

ПІДБІР ПІВНІВ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ РЕАКЦІЇ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУР

Нагорна О.С.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, nahorna.olena@iit.kpi.ua

Інфекційний бронхіт кур (ІБК) – гостре захворювання, яке викликається РНК-вмісним вірусом родини *Coronaviridae*, роду *Coronavirus*. Генوم вірусу ІБК представлений позитивною одноланцюговою молекулою РНК, що призводить до великої кількості мутацій у процесі реплікації, внаслідок чого утворюються нові варіанти і зростає кількість серотипів. Вірулентність даного вірусу є досить різною, одні штами здатні викликати патогенні захворювання, тоді як інші – лише незначні зміни кольору шкарлупи.

Вірус інфекційного бронхіту кур поширений у всьому світі, але особливо у країнах зі значною кількістю птахофабрик. Він приносить високі економічні збитки через зниження м'ясної та яєчної продукції на 50-60%, спричиняючи смертність 30% курчат у перший місяць, а також до вибраковування 60% курей через хронічні захворювання.

Вірус викликає інфекції переважно у курей і є значним збудником промислової птиці м'ясо-яєчного типу. Він уражує органи дихання репродуктивні органи дорослих курей. Особливо небезпечним є інфікування у молодому віці, адже воно призводить до зниження несучості (на 30—40%) та погіршення якості яєць. 25% штамів є нефропатогенними та викликають захворювання нирок, що в подальшому призводить до смерті. Тяжкість респіраторного захворювання посилюється при наявності інших патогенів, які включають бактерії та спричинює хронічні захворювання.

На підприємстві ТОВ “Біотестлаб” проведено дослідження, основною метою якого було створення еталонної групи півнів для використання їх еритроцитів у постановці реакції гемаглютинації.

Гемаглютинація — це діагностична реакція, яка дозволяє виявити вірус або антитіла до специфічного вірусу. Під час постановки реакції гемаглютинації відбувається злипання еритроцитів з вірусом, в структурі поверхневої оболонки якого міститься гемаглютинін. Облік результатів здійснюється на аналізом утворення специфічного осаду у вигляді “зонтика”.

Існує стандартний протокол, що описує реакцію гемаглютинації суспензії еритроцитів півня з вірусом інфекційного бронхіту кур, який включає такі стадії: відбір крові у півнів, приготування суспензії еритроцитів, обробка дослідних зразків трипсином, постановка реакції та визначення результатів.

Для проведення даного дослідження було відібрано 10 півнів віку 5-6 місяців. Відбір крові проводився за допомогою стерильних шприців в яких попередньо був розчин Альсиверу. Після відбору, кров переливали у центрифужні пробірки, додавали фосфатно-сольовий буфер та відмивали 3 рази по 15 хвилин при швидкості 1000 об./хв., кожного разу відбираючи надосадову рідину та додаючи ФСБ. Після останнього центрифугування, надосадову рідину

відбирали, а осад, що залишився вважали 100% суспензією еритроцитів півня, з якого робили 2% суспензію еритроцитів півня, додавши при цьому ФСБ. Із крові кожного півня отримували окрему суспензію еритроцитів.

Для постановки реакції гемаглютинації було взято у банку штамів еталонний штам вірусу з відомим титром ($12\log_2$), який обробили 2% трипсином протягом однієї години при температурі 37°C. У полістиролову пляшку з U-подібними лунками, у всі лунки додали 25 мкл ФСБ. Після цього, у перші лунки усіх рядків додали по 25 мкл вірусомісного матеріалу. Проведення титрації відбувалось із заміною наконечників кожного разу, а також з 5-разовим піпетуванням. 25 мкл з останніх лунок викидали у ємність з дезінфікуючим розчином. У перший рядок додавали по 25 мкл 2% суспензії еритроцитів півня №1, а у другий – півня №2 і тд., починаючи з кінцевої лунки (де концентрація вірусу найменша), до першої. Пляшку залишали для осідання на 25 хвилин. Результат оцінювали та вносили у протокол (табл.1).

Таблиця 1 – Результати дослідження залежності титру гемаглютинуючої активності вірусу від суспензії еритроцитів крові різних півнів.

№ півня	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ГАО/25 мкл	$12\log_2$	$12\log_2$	$10\log_2$	$9\log_2$	$8\log_2$	$11\log_2$	$9\log_2$	$10\log_2$	$5\log_2$	$9\log_2$

За отриманими результатами відбирали півнів, суспензія еритроцитів крові яких з вірусом давала титр гемаглютинуючої активності вірусу, що співпадав з еталонним або відрізнявся на $\pm 1\log_2$.

Після відбору півнів, які найкраще підходили, проводили повторне дослідження, у якому під час приготування суспензії еритроцитів змішували кров 3 півнів. Якщо результат сходився з попереднім, їх призначали донорами та створювали групу.

Висновок: за даними результатами було досліджено зміну титру гемаглютинуючої активності вірусу з суспензією еритроцитів різних півнів, а також створення групи півнів-донорів для подальшого використання при постановці РГА.

Список використаної літератури:

1. Джеквуд М. Вирусы инфекционного бронхита кур: текущая ситуация по типам // VIII International Veterinary Congress. Москва, 2018. С. 2 – 8.
2. Серова Н. Ю. Индикация и идентификация изолятов вируса инфекционного бронхита кур : дис. канд. вет. наук : 06.02.02. Санкт-Петербург, 2017. 106 с.
3. Кочетовский Д.С. Диагностика инфекционного бронхита птиц // Актуальные проблемы вирусных болезней животных. Москва, 2017. С. 2 – 3.
4. OIE Terrestrial Manual. World Organisation of Animals, 2018. 515 с.
5. Henderson E. What is hemagglutination? // News medical life science. 2019. URL: <https://www.news-medical.net/health/An-Overview-of-Hemagglutination.aspx>