

УДК 619:616.98:578.831.3:636.5:616-078

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ МЕТАПНЕВМОВИРУСА ПТИЦ ПОДТИПОВ А И В

Ярославцева П.С. аспирантка

Научный руководитель - Мудрак Н.С., доктор биологических наук

Волкова М.А. кандидат биологических наук

*«Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ
«ВНИИЗЖ»)*

Ключевые слова: *метапневмовирус птиц, метапневмовирусная инфекция, иммуноферментный анализ.*

Были получены иммуноспецифические компоненты для разработки диагностической тест-системы. Активность вирусспецифических сывороток составила 1:3200-1:6400. Очистка и концентрирование антигенов МПВ птиц подтипов А и В с использованием градиента концентрации сахарозы позволили получить специфичные, очищенные препараты с высокой степенью активности.

Введение. Метапневмовирусная инфекция (МПВИ) птиц – респираторное заболевание верхних дыхательных путей у индеек и кур всех возрастов. Возбудителем инфекции является РНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Metapneumovirus* из семейства *Paramyxoviridae*. Из известных 4 подтипов вируса в Российской Федерации в течение 2005-2011г.г. были выявлены подтипы А и В(1). Заболевание наносит серьезный экономический ущерб из-за снижения мясной и яичной продуктивности(1,2).

Коммерческие наборы для выявления антител к метапневмовирусу (IDEXX, BioChek, Svanova, ФГБУ «ВНИИЗЖ»), используемые в лабораториях, при одинаковой специфичности отличаются по чувствительности, что, в первую очередь, может зависеть от штамма вируса и от методов подготовки антигена. В настоящее время в ФГБУ «ВНИИЗЖ» при производстве иммуноферментных наборов используют инактивированный МПВ птиц подтипа В. Одним из возможных путей повышения чувствительности тест-системы является использование смеси антигенов МПВ птиц двух подтипов: А и В.

Целью данной работы являлось получение и оценка иммуноспецифических компонентов: антигена МПВ птиц подтипов А и В и гипериммунных сывороток для разработки усовершенствованной тест-системы на основе непрямого варианта ИФА.

Материалы и методы. Вирус. Изолят aMPV/A/01/2010, штамм aMPV/B/12/2010.

Очистка и концентрирование антигена МПВ птиц подтипов А и В.

Очистку и концентрирование вирусосодержащей культуральной жидкости проводили в градиенте концентрации сахарозы (30%-55%) (Grant, M., C. Baxter-Jones, 1987) с некоторыми модификациями.

Получение гипериммунных сывороток. Иммунизировали 40-суточных цыплят двукратно с интервалом 21 сутки, внутримышечно в объеме 1 см³ концентрированным инактивированными препаратами МПВ птиц подтипов А и В (0,5 мг/мл вирусного белка эмульгировали с равным объемом адьюванта ISA-70).

Электрофорез. Степень очистки концентрированных препаратов МПВ птиц проверяли методом электрофореза в 10% полиакриламидном геле (Laemmli, 1970).

Определение активности и специфичности антигена. Специфическую активность полученных антигенов определяли в непрямом варианте ИФА с референтными сыворотками крови кур к МПВ кур подтипов А и В (Италия, Нидерланды) и с гетерологичными сыворотками к возбудителям болезней птиц (Synbiotics, США)

Результаты. Методом очистки и концентрирования через градиент сахарозы были получены препараты антигена МПВ птиц подтипов А и В, степень чистоты которых оценивали с помощью электрофореза в ПААГ

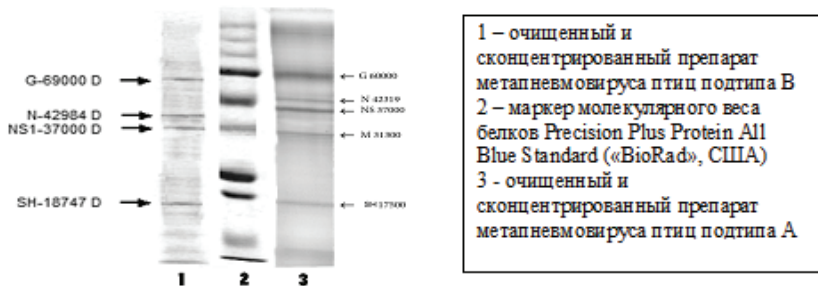


Рисунок 1 - Электрофореграмма МПВ птиц подтипов А и В в 10% ДСН-ПААГ, окрашенном Coomassie Brilliant Blue R-250.

На электрофореграмме вирусных белков (рис.1) выявлены полосы, соответствующие фракциям белков метапневмовируса птиц подтипа В (1) – подтипа А (2).

Специфическую активность полученных препаратов антигенов МПВ птиц подтипов А и В определяли в непрямом варианте ИФА с использованием специфических к МПВ птиц и гетерологичных сывороток крови. В качестве антигена для сенсибилизации планшетов использовалась смесь препаратов МПВ птиц подтипов А и В, взятых в рабочем разведении в равных объемах. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1 - Результаты выявления антител к МПВ птиц

№	Сыворотка против	Титр АТ	№	Сыворотка против	Титр АТ
1	Инфекционного ларинготрахеита	100	8	Гриппа птиц	<100
2	Микоплазма гал-лисептикум	200	9	Инфекционного энцефаломиелита	<100
3	Реовируса кур	100	10	Нормальная сыворотка	100
4	Микоплазма синовиоа	<100	11	МПВ, GD, (Нидерланды)	12800
5	Инфекционного бронхита	100	12	МПВ, тип А, (Италия)	3200
6	Ньюкаслской болезни	100	13	МПВ тип В, (Италия)	12800
7	Инфекционного бурсита	100	14	МПВ, экспериментальная.	6400

*- титр антител (АТ) представлен как величина, обратная разведению сыворотки

Гетерологичные референтные сыворотки и нормальная сыворотка крови кур при исследовании в ИФА с антигеном МПВ птиц, экспериментально показали отрицательный результат. Титры референтных специфических к МПВ птиц сывороток крови кур и экспериментальные сыворотки составили от 3200 до 12800.

Библиографический список:

1. Никонова З.Б. Разработка и применение методов диагностики Метапневмовирусной инфекции птиц. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2012. – 135 с.

2. Cook J.K.A., Cavanagh D. Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses) // Avian Pathol. – 2002. – Vol. 31. – P. 117-132.

OBTAINING OF ELISA IMMUNOSPECIFIC COMPONENTS FOR DIAGNOSIS OF AMPV SUBTYPE A AND B.

Yaroslavtseva P.S., Mudrak N.S., Volkova M.A.

Key words: *Avian matapneumovirus, avian matapneumovirus infection, immunosorbent assay*

Positive control chicken anti-AMPV sera with titers 1:3200-1:6400 were obtained. Purifying and concentrating of the antigen using sucrose concentration gradient solution allowed to obtain a specific, high-purified reagent with high activity rate.

УДК 81

ДИЛАТАЦИЯ ЖЕЛУДКА – ЗАВОРОТ КИШОК У СОБАК

*Ларионова М.И., студентка 2 курса факультета ветеринарной медицины и зоотехнии
Научный руководитель – Тимкина Ю.Ю., кандидат педагогических наук, доцент
ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА*

Ключевые слова: *собаки, дилатация, заворот кишок, хирургия, послеоперационный период.*

Статья посвящена дилатации желудка у собак. Описываются методы лечения, рассматриваются хирургический и послеоперационный периоды.

Заворот кишок - форма острой непроходимости кишечника, перекручивание части кишки вместе с брыжейкой вокруг оси с нарушением кровотока от корня брыжейки к просвету кишки. Заворот кишок может возникнуть вследствие поворота кишки вокруг собственной оси, кишки с брыжейкой вокруг брыжеечной оси, кишки с брыжейкой вокруг