



ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОЙ И АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ВИРУСА ЯЩУРА АЗИЯ-1 №2145/ТАДЖИКИСТАН/2011

Д.А. Лозовой¹, В.А. Стариков², Д.В. Михалишин³

¹ временно исполняющий обязанности директора, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mail@arriah.ru

² научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: starikov@arriah.ru

³ заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В данной статье представлены результаты исследований протективных антигенных отличий изолята Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 от вакцинного штамма культурального вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89.

Ключевые слова: антитела, вакцина, вирус ящура, штамм, реакция нейтрализации.

STUDY OF PROTECTIVITY AND ANTIGENICITY OF VACCINE BASED ON CULTURAL ASIA-1 NO.2145/ TAJIKISTAN/2011 FMD VIRUS

D.A. Lozovoy¹, V.A. Starikov², D.V. Mikhailishin³

¹ Interim Director, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine) FGBI ARRIAH, Vladimir, e-mail: mail@arriah.ru

² Leading Researcher, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI ARRIAH, Vladimir, e-mail: starikov@arriah.ru

³ Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI ARRIAH, Vladimir, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents the results of tests aimed to study the protective antigen differences between Asia-1 No. 2145/Tajikistan/2011 isolate and Asia-1 Shamir 3/89 FMD cultural virus vaccine strain.

Key words: antibodies, vaccine, foot-and-mouth virus, strain, neutralization test.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ материалов Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) свидетельствует о том, что эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в последние годы остается довольно напряженной. Особую значимость имеет неблагоприятная ситуация в государствах, которые граничат со странами СНГ или расположены вблизи них, а также в государствах, с которыми имеются тесные хозяйственно-экономические, социально-культурные, туристические связи. Ящур типа Азия-1 получил большее распространение в мире с 1999 г. В Китае вспышки ящура типа Азия-1, начавшиеся в 2005 г., несмотря на уничтожение всех животных в ящурных очагах, возникали и в течение 2006–2009 гг. [4]. По данным многих исследователей, ряд последних вспышек ящура типов А, О, Азия-1 был обусловлен антигенно-измененными штаммами вируса [3]. В мае–июне 2011 г. ящур типа О зарегистрирован в Западно-Казахстанской и Восточно-Казахстанской областях Казахстана, типов О и А — в Киргизии, в июле–августе — тип О в Южной Осетии. В мае 2011 г. в Республике Таджикистан была зарегистрирована вспышка ящура типа Азия-1 [2].

Сложившаяся ситуация диктует необходимость совершенствования эффективности мер по профилактике и борьбе с ящуром [5].

Эффективность вакцинации животных и напряженность противоящурного иммунитета в первую очередь зависят от соответствия вакцинного штамма эпизоотическому изоляту вируса. С увеличением количества иммуногенных компонентов в прививной дозе вакцины защита животных от заражения гетерологичным штаммом вируса ящура возрастает. Высокоиммуногенные вакцины индуцируют раннюю защиту против гетерологичного вируса ящура [6, 7].

Задачей данной работы было изучение антигенного соответствия вновь выделенного изолята и вакцинного штамма вируса ящура Азия-1.

Цель исследований — изготовление вакцины на основе штамма Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 и изучение ее иммунобиологической активности на крупном рогатом скоте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В опыте использовали крупный рогатый скот (КРС) массой 250–300 кг в количестве 20 гол.

Вирусный материал. В работе использовали вирус ящура штамма Азия-1 №2145/Таджикистан/2011, Азия-1 Шамир 3/89.

Культура клеток. Использовали первично трипсинизированную культуру клеток почки свиньи (СП); перевиваемые линии клеток ВНК-21-2/17.

Растворы и реактивы: 15–20% раствор аминокислоты этиленмина (АЭЭИ); полисепт (полигексаметиленгуанидин) производства ОАО «ПЗБ», г. Покров.

Адьюванты: масляные адьюванты Montanide ISA 70, ISA 206 (SEPPIC, Франция).

Питательные среды: Игла, 0,4% гидролизат лактальбумина (ГЛА) на растворе Эрла.

Вакцины:

№ 1 — эмульсионная вакцина из культурального вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89 с адьювантом Montanide ISA 206. Прививная доза 2 см³ содержала 4,4 мкг иммуногенных компонентов;

№ 2 — эмульсионная вакцина из культурального вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89 с адьювантом

Montanide ISA 70. Прививной объем 2 см³ включал 4,4 мкг иммуногенных компонентов.

№ 3 — эмульсионная вакцина из культурального вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 с адьювантом Montanide ISA 206, содержала 7,0 мкг иммуногенных компонентов в прививной дозе 2 см³.

Методы. Для изготовления вакцин использовали культуральный вирус ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 и Азия-1 Шамир 3/89, репродуцированный в суспензионной культуре клеток ВНК-21-2/17.

Инактивацию инфекционности вируса проводили 0,05% АЭЭИ в течение 12 ч при температуре 37 °С.

Очистку суспензии инактивированного вируса осуществляли с помощью полигексаметиленгуанидина в концентрации 0,007% и последующей декантации суспензии с образовавшегося осадка.

Авирулентность суспензии инактивированного вируса контролировали с помощью монослойной культуры клеток СП.

Антиген концентрировали методом ультрафильтрации.

Эмульсионную вакцину на основе масляного адьюванта Montanide ISA 70 готовили в пропорции 60:40.

Эмульсионную вакцину на основе масляного адьюванта Montanide ISA 206 готовили в соотношении 50:50 к водной фазе антигена.

Вакцины вводили бычкам подкожно в среднюю треть шеи.

Ревакцинацию проводили на 10 сут. после первичной иммунизации животных.

Пробы крови отбирали на 10, 21 и 24 сут. после вакцинации.

Антигенную активность вакцин оценивали в реакции нейтрализации на монослое клеток СП по общепринятой методике.

Протективную активность вакцин определяли методом прямого заражения животных суспензией афтозного вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89 и Азия-1 №2145/Таджикистан/2011. Суспензию афтозного вируса вводили КРС интрадермоинъекционно в дозе 10⁴ ИД₅₀/0,2 см³.

Результаты контрольного заражения учитывали на 7 сут. после инфицирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения антигенных свойств вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011, проведенные в реакции микронейтрализации (r₁=0,21) и методом иммуноферментного анализа (r₁=0,13±0,01), указывали на его значительное отличие от производственного штамма Азия-1 Шамир 3/89 [1].

Первым этапом исследований было определение уровня гуморального иммунитета у КРС, привитого эмульсионными вакцинами из культурального вируса ящура против гомологичного и гетерологичного вируса ящура.

В табл. 1 показаны результаты изучения антигенной активности вакцин, изготовленных на основе вируса Азия-1 Шамир 3/89.

Все 10 вакцинированных бычков были защищены от генерализованной формы против гомологичного вируса ящура типа Азия-1 Шамир.

Представленные данные позволили рассчитать разницу в титрах вируснейтрализующих антител (ВНА) против гомологичного и гетерологичного вируса ящура, которая составила 0,95–1,05 log₂ и является статистически значимой.

Таблица 1
Антигенная активность эмульсионных вакцин из культурального вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89

Характеристика вакцины	№ животных	Наличие генерализации против вируса ящура Азия-1 Шамир	Титр антител на 21 сут. после вакцинации, log ₂	
			Азия-1 Шамир 3/89	Азия-1 №2145/Таджикистан/2011
Вакцина №1 АГ — 4,4 мкг ISA 206	1	-	6,00	4,50
	2	-	5,25	3,50
	3	-	5,50	5,00
	4	-	6,00	4,75
	5	-	5,00	4,75
	M±m		5,55±0,20	4,50±0,26
Вакцина №2 АГ — 4,4 мкг ISA 70	1	-	5,50	5,50
	2	-	6,25	5,00
	3	-	5,25	4,00
	4	-	5,25	3,75
	5	-	5,75	5,00
	M±m		5,60±0,19	4,65±0,33
Контроль вируса		+		

В следующем опыте было изучено влияние ревакцинации вакцины №1 на формирование иммунитета у КРС. Для этого 3 головы КРС иммунизировали вакциной №1 и через 10 сут. провели ревакцинацию. Титры ВНА определяли у привитых животных на 10 и 21 сут. после вакцинации. Через 21 сут. провели контрольное заражение гетерологичным вирусом Азия-1 №2145/Таджикистан/2011.

В табл. 2 отражены результаты ревакцинации животных вакциной №1.

Анализируя полученные результаты, можно сделать заключение о том, что ревакцинация позволила увеличить титры ВНА против гомологичного штамма Азия-1 №2145/Таджикистан/2011, в сравнении с однократной иммунизацией. Заражение гетерологичным вирусом Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 через 21 сут. не вызвало генерализованного процесса заболевания у 3 повторно иммунизированных животных.

Следующую группу КРС иммунизировали вакциной из культурального вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011. В табл. 3 представлены результаты контроля иммунитета у животных через 24 сут. после вакцинации.

Титр антител у животных против гетерологичного вируса Азия-1 Шамир 3/89 был в 7 раз ниже по сравнению с титром антител против гомологичного вируса Азия-1 №2145/Таджикистан/2011.

Разница в титрах ВНА составила 2,8 log₂, что указывает на достоверность различий гетерологичности штаммов.

Генерализованной формой ящура не заболел ни один из 4 вакцинированных бычков, а первичные афты были только у 2 вакцинированных животных.

На основании проведенных исследований можно предположить, что 2-кратная иммунизация КРС вакциной из культурального вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89 предотвратит развитие генерализованной

Таблица 2
Влияние ревакцинации на формирование иммунитета у КРС

Характеристика вакцины	№ животных	Наличие генерализации против вируса ящура Азия-1 Таджикистан	Титр антител против культурального вируса ящура, log ₂			
			Азия-1 Шамир 3/89		Азия-1 №2145/Таджикистан/2011	
			10 сут.	21 сут.	10 сут.	21 сут.
Вакцина №1 АГ — 4,4 мкг ISA 206	1	-	4,50	7,00	3,25	5,75
	2	-	4,75	7,75	3,50	6,00
	3	-	4,25	6,75	3,00	5,50
	M±m		4,50±0,14	7,17±0,30	3,25±0,14	5,75±0,14
Контроль вируса		+				

Таблица 3
Эффективность вакцины из культурального вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 для КРС против вируса Азия-1 Шамир 3/89

Характеристика вакцины	№ животных	Наличие генерализации против вируса ящура Азия-1 Шамир	Титр антител на 24 сут. после вакцинации, log ₂	
			Азия-1 №2145/Таджикистан	Азия-1 Шамир 3/89
Вакцина №3 АГ — 7,0 мкг ISA 206	1	-	6,25	3,50
	2	-	6,75	3,25
	3	-	7,25	5,25
	4	-	5,50	2,25
	M±m		6,44±0,37	3,62±0,58
Контроль вируса		+		

формы ящура при возникновении очага вируса (при возможном заносе вируса) ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Штамм культурального вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 по антигенным свойствам существенно отличается от вакцинного штамма Азия-1 Шамир 3/89. Однако эмульсионная вакцина, содержащая в прививной дозе 4,4 мкг иммуногенных компонентов, при ревакцинации через 10 сут. защитила КРС от заражения гетерологичным вирусом ящура. Двукратная иммунизация увеличила напряженность иммунитета.

Эмульсионная вакцина из культурального вируса ящура Азия-1 №2145/Таджикистан/2011 защитила всех 4 животных при однократной иммунизации против гетерологичного вируса ящура Азия-1 Шамир 3/89.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Результаты изучения антигенного соответствия изолятов вируса ящура типа Азия-1 производственному штамму Азия-1/Шамир 3/89 / С.Р. Кременчугская, Т.К. Майорова, Н.Е. Камалова, Д.Н. Афонина // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2012. — Т. 10. — С. 19–25.

2. Результаты мониторинговых исследований по ящуру в России в 2011 году / А.М. Рахманов, С.Р. Кременчугская, А.В. Мищенко, А.В. Щербаков // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2012. — Т. 10. — С. 7–18.

3. Antigenic variation of foot-and-mouth disease virus serotype A / A.B. Ludi, D.L. Horton, Y. Li [et al.] // J. Gen. Virol. — 2014. — Vol. 95. — P. 384–392.

4. FAO/EuFMD. Foot-and-Mouth Disease situation. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Monthly Report, August 2013. — 21 p.

5. Foot and mouth disease // Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees) / OIE. — 7th ed. — Paris, France, 2012. — Vol. 1, Chapter 2.1.5. — P. 145–173.

6. High potency vaccines induce protection against heterologous challenge with foot-and-mouth disease virus / K.E. Brehm, N. Kumar, H.H. Thulke, B. Haas // Vaccine. — 2008. — Vol. 26. — P. 1681–1687.

7. Protection to homologous and heterologous challenge in pigs immunized with vaccine against foot-and-mouth disease type O caused an epidemic in East Asia during 2010/2011 / J.-N. Park, S.-Y. Lee, J.-Q. Chi [et al.] // Vaccine. — 2014. — Vol. 32. — P. 1882–1889.