

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ НАКОПИЧЕННЯ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ, ШТАМУ «БК/07»

Кузовлева В.Д.¹, Собко Ю.А.², Шевченко Н.І.³

¹КШ ім. Ігоря Сікорського

^{2,3}ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», info@biotestlab.net

Вступ. Інфекційний бронхіт курей (надалі – ІБК) є висококонтагіозним захворюванням, що оцінюється як друга найбільш шкідлива хвороба свійської птиці після високопатогенного пташиного грипу [1]. Захворювання викликає коронавірус, який вражає верхні дихальні шляхи та репродуктивний тракт, що призводить до зменшення несучості курей.

Вакцинація є найважливішим способом боротьби з інфекційними захворюваннями у курей. Враховуючи генетичну мінливість вірусу ІБК найефективнішою стратегією вакцинації є використання генетично споріднених варіантів вірусу, що дозволить забезпечити перехресний захист [2].

Штам «БК/07» є генетично близьким до штаму штаму 793/В – одного з найбільш поширених серотипів ІБК у всьому світі. Використання даного штаму в схемах вакцинації курей надасть змогу розширити ступінь захисту від захворювання.

Метою нашої роботи було визначення оптимальних умов накопичення вірусу ІБК, штаму «БК/07» за-для отримання очікуваного рівня вірусної активності у вакцині.

Матеріали та методи. Вірус ІБК, штам «БК/07» з титром інфекційної активності $7,2 \lg \text{ЕІД}_{50}/\text{см}^3$. Штам є високочутливим до сонячного проміння та зменшує активність за кімнатної температури.

Культивування вірусу проводили у ВПФ-КЕ (фірми Charles River, США) 11-добового віку.

Було сформовано 6 груп по 30-40 ВПФ-КЕ у кожній. Доза зараження становила $3,0 \lg \text{ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$; $3,5 \lg \text{ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ та $4,0 \lg \text{ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ відповідно.

Зараження курячих ембріонів відбувалося у зоні ламінарного потоку за допомогою одноразових 1,0 мл шприців в товщу алантоїсної рідини в об'ємі $0,2 \text{ см}^3$ на кожен ембріон. Розведення вірусу протягом процесу зберігалися на холодоагенті температурою $2-8^\circ\text{C}$ з метою збереження активності вірусу.

Далі зараженні КЕ інкубували за температури $37,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ та $36,0\pm 0,5^\circ\text{C}$ впродовж 36 годин. На 24-ту годину інкубації було проведено облік неспецифічної загибелі ембріонів, що відбулася в результаті «заколу», з метою відбракування даних яєць. На 36-ту годину було проведено облік специфічної загибелі ембріонів – під дією інфекційної активності вірусу – та постановка КЕ на охолодження протягом 12 годин.

Після був проведений етап збору напрацьованого антигену в умовах ламінарного потоку. Антиген з кожної групи КЕ збирався окремо у відповідні промарковані ємності.

Подальше визначення титру інфекційної активності отриманого антигену з кожної групи КЕ проводили шляхом титрування на 8-11-добових ВПФ-КЕ.

Готували десятикратні розведення отриманого антигену на фосфатно-сольовому буфері від 10^{-1} до 10^{-8} . Кожним розведенням заражали по 4 КЕ в алантоїсну порожнину, в об'ємі $0,2 \text{ см}^3$.

Заражені ВПФ-КЕ інкубували при $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ протягом 8 діб. Через 24 години після зараження провели відбракування неспецифічно загиблих ембріонів.

Після закінчення терміну інкубування провели розтин ВПФ-КЕ. ВПФ-КЕ з ознаками ураження вірусом інфекційного бронхіту курей: відставання у рості, карликовість, виснаження, вважали позитивними. Визначення титру проводили за формулою Кербера в модифікації Ашмаріна.

Результати та обговорення. Було встановлено титр інфекційної активності вакцинного вірусу в різних температурних умовах інкубації та при дозах зараження (табл. 1).

Таблиця 1. Титр інфекційної активності вірусу ІБК шт. БК-07 в різних температурних умовах інкубації та при дозах зараження.

Доза зараження, $\lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$	Титр інфекційної активності ($\lg \text{ ЕІД}_{50}/\text{см}^3$) за температури інкубації:	
	$36,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$	$37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$
3,0	7,0	7,2
3,5	7,5	7,7
4,0	7,3	7,7

Спостерігається збільшення титру активності вірусу при збільшенні температури культивування від $36,0$ до $37,5^\circ\text{C}$.

За доз зараження $3,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ та $4,0 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ та температури культивування $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ спостерігається однаково високий титр активності. Але при дозі зараження $3,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ за температури культивування $36,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ був трохи більшим, ніж при дозі $4,0 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$. Тому, враховуючи те, що при дозі $3,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ титр активності вірусу був вищим при обох температурах, можна прийняти, що доза $3,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ є більш ефективною для культивування.

Також варто відзначити, що більш висока доза вірусу призводить до більшого відсотку специфічної загибелі.

Висновки. За результатами проведених досліджень нами були встановлені оптимальні умови накопичення вірусу інфекційного бронхіту курей, штаму «БК/07»: доза зараження $3,5 \lg \text{ ЕІД}_{50}/0,2\text{см}^3$ та температура культивування $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Список використаної літератури:

1. Rodrigo A. Infectious bronchitis virus variants in chickens: evolution, surveillance, control and prevention. Austral journal of veterinary sciences. 2021. Vol. 53, No. 1. P. 55-62.
2. Sultan Hesham A., Ali Ahmed, El Feil Wael K. Protective Efficacy of Different Live Attenuated Infectious Bronchitis Virus Vaccination Regimes Against Challenge With IBV Variant-2 Circulating in the Middle East. Frontiers in Veterinary Science. 2019. Vol. 6.