЧС), которая стала особенно актуальной для России после ее заноса в Республику Чечня из Грузии в 2007 году [1]. В последующие годы АЧС регистрировали в 11 регионах Северо-Кавказского и Южного Федеральных Округов, а также в Мурманской, Саратовской, Курской, Архангельской, Нижегородской, Ленинградской, Ивановской, Тверской, Курской и Воронежской областях [5]. Последние случаи болезни были установлены в декабре 2011 г. у кабанов в Волгоградской и Тверской областях [6].

В связи с особенностями биологических свойств возбудителя болезни, средства специфической профилактики при АЧС не разработаны как в России, так и в зарубежных странах. Многочисленные попытки получить инактивированную вакцину не увенчались успехом, а аттенуированные штаммы, которые применялись при изготовлении живых вакцин, оказались реверсидельными и вызывали заболевание и гибель привитых животных [2].

Поэтому работы ученых в последние годы направлены на детальное изучение молекулярных механизмов патогенеза и иммуногенеза болезни, биохимии и репродукции вируса *in vivo* и *in vitro* с использованием изолятов вируса АЧС, обладающих различными иммунобиологическими характеристиками. При проведении таких исследований широко используют культуральный вирус-содержащий материал, который, как правило, получают в культурах клеток свиного происхождения.

Цель работы – изучить культуральные свойства некоторых изолятов вируса АЧС, выделенных в Российской Федерации и Республике Абхазия в 2007-2011 гг., и оптимизировать условия получения вирусосодержащего материала в культурах клеток костного мозга свиней (КМС) и лейкоцитов свиней (ЛС).

**Материалы и методы:**

– изоляты вируса АЧС, выделенные в 2007-2011 гг. из патологического материала, поступившего из Республики Абхазия, Кабардино-Балкарии (КБР), Ставропольского края, Волгоградской, Астраханской и Мурманской областей;

– культуры клеток КМС и ЛС, выращенные в пробирках Лейтона, чашках Карреля, клинских матрасах и пластиковых 24 луночных планшетах;

– типоспецифические задерживающие гемадсорбцию (ГАд) референс-сыворотки к вирусу АЧС 1-8 серотипов.

Культуры клеток просматривали под инвертированным микроскопом «Olympus» или МБИ-2.

Клетки КМС получали из эпифизов крупных трубчатых костей (бедренной, берцовой, лучевой, плечевой), лейкоциты свиней – из дефибрированной крови здоровых подсвинков живой массой 30-45 кг [3, 4].

Инфекционную активность исследуемых материалов определяли титрованием в культуре клеток КМС и ЛС общепринятым методом. Учет титрования проводили по феномену ГАд, основанному на адсорбции эритроцитов свиней на инфицированных вирусом АЧС клетках [4].

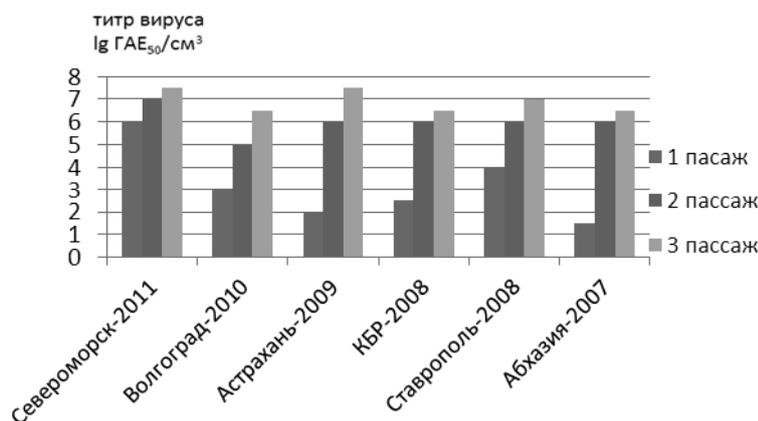
Типовую принадлежность исследуемых материалов определяли в реакции задержки гемадсорбции (РЗГАд), которую ставили согласно Методическим положениям по типизации вируса АЧС в реакции задержки гемадсорбции (Покров, 2010).

**Результаты исследований.** Все исследуемые изоляты вируса АЧС размножались в культурах клеток КМС и ЛС с проявлением ГАд, которую наблюдали через 48-120 часов после инфицирования клеток с последующим их лизисом через 48-72 часа. Титр вируса в исходных, поступивших на исследование, материалах варьировал от 1,5 до 5,0 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. В последующих пассажах накопление вируса АЧС в культурах клеток КМС и ЛС достигало 6,0-7,0 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. У изолята Североморск, выделенного в Мурманской области титр вируса был несколько выше и на уровне 3-го пассажа достигал 7,5 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

На поверхности инфицированных вирусом АЧС клетках отмечали «плотную» гемадсорбцию, характеризующуюся многослойным прикреплением к пораженным клеткам эритроцитов свиней, в результате чего они напоминали вид красных ягод малины. В течение первых 24-48 часов эритроциты прочно удерживались на клетках и не отделялись при встряхивании. Как правило, плотная ГАд характерна для вирулентного вируса АЧС, что было подтверждено нами в последующих опытах при изучении патогенных свойств испытуемых изолятов на свиньях.

В крови павших после постановки биопробы животных титр вируса составлял 7,0-8,5 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. При этом более высокое накопление вируса было у свиней, павших при заражении изолятом Североморск (8,5 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>).

Оптимальными условиями выращивания вируса АЧС в культурах клеток костного мозга и лейкоцитов свиней являлись: посевная концентрация клеток 3,0-3,5 млн/см<sup>3</sup> (костный мозг) и 6,0-7,0 млн/см<sup>3</sup> (лейкоциты); питательная среда- 0,1 % ГЛА на солевом растворе Эрла с 10,0 % сыворотки крови свиней; длительность выращивания культуры клеток до заражения 48-72 часа; заражающая доза 0,1-0,5 ГАЕ/кл без адсорбции вируса на клетках и смены питательной среды; культивирование вируса при 37 °С 96-120 час. (не менее 3-5 клеток со специфической гемадсорбцией в поле зрения микроскопа). При этих параметрах выращивания накопление вируса АЧС в культурах КМС и ЛС составляло 6,5-7,0 lg ГАЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.



**Рис.** Накопление штаммов вируса АЧС в клетках КМС и ЛС

Одной из основных характеристик вируса АЧС, определяемой в РЗГАд с использованием культур клеток КМС и ЛС, является типовая принадлежность.

В настоящее время установлено наличие не менее 8 антигенных типов вируса АЧС, выделенных в различных регионах мира [1]. Это указывало на необходимость определения типовой принадлежности вируса АЧС циркулирующего в РФ и пограничных странах.

Было установлено, что выделенные в 2007-2011 гг. на территории Абхазии и РФ изоляты вируса АЧС – Абхазия-2007, Ставрополь-2008, КБР – 2008, Астрахань – 2009, Волгоград – 2010, Североморск – 2011 отнесены к 8 серотипу. Это свидетельствует об общности их происхождения и на отличие от вируса АЧС циркулировавшего в Европе (1 и 4 серотипы) и Латинской Америке (4 серотип) в 1957-1980 гг.

**Выводы.** Выделенные в 2007-2011 гг. в Российской Федерации и Республике Абхазия изоляты вируса АЧС являются гемадсорбирующими, без предварительной адаптации размножаются в культурах клеток КМС и ЛС в титрах 6,0-7,0 Ig GAЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. На основании РЗГАд они отнесены к 8 серотипу, что указывает на общность их происхождения и отличие от вируса АЧС циркулировавшего в Европе и Латинской Америке в 1957-1980 гг.

#### Список литературы

1. Балышев, В.М. Иммунобиологические и молекулярно-генетические свойства изолятов вируса АЧС, выделенных в Российской Федерации/ В.М. Балышев, Ю.Ф. Калантаенко, А.Н. Жуков и др. // Ориентированные фундаментальные исследования и их реализация в агропромышленном комплексе России: материалы научной конференции / РФФИ. – М., 2006. – С. 94-98.
2. Вишняков, И.Ф., Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики/ И.Ф. Вишняков, Ю.И. Петров, А.В. Киселев, Л.Л. Черятников// Проблемы разработки вакцины при африканской чуме свиней. Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: материалы научно-практической конференции / ВНИИВВиМ. – Покров, 1995. – С. 144-146.
3. Enjuanes, L. Titration of African Swine Fever Virus/ L. Enjuanes, A.L. Carrascosa, M.A. Moreno, E. Vinuela // J. gen. Virol. – 1976. – Vol. 32. – P. 471-477.
4. Malmquist, W. Hemadsorption and cytopathic effect produced by African swine fever virus in swine bone marrow and buffy coat cultures. W. Malmquist, D. Hay// J. Vet. Res. – 1960. – Vol. 21. – P. 104-108.
5. OJE// Bulletin, 2007-2010.6. OJE// Bulletin, 2011.

#### CULTURAL CHARACTERISTICS OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS ISOLATED IN THE RUSSIAN FEDERATION AND IN ABKHAZIA

**Proudnickova E.Yu., Neverovskaya N.S., Baluisheva V.I.**

*SRI National Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology  
of Russia of the RAAS, Pokrov, Russia*

**Anshba E.A.**

*State Veterinary Service of the Republic of Abkhazia*

*The paper deals with some cultural characteristics of African swine fever virus isolates, which were isolated in the Russian Federation and in the Republic of Abkhazia since 2007 to 2011, and with optimization of conditions required to prepare virus-containing material in porcine bone marrow or leucocyte cell cultures.*