



Fig. 3. ASFV pK205R and pB602L recombinant protein expression in *E. coli*, testing in 12% polyacrylamide gel

1 – pK205R recombinant protein expression in *E. coli*;
 2 – pK205R recombinant protein purified product;
 3 – pB602L recombinant protein expression in *E. coli*;
 4 – pK205R recombinant protein purified product;
 5 – protein molecular mass marker (170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, 10 kDa).

sera: implications for false positive reactions in the serodiagnosis of African swine fever // *Am. J. Vet. Res.* — 1989. — Vol. 50. — P. 1118–1122.

7. High level expression of the major antigenic African swine fever virus proteins p54 and p30 in baculovirus and their potential use as diagnostic reagents / J.M. Oviedo, F. Rodriguez, P. Gomez-Puertas [et al.] // *J. Virol. Meth.* — 1997. — Vol. 64. — P. 27–35.

8. Highly specific confirmatory western blot test of African swine fever virus antibody detection using the recombinant virus protein p54 / C. Alcaraz, F. Rodriguez, J. Oviedo [et al.] // *J. Virol. Meth.* — 1995. — Vol. 52. — P. 111–119.

9. Optimization and validation of recombinant serological tests for African swine fever diagnosis based on detection of the p30 protein produced on *Trichoplusia ni*

larvae / D.M. Perez-Filgueira, F. Gonzalez-Camacho, C. Gallardo [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2006. — Vol. 44. — P. 3114–3121.

10. Recombinant antigen targets for serodiagnosis of African swine fever / C. Gallardo, A.L. Reis, G. Kalema-Zikusoka [et al.] // *Clin. Vaccine Immunol.* — 2009. — Vol. 16. — P. 1012–1020.

11. Serodiagnosis of African swine fever using the recombinant protein p30 expressed in insect larvae / M. Barderas, A. Wigdorovitz, F. Merelo [et al.] // *J. Virol. Meth.* — 2000. — Vol. 89. — P. 129–136.

12. Systematic analysis of longitudinal serological responses of pigs infected experimentally with African swine fever virus / A.L. Reis, R.M. Parkhouse, A.R. Penedos [et al.] // *J. Gen. Virol.* — 2007. — Vol. 88. — P. 2426–2434.



УДК 619:616.98:578.826.1:616-085.371

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ИЗГОТОВЛЕННОЙ НА ОСНОВЕ АДЕНОВИРУСА ПТИЦ 2 СЕРОТИПА

А.А. Перепеча¹, С.В. Фролов², Д.Л. Долгов³, М.А. Волкова⁴, Д.А. Глейзер⁵

¹ ведущий технолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: perepecha@arriah.ru

² заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

³ старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

⁴ ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

⁵ старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

В работе представлены данные по изучению иммуногенной активности инактивированной вакцины, изготовленной на основе изолята аденовируса птиц FAdV-2. Показана динамика накопления антител в крови цыплят. Также продемонстрирована высокая устойчивость иммунизированных цыплят к заражению гомологичным вирусом (FAdV-2) и отсутствие такой защиты к заражению гетерологичным вирусом (FAdV-4).

Ключевые слова: аденовирус птиц, инактивированная вакцина, антиген, специфические антитела, иммуногенность.

UDC 619:616.98:578.826.1:616-085.371

STUDY OF IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF AVIAN ADENOVIRUS SEROTYPE 2 – BASED VACCINE AGAINST ADENOVIRUS INFECTION

A.A. Perepecha¹, S.V. Frolov², D.L. Dolgov³, M.A. Volkova⁴, D.A. Gleyzer⁵

¹ leading technologist, FGBI «ARRIAH», Vladimir, e-mail: perepecha@arriah.ru

² head of laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir

³ senior researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir

⁴ leading researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI «ARRIAH», Vladimir

⁵ senior researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI «ARRIAH», Vladimir

SUMMARY

The data on studying immunogenic activity of the inactivated vaccine produced on the basis of avian adenovirus isolate FAdV-2 are demonstrated in the paper. The dynamics of antibody accumulation in chicken blood is shown. The high resistance of immunized chicks to homologous virus (FAdV-2) infection and lack of protection against heterologous virus (FAdV-4) infection are also demonstrated.

Key words: avian adenovirus, inactivated vaccine, antigen, specific antibodies, immunogenicity.



Рис. Выявление антител к аденовирусу птиц FAdV-2 в сыворотках крови цыплят, иммунизированных экспериментальной инактивированной вакциной

ВВЕДЕНИЕ

Аденовирусы птиц (FAdV) относятся к роду *Aviadenovirus* семейства *Adenoviridae* — это многочисленная, но сравнительно малоизученная группа вирусов. Вирусы данной группы вызывают различные клинические и патологоанатомические признаки при инфицировании птиц, в частности поражения респираторной системы, энтериты, геморрагические воспаления в мышцах и висцеральных органах, могут сопровождаться снижением яичной продуктивности и признаками поражения нервной системы. При этом длительное вирусоносительство обеспечивает продолжительное выделение вируса во внешнюю среду переболевшей птицей, что способствует дальнейшему распространению инфекции [1, 2, 7, 8].

В качестве одной из мер борьбы с инфекцией всегда рассматривается вакцинопрофилактика. Все более часто среди цыплят-бройлеров встречается такое проявление аденовирусной инфекции, как гепатит с тельцами-включениями [4–8]. При этом в последнее время в качестве этиологического агента, связанного с развитием данного синдрома, часто выявляют аденовирус птиц 2 серотипа (FAdV-2) [2, 4–6]. Мониторинг некоторых птицеводств Российской Федерации сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» позволил выявить в них циркуляцию аденовируса 2 серотипа. Смертность среди бройлеров в возрасте 1–7 недель, наиболее восприимчивых к этому возбудителю, может достигать 15% [1, 2]. Отсюда, естественно, возникает интерес к изучению биологических свойств таких изолятов, в том числе и к изучению их иммуногенных свойств в составе профилактического препарата [2, 3].

Таблица

Протективная активность экспериментальной вакцины при заражении цыплят гомологичным (FAdV-2) и гетерологичным (FAdV-4) типами аденовируса птиц $n=3$

Аденовирус, используемый для заражения	Иммунный статус цыплят	
	вакцинированные	невакцинированные
изолят FAdV-2	0/5*	5/5
штамм «КР-95» FAdV-4	5/5	5/5

* в числителе — число павших или клинически больных птиц, в знаменателе — общее число зараженных птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали изолят аденовируса птиц FAdV-2 третьего пассажа на СПФ-цыплятах с инфекционной активностью $5,83 \text{ Ig ЛД}_{50}/0,2 \text{ см}^3$ и аденовирус птиц FAdV-4 производственный штамм «КР-95» с инфекционной активностью $6,5 \text{ Ig ЛД}_{50}/0,2 \text{ см}^3$.

Вакцины. В исследованиях использовали инактивированную сорбированную вакцину, изготовленную на основе изолята аденовируса птиц FAdV-2.

Птица. В опыте использовали 20 коммерческих цыплят яичного направления 20-суточного возраста, не имеющих антител к аденовирусам птиц, которых содержали в изоляторах ИЗОП-6 на рациионе согласно зоотехническим нормам.

Схема эксперимента. Опытных цыплят разделили на две группы по 10 голов в каждой. Птиц первой группы иммунизировали вакциной на основе изолята FAdV-2, второй — не вакцинировали и использовали в качестве отрицательного контроля.

Вакцину в объеме $0,5 \text{ см}^3$ вводили однократно в грудную мышцу. Через 22 суток из вакцинированных и невакцинированных цыплят были сформированы две новые группы, состоящие из 5 вакцинированных и 5 невакцинированных голов. Далее цыплят первой группы заражали аденовирусом птиц FAdV-4 штамм «КР-95» в дозе $7,2 \text{ Ig ЛД}_{50}/\text{см}^3$, а второй группы аденовирусом птиц FAdV-2 в дозе $6,5 \text{ Ig ЛД}_{50}/\text{см}^3$. Клиническое наблюдение за цыплятами вели в течение 14 суток. Кроме того, у всех групп цыплят отбирали кровь через 7, 14, 21 сутки после вакцинации.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Определение титра антител к FAdV-2 проводили в непрямом варианте ИФА с использованием планшетов, сенсibilизированных антигеном аденовируса птиц FAdV-2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены результаты исследования сывороток крови цыплят на наличие антител к аденовирусу птиц FAdV-2 после иммунизации экспериментальной вакциной.

Из данных, представленных на рисунке, видно, что вакцинация цыплят вызвала образование гуморальных специфических антител к вирусу FAdV-2 с титрами в ИФА до 4516. Особенно интенсивный прирост антител наблюдался с 7 по 14 сутки после вакцинации.

В таблице представлены результаты устойчивости цыплят к заражению аденовирусами птиц гомологичного (FAdV-2) и гетерологичного (FAdV-4) типов.

Из данных таблицы следует, что цыплята, иммунизированные экспериментальной инактивированной сорбированной вакциной против FAdV-2, были полностью защищены от гибели при заражении гомологичным (FAdV-2) типом аденовируса птиц и не были защищены от заражения гетерологичным (FAdV-4) типом вируса.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальная инактивированная вакцина на основе изолята FAdV-2 обладает высокой иммуногенной активностью.

2. Вакцина обладает высокой протективной активностью в отношении антигенно родственного аденовируса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волкова М.А., Ирза А.В., Бахчин И.В. Иммунный ответ цыплят на экспериментальное заражение изолятом аденовируса птиц FAdV2/1/2012 // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2014. — Т. 12. — С. 121–132.

2. Волкова М.А., Ирза А.В., Лазарева С.П. Идентификация аденовируса птиц, выделенного в Российской Федерации от кур с признаками гепатита, с использованием ПЦР-РВ и ИФА // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. — Владимир, 2013. — Т. 11. — С. 34–42.

3. Deshmukh V.V., Aziz A., Gujar M.B. Humoral immune response in broilers against inclusion body hepatitis virus // Indian J. Animal Sciences. — 2000. — Vol. 70, № 4. — P. 340–342.

4. El-Attrache J., Villegas P. Genomic identification and characterization of avian adenoviruses associated with inclusion body hepatitis // Avian Dis. — 2001. — Vol. 45, № 4. — P. 780–787.

5. Genotyping of Canadian isolates of fowl adenoviruses / D. Ojkic, E. Martin, J. Swinton [et al.] // Avian Pathol. — 2008. — Vol. 37, № 1. — P. 95–100.

6. Hess M. Detection and differentiation of avian adenoviruses: A review / M. Hess // Avian Pathol. — 2000. — Vol. 29, № 3. — P. 195–206.

7. Inclusion body hepatitis outbreak associated with fowl adenovirus type 8b in broilers / M. Zadavec [et al.] // Acta Veterinaria. — 2013. — Vol. 63, № 1. — P. 101–110.

8. Isolation of viruses from clinical outbreaks of inclusion body hepatitis / J.B. McFerran [et al.] // Avian Pathol. — 1976. — Vol. 5. — P. 315–324.

УДК 619:616-074:636.52/58

ИДЕНТИФИКАЦИЯ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ КУР И ИХ СУБПОПУЛЯЦИЙ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОТОЧНОГО ЦИТОМЕТРА BD FACSVESSE™

М.А. Волкова¹, Ир.А. Чвала²

¹ ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: volkovama@arriah.ru

² старший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

РЕЗЮМЕ

Разработана методика идентификации Т- и В-лимфоцитов кур и их субпопуляций методом проточной цитометрии с использованием прибора BD FACSVeser™. Определён способ выделения лимфоцитарного гейта под контролем экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 и моноцитарного антигена. Подобраны и испытаны панели антител для иммунофенотипирования лимфоцитов при исследовании клеточного иммунного ответа кур, позволяющие определить относительное количество Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-цитотоксических популяций клеток в крови и лимфоидных органах кур. Показана специфичность и воспроизводимость разработанной методики идентификации субпопуляций лимфоцитов кур.

Ключевые слова: проточная цитофлуориметрия, иммунофенотипирование лимфоцитов кур.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проточная цитометрия находит всё большее применение в ветеринарной иммунологии. Использование различных наборов клеточных маркеров позволяет проводить исследования типов клеток и их функционального состояния, определять количественное соотношение различных субпопуляций клеток.

Имунофенотипирование лимфоцитов заключается в обнаружении на их поверхности маркеров дифференциации или CD-антигенов. Классификация CD (*cluster of differentiation antigens*) основана на различиях между кластерами клеток в поверхностных дифференцировочных маркерах.