

ТЦД₅₀/мл. В КК ПСГК-30 вирусные изоляты вызывали 90-100% ЦПД в течение 18–24 часов на 2–4 пассаже, в КК КСТ на 2–3 пассаже наблюдалось 90-100% ЦПД в течение 18–22 часов с инфекционным титром вируса 3 пассажа 4,5–5,75 lg ТЦД₅₀/мл. При изучении репродукции выделенных изолятов в IB-RS-2 наблюдали 100% ЦПД в течение 18–22 часов на 3–4 пассаже с титром инфекционности 4,5–6,5 lg ТЦД₅₀/мл. Кроме того, эпизоотические изоляты хорошо репродуцировались в КК Ch-91, где на 3–4 пассаже титр инфекционности составил 5,5–6,25 lgТЦД₅₀/мл, а также в КК ВНК-21 и RSK, где 100% ЦПД в течение 20–22 часов наблюдали через 2–4 пассажа соответственно.

Полученные данные могут свидетельствовать о близком родстве изолятов, что подтверждается и данными по изучению

филогенетического родства [5].

Закключение

Проведенные исследования показали, что все изученные эпизоотические изоляты вируса ящура, выделенные во время вспышек ящура в 2005–2006 гг. в Сибири и на Дальнем Востоке, относятся к типу Азия-1, являются родственными и хорошо репродуцируются в чувствительных клеточных культурах различного происхождения, применяемых в лабораторных исследованиях. Этот факт дает основание предполагать общее происхождение изолятов вызвавших вспышки. Все изученные изоляты вызывали 100% ЦПД через 2–6 пассажей с инфекционным титром в последнем пассаже от 4,0 до 7,5 lgТЦД₅₀/мл. Наименьшее количество пассажей для получения 100% ЦПД потребовалось при культивировании в КК ПСГК-30 и IB-RS-2.

Работа выполнена при поддержке гранта МНТЦ № 2538 р.

РЕЗЮМЕ

Приведены результаты исследований патматериалов, поступавших из очагов вспышек ящура типа Азия-1 в 2005–2006 гг., по определению специфического антигена вируса ящура, вирусовыделению с использованием клеточных культур, выявлению способности выделенных эпизоотических изолятов возбудителя к репродукции в различных клеточных линиях, используемых в вирусологической работе, а также наличия антител в сыворотках крови.

SUMMARY

In the paper the results of examinations of pathological samples received from FMD type Asia-1 outbreaks during 2005–2006 are shown. The samples were examined for FMD virus specific antigen and for presence of antibodies in blood sera. From the pathological samples the virus was isolated using cell cultures, and the recovered virus isolates were examined for reproducibility in different cell lines used in virology.

Литература

1. К.Н. Груздев, В.М. Захаров, А.М. Рахманов. Противозооотические мероприятия при заносе в Россию в 2005 г. ящура экзотического типа Азия-1 // Актуальные пробл. инфекционной патологии и иммунологии животных. Мат. междунар. научно-практ. конф., М, 2005. С. 66–68.
2. В.М. Захаров, Д.Г. Мусиев. Ящур типа Азия-1 в Китае // Ветеринария, 2005, № 9. С. 8–9.
3. А.А. Гусев, В.М. Захаров, Ж.А. Шаажо и др. Методические указания по выявлению и идентификации штаммов вируса ящура. Владимир, 2002. С. 31.
4. Т.А. Фомина, Е.В. Гусева. Лабораторная диагностика ящура и других болезней, протекающих с везикулярным синдромом: Обзор лит. ВНИИЗЖ, 1995. 43 с.
5. J.F. Valarcher, N. Ferris, N.J. Knowles et al. Annual OIE/FAO FMD reference laboratory network report // January-November, 2005. 32 p.
6. OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees), 2005. V. 1. P. 111–121.
7. <http://www.oie.int>
8. <http://www.fao.org>
9. <http://www.rian.ru>

УДК 619:616.98:578.835.2:578.74:616-097

С.Н. Фомина

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОГО РОДСТВА ШТАММОВ ВИРУСА ЯЩУРА ТИПА АЗИЯ-1

Введение

В настоящее время ящур остается одной из наиболее опасных болезней животных из-за своей высокой контагиозности, быстрого распространения и восприимчивости

многих видов домашних и диких животных.

Возбудитель ящура — вирус, обладающий высокой антигенной вариабельностью из-за изменения аминокислотной последовательности в полипептидах вирус-

ных белков, образующих капсид вириона. Такие антигенные изменения могут выражаться от незначительных отличий между штаммами, улавливаемые только с помощью точных методов молекулярного анализа, до появления совершенно отличающихся штаммов, требующих использования новых средств для серологической диагностики и специфической профилактики болезни [1, 4].

Высокий уровень генетической варибельности в пределах одного генотипа вируса ежегодно приводит к возникновению все новых изолятов, которые отличаются по степени вирулентности и иммуногенности от ранее выделенных штаммов вируса ящура.

Одним из основных методов профилактики ящура является систематическая иммунизация сельскохозяйственных животных инактивированными моно- и поливалентными вакцинами. Непременным условием противоэпизоотической эффективности противоящурных вакцин является соответствие антигенных свойств производственного (вакцинного) штамма вируса ящура эпизоотическим. Оно определяется на основании изучения иммунобиологических особенностей вновь выделенных типов и вариантов вируса, его антигенного родства с производственными штаммами. В результате этой работы решается вопрос о необходимости подготовки нового производственного штамма вируса.

В последние годы вспышки ящура, обусловленные вирусом ящура типа Азия-1, возникали в ряде государств, граничащих с Россией (Азербайджан, Грузия, Китай и др.). В июне 2005 года очаг ящура был зарегистрирован и в Амурской области Российской Федерации. Лабораторны-

ми исследованиями в ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» в патологическом материале от крупного рогатого скота был выявлен вирус ящура эпизоотического для России типа Азия-1, который обозначили как экспертиза /Амурский/ 2005 (№ 1987).

При сравнительном анализе нуклеотидной последовательности вируса ящура Азия-1 Амурский/2005 (№1987) было показано, что он имеет близкое филогенетическое родство со штаммами Азия-1 /Индия/18/80 и Азия-1 /Индия/15/81 (процент нуклеотидных различий 1,42–1,74) и значительно отличается от вакцинных и эпизоотических штаммов данного типа, выделенных в последние годы [8].

При появлении очагов ящура и выявлении возбудителя возникает необходимость определить степень его антигенного родства с производственными штаммами, используемыми для производства диагностикумов и вакцин, что представляет значительный научный и практический интерес.

Материалы и методы

Для изучения двустороннего антигенного родства в РСК использовали антиген вируса ящура Азия-1 Амурский/2005 (№ 1987), антигены вируса ящура некоторых штаммов Азия-1 и антисыворотки морских свинок к ним, хранящиеся в музее штаммов ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (табл. 1).

Антигенное родство исследуемого эпизоотического штамма Азия-1 Амурский/2005 (№1987) с другими штаммами вируса ящура данного типа изучали в РСК по 100% гемолизу с вычислением «R» по формуле Архетти и Хорсвала [2].

Параллельно с изучением эпизоотических вирусов ящура в РСК было определе-

Таблица 1

Результаты изучения антигенного спектра штамма вируса ящура типа Азия-1 Амурский/2005 (№1987) по данным РСК

Сравниваемые штаммы	ПОКАЗАТЕЛИ		
	r ₁	r ₂	R(%)
Азия-1 №48	0,16	0,42	26
Азия-1 №1730/Иран 58/99	0,07	0,64	23
Азия-1/Шамир 3/89	0,20	0,15	17

Таблица 2

Степень антигенного родства (r₁)

№№	Азия-1 №1987/Амурский/2005		Азия-1 Иран 58/99	
	РМН	ИФА	РМН	ИФА
1 пул	0,25	0,25	0,7	0,5
2 пул	0,18	0,25	0,5	0,5
3 пул	0,35	0,25	0,7	0,5

но их антигенное родство в реакции микронеутрализации (РМН).

РМН является наиболее чувствительным и достоверным методом типизации вируса ящура. Особые преимущества метода имеют при оценке иммунологического родства между штаммами [5]. По данным Рвееватуи М.М., сыворотки от переболевших животных менее специфичны в РН, чем сыворотки, полученные от вакцинированных животных [8]. На основании этого в нашей работе было использовано три пула сывороток КРС, отобранных на 21 день после вакцинации. Первая и вторая группы животных иммунизировались моновалентной вакциной из штамма Азия-1/Шамир/, третьей группе вводили трехвалентную вакцину (тип А, О, Азия-1). Пул содержал по пять сывороток. В реакции использовалась монослойная перевиваемая культура клеток IB-RS-2 и вирусы ящура: Азия-1 /Шамир 3/89, Азия-1 Иран 58/99, Азия-1 Амурской/2005 (№ 1987), ранее адаптированные к данной культуре.

В настоящее время иммуноферментный анализ широко используется в изучении проблем, связанных с вирусом ящура: типировании, субтипировании, изучении антигенной структуры. Для исследования использовали коммерческий набор для определения противоящурных антител жидкофазным блокирующим вариантом ИФА — Азия-1/Шамир/ (Пербрайт, Великобритания). Дополнительно в реакции использовали инактивированные, концентрированные антигены штаммов Азия-1 Амурской/2005 (№ 1987) и Азия-1 Иран 58/99 (№ 1730).

Степень одностороннего антигенного родства в РМН и ИФА определяли по формуле:

$$r_1 = \frac{\text{титр сыворотки с гетерологичным вирусом}}{\text{титр сыворотки с гомологичным вирусом}}$$

РЕЗЮМЕ

Проведено определение антигенного родства штамма вируса ящура типа Азия-1 Амурской/2005 (№ 1987), изолированного на территории Российской Федерации в 2005 году. Исследования проводились с помощью РСК, РМН и ИФА. Показано антигенное отличие исследуемого штамма от отечественного и зарубежного, вакцинных штаммов Азия-1 / Шамир 3/89.

ABSTRACT

Antigenic relatedness of FMD Asia-1 virus strain Amursky/2005 (№ 1987) isolated on the territory of the Russian Federation in 2005 was studied. The study was conducted using complement-fixation test, micro-neutralisation test and ELISA. Antigenic difference of the strain under study from the home and foreign vaccine strain Asia-1/Shamir3/89 was shown.

Литература

1. А.Н. Бурдов, А.И. Дудников, П.В. Малярец и др.; под ред. А.Н. Бурдова. Ящур. М.: Агропромиздат, 1990. 320 с.
2. Сост. А.А. Гусев, В.М. Захаров, Ж.А. Шажко и др. Методические указания по выделению и идентификации штаммов вируса ящура. Владимир, 2002. 31 с.
3. Д.М. Муминов, Т.А. Фомина, А.И. Егорова и др. Характеристика изолята вируса ящура типа Азия-1, выявленного в Таджикистане в 2004 году // Пробл. мониторинга и генодиагн. инфекц. болезней ж-ных: матер. Междунар. науч. конф. молодых ученых, 24–26 марта 2004 г. Владимир, 2004. С. 8–12.
4. В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев и др. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБП, 1998. С. 532–548.

Результаты и обсуждение

С помощью реакции связывания комплемента изучен антигенный спектр вируса ящура Азия-1 Амурской/2005 (№1987) с другими штаммами вируса ящура типа Азия-1. Результаты этих исследований приведены в табл. 1.

Анализируя данные табл. 1, следует отметить, что по антигенному спектру эпизоотический штамм Азия-1 Амурской/2005 (№ 1987) значительно отличается как от отечественного и зарубежного вакцинного штамма — Азия-1 /Шамир 3/89 (R% составило 17%), так и от других штаммов вируса ящура типа Азия-1. Кроме того, он не является антигенно родственным ранее выделенным изолятам.

Для оценки полученных результатов нами использовались критерии, приведенные в работе Doel T.R. [5] и Paton D.Y. et al. [6]. Значение r_1 от 0 до 0,19 говорит о необходимости замены производственного штамма на эпизоотический при изготовлении вакцины. Значение в интервале 0,2–0,39 позволяет использовать для первичной иммунизации производственную вакцину, при условии, что повторные иммунизации будут проводиться вакциной, изготовленной на основе вновь выделенного штамма.

Выводы

Проведенные исследования дают основание заключить, что вспышки ящура в России в 2005 году вызваны возбудителем типа Азия-1, который антигенно отличается от производственного штамма вируса ящура, используемого для производства вакцин.

Полученные данные необходимо учитывать при разработке профилактических мероприятий и изготовлении новых диагностических препаратов и вакцин.

5. T.R. Doel. Foot-and-mouth disease: vaccine strains and field isolates // Foot-and-Mouth Disease: Control Strategies. Symp. Proc. 2-5 June 2002. Lyons, France, Paris, 2003. P.287–296.
6. D.Y. Paton, Y.-F. Valarcher, I. Bergmann et al. Selection of foot and-mouth-disease vaccine strains — a review // Rev. Sci. Tech. OIE. 2005. V. 24, № 3. P.981–993.
7. J.F. Valarcher, N. Ferris, N. J. Knowles et al. Annual OIE/FAO FMD reference laboratory network report // J.F. 2005. P. 32.
8. M.M. Rweyemamu. Antigenic variation in foot-and-mouth disease: Studies based on the virus neutralization reaction // J. Biol. Stand. 1984. V.12. P.323–337

УДК 619:578.835.2:616.07:636.4

В.В. Никифоров

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЯЩУРА В ПРОДУКТАХ УБОЯ СВИНЕЙ

Введение

В последние годы количество импортируемого в Российскую Федерацию мяса и мясных продуктов возрастает, в том числе и из стран, неблагополучных по ящуру.

В организме животных возбудитель ящура может сохраняться в разных тканях и органах [6, 7].

Вирус ящура сохраняется при pH 7,4–7,7 и высокочувствителен к ее изменению. В период созревания мясной туши происходит накопление молочной кислоты, в результате чего pH среды снижается до 6,0, и вирус ящура инактивируется [1].

Согласно Санитарному кодексу наземных животных МЭБ, созревание продуктов убоя крупного рогатого скота должно происходить при температуре 2–4° С в течение минимум 24 часов после убоя, а величина pH мяса в длиннейшей мышце спины (*m. longissimus dorsi*) должна быть ниже 6,0 [2].

Являлось актуальным исследовать динамику изменения pH в продуктах убоя свиней, зараженных ящуром, и изучить возможность обнаружения возбудителя ящура с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в тканях и органах после их созревания.

В настоящее время в лабораторных исследованиях для выделения вируса ящура из мясопродуктов используют такие чувствительные биосистемы, как культуры клеток, но данный метод по экспрессности анализа уступает ПЦР [3, 4].

Целью наших исследований является изучение динамики изменения pH в полутушах свиней, убитых в период клинического проявления заболевания и после переболевания ящуром, а также сравнение эффективности выявления возбудителя ящу-

ра с помощью ПЦР и культуры клеток.

Материалы и методы

В ходе проведения исследований использовали продукты убоя, полученные от свиней с клиническими признаками ящура через 4 суток после заражения вирусом, а также от переболевших через 8 суток после заражения.

Измерение pH проводили в длиннейшей мышце спины в течение 24 часов с интервалом в 2 часа, в холодильной камере при температуре 2–4° С, с помощью pH-милливольтметра "pH-410" и комбинированного электрода "ЭСК-10616/7" с ножевым устройством для измерения активности ионов водорода (pH) в мясе и мясопродуктах. Выделение вируса ящура осуществляли с использованием первично трипсинизированной культуры клеток СП (4). Индикацию генома вируса ящура проводили с помощью ПЦР на основе амплификации консервативной области 3D гена [5].

Результаты и обсуждение

Данные, представленные на рис. 1, свидетельствуют о том, что в тушах свиней, убитых через 4 суток после заражения вирусом ящура, значение pH в длиннейшей мышце спины через 10 часов после убоя было ниже 6,0, а через 16–18 часов после убоя незначительно повышалось и к 24 часам не превышало 6,0.

В продуктах убоя свиней без клинических признаков болезни уже через 6–8 часов после убоя значение pH было ниже 6,0, а в период с 10 до 24 часов оно составляло 5,5. В течение 24 часов после убоя значение pH в подкожном жире составляло 7,2.

Для изучения эффективности обнаружения возбудителя ящура с помощью ПЦР и культуры клеток СП из продуктов убоя свиней после созревания были отобраны