

УДК 619:616.98:578.842.1

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРОТИПОВОЙ
СПЕЦИФИЧНОСТИ
НЕГЕМАДСОРБИРУЮЩИХ ШТАММОВ
ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ**Серёда Алексей Дмитриевич
д. б. н., профессор*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский
институт ветеринарной вирусологии и
микробиологии Российской академии
сельскохозяйственных наук, г. Покров, Россия*

Инактивированные по инфекционности гамма-облучением культуральные препараты (γ -ОП) из негемадсорбирующих штаммов вируса африканской чумы свиней (АЧС) приобретают способность индуцировать гемадсорбцию в культуре клеток костного мозга свиней (ККМС). Получены экспериментальные данные, свидетельствующие, что модификация реакции задержки гемадсорбции (РЗГАд) - реакция «снятия» гемадсорбции, индуцируемой γ -ОП, может быть использована в научно-исследовательской работе при определении серотипоспецифичности негемадсорбирующих изолятов вируса АЧС

Ключевые слова: ВИРУС АФРИКАНСКОЙ
ЧУМЫ СВИНЕЙ, РЕАКЦИЯ ЗАДЕРЖКИ
ГЕМАДСОРБЦИИ, НЕГЕМАДСОРБИРУЮЩИЕ
ШТАММЫ

UDC 619:616.98:578.842.1

**DETECTION OF SEROTYPE SPECIFICITY
OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS NON-
HAEMADSORBING STRAINS**Sereda Alexey Dmitrievich
Dr. Sci. Biol., professor*State Research Institution National Research
Institute for Veterinary Virology and Microbiology
of Russia, Russian Academy for Agricultural
Science, Pokrov, Russia*

Gamma irradiation-inactivated cultural preparations (γ -IP) of African swine fever (ASF) non-haemadsorbing strains acquire a potential for haemadsorption induction in porcine bone marrow culture (PBMC). We have obtained some experimental data indicating that a modification of haemadsorption inhibition assay (HIA) which is an assay aimed at "removal" of γ -IP-induced haemadsorption may be used in research works to determine serospecificity rates of ASF virus non-haemadsorbing isolates

Keywords: AFRICAN SWINE FEVER VIRUS,
HAEMADSORPTION INHIBITION, NON-
HAEMADSORBING STRAINS

Вирус АЧС гетерогенен по составу генома, физико-химическим свойствам, патогенности, антигенности, способности индуцировать гемадсорбцию. Разработаны методы классификации штаммов, основанные на генотипических или фенотипических свойствах вируса АЧС [1, 2, 4–6]. Наиболее распространенным способом, позволяющим типировать штаммы и изоляты *in vitro* по фенотипическому признаку, была и остается РЗГАд. По данным РЗГАд и иммунологических проб на свиньях депонированные во ВНИИВВиМ штаммы и изоляты вируса АЧС разделены на 11 групп, из которых 8 охарактеризованы как сероиммуногруппы с соответствующими референс-штаммами. Однако, наличие значительного количества выделенных в Африке от аборигенных свиней и аргасовых клещей негемадсорбирующих штаммов и изолятов вируса АЧС создает

существенные трудности в их сероиммунотиповой классификации.

Было обнаружено, что γ -ОП, приготовленные из лизатов адгезированных клеток (А-клеток) культуры ККМС, инфицированных гемадсорбирующими и негемадсорбирующими штаммами вируса АЧС, индуцируют развитие гемадсорбции в культурах ККМС [3]. Представлялось целесообразным изучить это явление и попытаться определить возможность его использования для серотипирования негемадсорбирующих штаммов, изолятов, вариантов вируса АЧС.

Условия и методика проведения исследований

Двухсуточную культуру ККМС в 1.5 литровых клинских матрасах заражали вирусом АЧС с множественностью 10^{-4} ГАЕ₅₀ или ТЦД₅₀/клетка. Через 4-5 суток культивирования при 37 °С вирусосодержащую суспензию дважды осветляли центрифугированием при 3000 g 30 мин, в надосадоk добавляли полиэтиленгликоль с м.м. 6000 кДа до 5 % и через 24 часа инкубирования при 4 °С осаждали преципитат при 3000 g в течение 20 мин. Осадок ресуспендировали в 0.15 М NaCl в фосфатном буферном растворе с pH 7.2 (ФБР) в объеме 1:100 от исходного и переосаждали через раствор 30 % сахарозы на ФБР при 50000 g в течение 2 часов. Осадок ресуспендировали в ФБР в объеме 1:500 от исходного и подвергали γ -облучению в дозе 25 кГрей.

РЗГАд ставили в двух модификациях:

1. По 0.5-1.0 мл сыворотки вносили в 9 см³ двухсуточной культуры ККМС и затем добавляли по 1 см³ γ -ОП в разведениях от 1:16 до 1:512. Учет реакции производили через 1-2 суток.

2. В чашки Карреля с 9 см³ двухсуточной культурой ККМС вносили по 1 см³ γ -ОП в разведениях от 1:16 до 1:1024. В течение трех суток наблюдали за развитием гемадсорбции. На вторые или третьи сутки отбирали чашки с гемадсорбцией, вносили в них по 0.5-1.0 см³ гомологичных и гетерологичных по сероиммунотипу антисывороток. Учет

реакции производили через 30-60 мин инкубирования при 37 °С.

Интенсивность гемадсорбции γ -ОП в культуре ККМС оценивали по бальной шкале при наблюдении в световой микроскоп с увеличением $\times 400$:

- (0) — нет адсорбции эритроцитов;
- (1) — по 3-9 эритроцитов адсорбированы на 3-8 А-клетках;
- (2) — по 3-9 эритроцитов на более 50 % А-клеток;
- (3) — более 10 эритроцитов адсорбированы на более 50 % А-клеток;
- (4) — более 10 эритроцитов адсорбированы на более 90 % А-клеток.

Результаты исследований

В сравнительном аспекте была изучена способность индуцировать гемадсорбцию γ -ОП из гемадсорбирующего вирулентного эпизоотического штамма Катанга-78 и его культуральных вариантов: вирулентного с атипичной («рыхлой») гемадсорбцией Катанга-105, авирулентных и негемадсорбирующих вариантов Катанга-149, Катанга-170, Катанга-190. Установлено, что γ -ОП из негемадсорбирующих вариантов вируса АЧС в 2-4 раза более активны в способности индуцировать гемадсорбцию, чем — из гемадсорбирующих (табл. 1).

Таблица 1 — Гемадсорбирующая активность γ -ОП из штаммов и вариантов вируса АЧС

Штамм, вариант вируса АЧС	Интенсивность гемадсорбции в баллах в присутствии γ -ОП в различных разведениях							
	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
Катанга-78	3	3	2	2	2	2	1	0
Катанга-105	3	2	2	1	1	1	1	0
Катанга-149	4	4	4	4	4	4	2	0
Катанга-170	4	4	3	3	3	3	3	2
Катанга-190	4	4	4	4	3	3	2	2

Свойство γ -ОП из негемадсорбирующих штаммов и вариантов вируса АЧС индуцировать гемадсорбцию побудило изучить ее серологическую типоспецифичность. В экспериментах использовали препараты из негемадсорбирующего авирулентного варианта Катанга-149, выделенного в

лабораторных условиях из вирулентного гемадсорбирующего шт. Катанга-78, относящегося к 1 сероиммунотипу; негемадсорбирующего авирулентного шт. Мфуати-79, относящегося по данным иммунопробы на свиньях к 2 иммунотипу; негемадсорбирующего авирулентного варианта Фнг, выделенного из вирулентного гемадсорбирующего шт. Ф-32, являющегося референс-штаммом 4 сероиммунотипа, а также активные в РЗГАд антисыворотки к референс-штаммам 1—4 серотипов с титрами 1:160-1:640. Эксперименты показали, что добавление гомологичных по сероиммунотипу вируса антисывороток снижает интенсивность гемадсорбции γ -ОП, а в ряде случаев полностью задерживает в первой модификации или «снимает» во второй модификации гемадсорбцию. Данные, представленные в таблице, свидетельствуют, что реакция «снятия» гемадсорбции серотипоспецифична (табл. 2).

Таблица 2 — Результаты РЗГАд с γ -ОП из различных штаммов и вариантов вируса АЧС (модификация «снятия»)

Антисыворотки		Интенсивность гемадсорбции в баллах в присутствии γ -ОП		
Сероиммунотип	Разведения	Катанга-149	Мфуати - 79	Фнг
1	1 : 64	2	4	2
	1 : 128	1	4	2
	1 : 256	0	2	1
	1 : 512	0	2	1
	1 : 1024	0	1	0
2	1 : 64	3	2	4
	1 : 128	2	1	4
	1 : 256	1	0	2
	1 : 512	1	0	1
	1 : 1024	0	0	0
3	1 : 64	3	4	4
	1 : 128	2	4	2
	1 : 256	1	3	2
	1 : 512	1	2	1
	1 : 1024	0	1	0
4	1 : 64	3	4	2
	1 : 128	1	4	1
	1 : 256	1	2	0
	1 : 512	0	2	0
	1 : 1024	0	1	0

В большей степени это показательно со шт. Мфуати-79. Обращает на себя внимание активность в данной реакции антисыворотки 1 серотипа по отношению к γ -ОП из варианта Фнг 4 серотипа и антисыворотки 4 серотипа по отношению к γ -ОП из варианта Катанга-149 I серотипа. Вероятно, это связано с антигенным сходством штаммов этих серотипов. Из проведенных 23 экспериментов в 17 реакция задержки или «снятия» гемадсорбции была серотипоспецифична (74 %), в 4 сомнительна (17.4 %) и в двух - не серотипоспецифична (8.6 %).

Постановка реакции во второй модификации более экономична в отношении расходования антисывороток и более специфична. Последнее связано с тем, что до момента учета реакции при постановке в первой модификации происходит связывание активных в РЗГАд антител гомологичной антисыворотки, т.к. в ряде экспериментов наблюдали восстановление гемадсорбции, индуцируемой γ -ОП, через 24-36 часов после ее «снятия» гомологичной антисывороткой.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что модификация РЗГАд - реакция «снятия» гемадсорбции, индуцируемой γ -ОП, может быть использована в научно-исследовательской работе при определении серотиповой принадлежности негемадсорбирующих изолятов вируса АЧС.

Список литературы

1. Антигенное различие изолятов вируса африканской чумы свиней в пределах одного серотипа по данным количественной радиоиммунопреципитации / Е.Г. Анохина, А.Д. Серeda, Н.И. Митин, В.В. Макаров // Актуал. вопр. вет. вирусол. - Покров, 1995. - С. 138.
2. Балышев, В.М. Изучение гетеротиповых взаимодействий штаммов вируса АЧС ин витро и ин vivo / В.М. Балышев, И.В. Федорищев, М.В. Салина // Вирус. болезни с.-х. животных. - Владимир, 1995. - С. 230.
3. Серeda, А.Д. Физико-химический полиморфизм вирусной популяции и дефектные интерферирующие частицы вируса африканской чумы свиней / А.Д. Серeda, Н.А. Власов, В.В. Макаров // Вестник РАСХН. - 1997. - № 5. - С.67-70.
4. Серeda А.Д., Макаров В.В. Идентификация изолятоспецифического гликополипептида вируса африканской чумы свиней / А.Д. Серeda, В.В. Макаров // Ветеринария. - 1992. - № 1. - С. 22-24.

5. Сероиммунологическая классификация природных изолятов вируса африканской чумы свиней / И.Ф. Вишняков , Митин Н.И.; Петров Ю.И.; Черятников Л.Л.; Киселев А.В.; Бурлаков В.А.; Балышев В.М.; Федорищев И.В.; Моргунов Ю.П. // Актуал. вопр. вет. вирусол., Покров. - 1995. - С. 141-143.
6. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterization / Bastos ADS, Penrith M-L, Crucière C. // Arch. Virol. – 2003. – vol.148. - P. 693 – 706.