

МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
ВЕТЕРИНАРНАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ К.И.СКРЯБИНА

На правах рукописи

ОНТУСЖА ВАРТЕЛЕМИ

ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ ГАМБОРО В КОНГО

16.00.03 - Ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология и иммунология

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени кандидата  
ветеринарных наук

В. 13496

Москва - 1991 год

Работа выполнена в Кишиневском ордена Трудового Красного Знамени сельскохозяйственном институте им. М.В.Фрунзе.

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук, профессор  
Нарышова А.Ф.

Официальные оппоненты:

- доктор биологических наук, ст. научный сотрудник Осидзе Н.Г.
- кандидат ветеринарных наук, ст. научный сотрудник Смоленский В.И.

Ведущая организация - Всесоюзный научно-исследовательский  
ветеринарный институт птицеводства

Защита состоится "14" сентября 1992 года в "10" часов  
на заседании специализированного совета К-120.36.05. по защите  
диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук в Москов-  
ской ордена Трудового Красного Знамени ветеринарной академии  
им. К.И.Скрябина (109472, г.Москва, ул. Академика Скрябина, 23;  
телефон: 377-93-83).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке академии.

Автореферат разослан "9" сентября 1992 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета

Федосеева Т.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Благополучие птицеводческих хозяйств по инфекционным болезням во многом определяет эффективность этой отрасли. Однако в последнее время в различных странах большие экономические потери птицеводству наносит болезнь Гамборо, вызывая высокую заболеваемость и летальность птиц. Особенно опасна она в субклинической форме, а также осложненная вторичной инфекцией (J.T.Kagameg, 1972; P.J.Wyeth, 1975; G.G.Giambrone et al., 1976; A.C.Алиев, 1982, A.C.Алиев с соавт., 1990 и др.).

Трудности выявления латентных форм инфекции и низкий уровень ветеринарного обслуживания птицеводческих ферм явились основной причиной значительного распространения болезни Гамборо в Конго (Онтсука Бартолеми, Т.Зекиба, 1989). В то же время из-за отсутствия местного производства диагностических антигенов и очень высокой стоимости импортируемых из-за рубежа биопрепаратов не представляется возможным прояснить истинную эпизоотическую ситуацию в стране и провести эффективную борьбу с этой болезнью.

Поэтому разработка способа изготовления активных диагностических антигенов из местных штаммов вируса болезни Гамборо и усовершенствование серологического метода диагностики болезни является актуальным для Республики Конго.

Цели и задачи исследований. Целью наших исследований явилось выделение от больной птицы в Конго эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо, изучение биологических свойств выделенных штаммов в сравнении с эталонным штаммом 52/70, отбор наиболее активных в антигенном отношении штаммов вируса болезни Гамборо, разработка оптимальных режимов инактивации вируса посредством различных физических факторов, приготовление на их основе активных и специфических антигенов для серологической диагностики болезни Гамборо. Для достижения поставленной цели требовалось выполнение следующих основных задач:

- изучение эпизоотической ситуации по болезни Гамборо в Конго;
- выделение эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо от больных цыплят;
- изучение в сравнительном аспекте инфекционных и антигенных свойств выделенных эпизоотических штаммов вируса с эталонным штаммом 52/70 и отбор наиболее активных в антигенном отношении штаммов для приготовления диагностических препаратов;
- определение оптимальных режимов инактивации вируса болезни Гамбо-

ро с помощью таких физических факторов, как ультразвук, лазерное излучение и гамма-лучи;

- разработка методики изготовления диагностических антигенов из инактивированного вируса болезни Гамборо, контроль их стерильности, активности и специфичности;
- изучение антигенных и иммуногенных свойств антигенов, приготовленных различными физическими методами;
- определение эффективности приготовленных антигенов для серологической диагностики болезни Гамборо в инфицированных хозяйствах в сравнении с диагностикумом "РИД-Гамборо" французского производства.

Научная новизна. Выявлены эпизоотологические особенности проявления болезни Гамборо в Конго: внезапность появления, короткое течение (5-10 дней), широкое распространение, стационарность, латентность, широкая серопозитивность, одновременное течение с другими инфекциями или осложнением возбудителя вторичной инфекции и др. От больных и павших цыплят выделено шесть эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо и изучены их биологические свойства. Отобрано три эпизоотических штамма вируса, которые после 5-8 пассажей на 30-дневных цыплятах приобрели способность максимального накопления вируса в фабричных сушках инфицированных цыплят. Разработан принципиально новый способ инактивации вируса болезни Гамборо ультразвуком или лазерным излучением, обеспечивающий повышение в два раза антигенной активности вируса при существенном снижении инфекционных свойств. Предложена методика приготовления инактивированных антигенов, активных и специфичных в РИД с гомологичными анτισыворотками. Установлена высокая антигенная и иммуногенная активность вирусных препаратов, полученных ультразвуком или лазерным излучением и их сочетанием в опытах на 120 цыплятах 30-дневного возраста. Приготовлены экспериментальные образцы инактивированных вирусных антигенов, позволяющих эффективно осуществлять серологическую диагностику болезни Гамборо в неблагополучных хозяйствах Конго.

Практическая ценность работы. На основании экспериментальных данных разработаны параметры инактивации вируса болезни Гамборо и повышения его антигенной активности посредством использования ультразвука и лазерного излучения. Предложена методика изготовления активных и специфичных в РИД антигенов из местных штаммов вируса болезни Гамборо, инактивированных ультразвуком и лазерным излучением.

Установлено широкое распространение латентной и осложненной форм болезни Гамборо при апробации серологической диагностики с использованием приготовленных по предложенной методике вирусных антигенов. В инфицированных хозяйствах Конго было выявлено от 70,77 до 79,63% серопозитивных проб. В параллельных исследованиях с использованием контрольного антигена "Ронмерье" положительная РИД установлена лишь в 77,1% проб.

Доказана целесообразность использования показателей индексов фабрициевых сумок (отношение веса фабрициевых сумок к весу тушек) для определения инфицированности цыплят слабовирусными штаммами вируса болезни Гамборо.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на заседании сотрудников Центра ветеринарных и зоотехнических исследований (Браззавиль, 1989 г.), на Учёном совете ветеринарного факультета Кишинёвского сельскохозяйственного института (1989, 1990 и 1991 гг.) на заседании кафедры эпизоотологии Кишинёвского сельскохозяйственного института (1991 г.), на межфакультетском совещании ветеринарного факультета КСХИ (1991 г.).

По материалам диссертации опубликованы две научные работы.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, включает 19 рисунков, 15 таблиц и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, выводов, практических предложений, списка литературы, включающего 229 источников, из которых 201 - иностранные.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении эпизоотической ситуации по болезни Гамборо в Республике Конго учитывалось распространение инфекции на территории страны в 1978-1989 гг., определялась динамика неблагоприятных пунктов, заболеваемости и летальности по данным отчётов Центра ветеринарных и зоотехнических исследований (Браззавиль) и данным собственных исследований (с участием студента КСХИ Т.Зекмба) в 8 инфицированных хозяйствах, 11 населённых пунктах в областях Пул, Буэнза и окрестностях Браззавиля.

Выделение эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо в его пассажи проводились на цыплятах 30-дневного возраста со средним индексом фабрициевых сумок 2,6-3,4. Идентификация вируса осуществлялась в РИД согласно методике K. Nigai et al. (1972) со специфической сывороткой производства Ронмерье (Франция).

Титрование вируса проводилось на пылятах по оценке поражения фабричных сумок. Величина титра вычислялась по методу Reed и Muench (1938) и выражалась в бурсальных поражениях — БП 50/мл (или 50/мл). Для заражения пылят использовались 10%-ные суспензии фабричных сумок, отобранных от павших и вынужденно убитых пылят во время вспышек болезни Гамборо в хозяйствах Конго в 1986-1989 гг., а также эталонный штамм 52/70, полученный из Всесоюзного научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства (г. Ленинград).

На 3-5-13-й день после поражения отбирались пробы крови для определения величин прироста специфических антител, а также фабричные сумки для индикации вируса болезни Гамборо и вычисления среднего индекса фабричных сумок. Для индикации вирусного антигена в патологическом материале и исследования сывороток крови применялась РИД. Всего было исследовано 962 фабричные сумки и 2321 проба сывороток крови.

Разработка режимов инактивации вируса болезни Гамборо с помощью ультразвука, лазерного излучения и гамма-лучей осуществлялась на оборудовании Центра ветеринарных и зоотехнических исследований в Конго, Французской школы Сент-Экзюпери и Центра университетского госпиталя (г. Бразазавиль), Препарованные с использованием ультразвука, лазерного излучения и гамма-лучей экспериментальные серии инактивированных вирусных антигенов испытывались на активность и специфичность в РИД со специфической сывороткой производства Ромьерье (Франция). Всего приготовлено и испытано 139 серий антигенов. Для серологической диагностики изготовленные антигены апробированы в 8 крупных и мелких хозяйствах Конго и в 11 населенных пунктах республики.

В специально поставленном опыте на 120 пылятах проводилось изучение антигенной и иммуногенной активности эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо, инактивированных физическими методами, в сравнении с вакциной Tad-Gamboro.

Для математической обработки полученных результатов использовался метод И.П. Ашмарина, А.А. Воробьева (1962).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

##### Эпидемиологическая характеристика болезни Гамборо в Конго.

По данным научных отчетов Центра ветеринарных и зоотехнических исследований болезнь Гамборо регистрируется в Конго с 1978 г.

Анализ статистических данных, проведенный нами, свидетельствует о том, что с этого времени болезнь Гамборо имеет тенденцию к постоянному распространению, особенно заметному в период с 1982 по 1984 годы, когда количество неблагополучных пунктов возросло на 10%. Наибольшее их количество за исследуемый период приходится на 1988-1989 годы. Приведенные данные, однако, не являются исчерпывающими, так как отсутствие отечественных диагностических препаратов и дороговизна импортных не позволяли в те годы проводить повсеместное серологическое обследование птиц в хозяйствах и населенных пунктах республики. Подтверждением этому является тот факт, что при использовании приготовленного нами антигена из местных штаммов вируса болезни Гамборо для исследования в РИД сывороток крови птиц, отобранных в 1988-1989 годах из 8 разных хозяйств и 11 населенных пунктов республики, серопозитивность устанавливалась в 70,77-79,63% проб.

В зависимости от неблагополучия по болезни Гамборо представляется возможным разделить территорию Конго на южную и северную зоны. Южная - самая неблагополучная, особенно в городе Браззавиль и области Пул, где количество неблагополучных пунктов достигает 43,36 и 33,36% соответственно. Северная зона считается благополучной по болезни Гамборо из-за отсутствия здесь вспышек инфекции, хотя обнаружение в сыворотках крови птицы специфических преципитирующих антител свидетельствует о циркуляции и здесь вируса болезни Гамборо.

При эпизоотологическом обследовании инфицированных зон нами установлено, что продолжительность болезни Гамборо у птицы составляет 5-10 дней. Заболеваемость достигает 100% у 23-50-дневных цыплят. Летальность колеблется в широких пределах - от 0,5 до 47,36%. Наибольший падеж приходится на 3-4 дни болезни (1,67 - 11,35%).

Выделение эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо на серонегативных цыплятах. Для выделения вируса болезни Гамборо использовали фабричные сумки, которые были отобраны от больных и павших цыплят во время вспышки инфекции в Конго в 1986-1989 годах. Из каждой пробы фабричных сумок готовили на физиологическом растворе 10%-ную суспензию, которой заражали по 20 цыплят, вводя 0,2 мл суспензии интраназально и интраскулярно одновременно. На 3-5 и 13-й дни после заражения убивали по 5 цыплят, отбирали их фабричные сумки для идентификации вируса и вычисления среднего индек-

са фабричных сумок:  $\frac{\text{масса фабричной сумки (г)}}{\text{масса тушки цыплят (г)}} \times 1000$

В эти же сроки определяли наличие в крови специфических антител. Точно так же исследовали погибших в опыте цыплят. При этом индексом фабричных сумок зараженных цыплят сравнивали с индексом фабричных сумок незараженных серонегативных цыплят (контроль) из той же партии цыплят, из которой отбирали их для заражения. Индексом фабричных сумок последних составляли  $3,3 \pm 0,5$ . Контролем опыта служили цыплята, зараженные эталонным штаммом 52/70 вируса болезни Гамборо, полученным из Всесоюзного научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства (г. Ленинград), а также незараженные цыплята из той же партии. В результате проведенной работы было выделено шесть штаммов вируса болезни Гамборо от больных павших цыплят.

Биологические свойства эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо, выделенных от цыплят в Конго. Штаммы вируса, выделенные из патологического материала, собранного в 1986-89 гг., вызвали в эксперименте клиническое проявление болезни у 50-70% зараженных цыплят. Инкубационный период составлял 72-96 час., продолжительность болезни - 4-6 дней, летальность - 28,5%. Инфицирование эталонным штаммом вируса 52/70 (контроль) вызывало клиническую картину болезни у 30% цыплят, гибели их не наблюдалось.

При вскрытии погибших в эксперименте цыплят основные патолого-анатомические изменения обнаруживались в фабричных сумках: увеличение объема органа в 3-4 раза, накопление в полости органа беловатой, иногда кровянистой, густой массы, отечность складок, точечные кровоизлияния. Индексом фабричных сумок, отобранных у цыплят на 5-8 и 13-8 дни после заражения эпизоотическими штаммами вируса, были в 1,07-3,5 раза ниже индексов фабричных сумок интактных (здоровых) цыплят. Индексом фабричных сумок от цыплят, инфицированных эталонным штаммом 52/70 вируса болезни Гамборо, были в 1,1-2,7 раза ниже, чем у интактных цыплят. Во всех фабричных сумках с третьего после заражения дня обнаруживался специфический преципитирующий антиген в титрах 1:2-1:4. На 5-8 день положительная РИД устанавливалась лишь с 40-80% исследуемых проб. Специфические антитела в сыворотках крови выявлялись на 5-8 день инфицирования у 40-60% цыплят, на 13-8 день - у 100% цыплят. РИД была отрицательной при исследовании фабричных сумок и сывороток крови интактных цыплят (контроль).

Для получения высокой антигенной активности эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо в результате максимального его накопления в фабричных сумках, было проведено пассирование их на овронегативных 30-дневных цыплятах. При каждом пассаже строго фиксировали сроки появления клинических признаков, заболеваемость, летальность, продолжительность болезни, антигенную активность в РИД, количественные показатели индексов фабричных сумок, титры специфических антител. Результаты представлены в таблице 1, из которой видно, что при пассажах на цыплятах происходит постоянное повышение инфекционных свойств и антигенной активности выделенных штаммов вируса болезни Гамборо: сокращение инкубационного периода, увеличение заболеваемости, летальности, продолжительности болезни. Увеличилась и преципитирующая активность антигена вируса. Наибольшая активность антигена устанавливалась при отборе фабричных сумок через 48-72 часа после заражения.

Антигенная активность выделенных местными эпизоотическими штаммами вируса болезни Гамборо из патологического материала, отобранного в 1986-89 гг, была в 2-4 раза выше, чем у эталонного штамма вируса 52/70. Инфекционные титры шести эпизоотических штаммов вируса, выделенного из этого же материала, колебались в пределах  $10^{3,0}-10^{4,0}$  вл 50/мл, тогда как инфекционный титр эталонного штамма 52/70 составлял  $10^{2,8}$  вл 50/мл. При пассировании трех эпизоотических штаммов 1986-87 гг на 30-дневных цыплятах индексы фабричных сумок на 13-й день были в 2,12-3,8 раза ниже, чем у здоровых цыплят, у трех штаммов 1988-89 гг - в 2,36-4,67 раза, а при использовании эталона - только в 1,9-2,7 раза. С введением эпизоотических штаммов у цыплят наблюдалось образование специфических антител в титре до  $5 \cdot 10^4$ , при использовании эталонного штамма - до  $4 \cdot 10^2$ . В результате проведенной работы отобрано три эпизоотических штамма вируса болезни Гамборо с высокой и постоянной антигенной активностью, которые были использованы для изготовления диагностических препаратов.

Разработка оптимальных режимов инактивации вируса болезни Гамборо физическими методами. Для инактивации вируса болезни Гамборо были использованы ультразвук, лазерное излучение (и их последовательное действие), гамма-лучи. Контроль осуществляли, заражая 30-дневных цыплят. Результаты представлены в таблице 2, из которой видно, что ультразвуковое воздействие на вирус при частоте 50 кГц не приводит к инактивации его инфекционной и антигенной

Таблица 1

Результаты изучения биологических свойств эпидемиологических штаммов вируса болезни Гамборо, выделенных в Конго от больных и погибших шимпанзе в 1986-87 гг (группа А), в 1988-89 гг (группа В) в сравнении с контролем - эталонным штаммом 52/70 (К)

Группа	Порядк номера пассажей на шимпанзе	Сроки появления клинических признаков (в часах)	Заболелость (%)	Летальность (%)	Продолжительность болезни (дни)	Активность антигена в РИД	Индекс фабричных сумок			Наличие специфических антител (log <sub>2</sub> )	
							до заражения	после заражения	после заражения	5-й день	13-й день
А	I-II	48-96	50-85	16,6-17,6	4-5	I:2-I:4	2,8±0,2-3,3±0,5	2,1±0,5-2,7±0,3	0,9±0,1-1,1±0,3	I	2-3
	IV-VI	24-48	70-95	21,4-33,3	8-9	I:4-I:8	2,6±0,4-3,0±0,2	1,7±0,1-1,9±0,2	0,7±0,2-1,2±0,3	I	4-5
	VI-VII	24-48	95	21,0-26,3	7-10	I:8	2,8±0,3-3,4±0,3	2,1±0,2-2,3±0,1	1,1±0,2-1,6±0,4	2	5
В	I-III	36-72	70-90	26,0-28,5	6-9	I:2-I:4	2,8±0,2-3,3±0,5	1,9±0,2-2,4±0,2	0,9±0,1-1,4±0,2	I	2-3
	IV-V	24	95-100	36,0-36,8	8-10	I:4	3,0±0,2-3,0±0,3	2,5±0,3-2,8±0,4	0,6±0,1-1,2±0,3	I	2-4
К	-	72-120	20-60	10,0-16,6	3-7	I:2	2,8±0,2-3,3±0,5	2,0±0,1-3,0±0,5	1,03±0,2-1,7±0,4	Ц	3-4

Примечание: Ц - полный вид

Таблица 2

Результаты инактивации вируса болезни Гамборо различными физическими методами

Вид воздействия	Мощность и продолжительность воздействия на вирус физических факторов	Контроль инактивации инфекционных свойств вируса				Результаты инактивации вируса
		Средние индексы фабричных сумок шимпанзе	Гистологические изменения в фабричных сумках на 10 день после заражения	После заражения	После заражения	
Ультразвук	250 Вт/см <sup>2</sup> 50 кГц, 5-10 и 15 мин	2,7±0,3	0,8±0,2 - 0,8±0,3	+++	Инактивация не наступила	
	60-70 и 80 кГц 5-10 и 15 мин	2,7±0,3	0,9±0,3 - 1,6±0,2	++	Частичная инактивация	
Лазерное излучение	1 мВт/см <sup>2</sup> длина волны 6328 Å, 1 час	2,7±0,3	0,8±0,2	+++	Инактивация не наступила	
	3 и 6 часов	2,7±0,3	1,2±0,3 - 1,3±0,2	++	Частичная инактивация	
Ультразвук + лазерное излучение	250 Вт/см <sup>2</sup> , 80 кГц 5 мин; 1 мВт/см <sup>2</sup> длина волны 6328 Å, 1-3 и 6 часов	2,7±0,3	1,7±0,2 - 2,0±0,2	+	Инактивация почти полная	
Гамма-лучи	2671 рад/мин 10-30 мин	2,7±0,3	0,8±0,2 - 1,2±0,2	+++	Инактивация не наступила	
	40 мин	2,7±0,3	1,2±0,2	++	Частичная инактивация	

Примечание. Гистологические изменения в фабричных сумках выражены: четко -(+++), менее четко-(++), слабо -(+).

активности. Вместе с тем при 60–80кГц происходит частичная инактивация, наблюдается значительное снижение инфекционных свойств вируса. В таблице наглядно видно изменение индексов фабричных сумок шпалат, зараженных озвученным и неозвученным вирусом.

Воздействие лазерного облучения на вирус болезни Гамборо за 1 час не приводит к инактивации его инфекционных свойств, 3-х и 6-часовое облучение приводило к значительному снижению их. Индексом фабричных сумок, полученных от шпалат, зараженных облученным вирусом, отличались от зараженных необлученным вирусом.

Последовательное воздействие на вирус ультразвуком при частоте 80 кГц в течение 5 мин и лазерного излучения в течение 1, 3 и 6 час приводило к значительному снижению его инфекционных свойств в сравнении с действием этих физических факторов в отдельности.

Облучение вируса болезни Гамборо гамма-лучами в течение 10–40 мин не приводило к существенным изменениям его инфекционных свойств. Сравнение индексов фабричных сумок шпалат, зараженных облученным и необлученным вирусом, дано в таблице 2.

Приготовление и испытание в РИД активности и специфичности антигенов из вирусов болезни Гамборо, инактивированного физическими методами. Для получения антигенов эпидемиологические штаммы вируса болезни Гамборо подвергали воздействию физических факторов в ранее отработанных оптимальных режимах (табл.2). Активность антигена из вируса до воздействия физических факторов составляла 1:2 (+++). Приготовленные антигены испытывали в РИД, сравнивали их активность с коммерческим антигеном "RMG-Gumboro", изготовляемым фирмой Роньерье. Специфичность исследуемых антигенов определяли с сывороткой, содержащейся в диагностическом наборе "RMG-Gumboro", а также с гетерологичными сыворотками – против болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита, гриппа. Контролем служила также отрицательная сыворотка от здоровых шпалат.

Установлено, что наиболее активными являются антигены, приготовленные из эпидемиологических штаммов вируса болезни Гамборо, подвергшихся воздействию ультразвука. Они вступали в РИД со специфической антисывороткой производства Роньерье в разведении 1:4 и давали четкие линии преципитации (++++)). Менее активными оказались антигены из этих же штаммов, но разрушенные лазерным излучением, а также последовательным действием ультразвука и лазерного излучения. Они вступали в РИД тоже в разведении 1:4, но линии преципитации были менее четкими (+++).

Препараты, приготовленные из вируса болезни Гамборо, подвергшегося воздействию гамма-лучей, в РИД вступали только в цельном (неразведённом) виде и только на ++++. Это показывает, что облучение вируса болезни Гамборо гамма-лучами приводит к снижению его антигенной активности. Контрольный антиген производства Ромерье вступал в РИД с гомологичной антисывороткой в неразведённом виде, то есть был менее активным, нежели антигены, приготовленные нами с использованием физических методов. При исследовании специфичности установлено, что все приготовленные препараты, так же как и контрольный антиген, не вступали в РИД с гетерологичными сыворотками и сыворотками адорновых цыплят.

Таким образом, в результате исследований 139 серий препаратов, полученных из вируса болезни Гамборо воздействием на него физическими методами, разработан и рекомендован в практику новый способ изготовления высокоактивных безопасных инактивированных антигенов, которые с успехом могут заменить в Конго импортные препараты для серологической диагностики болезни Гамборо.

Оценка эффективности антигенов, полученных физическими методами, в серологической диагностике болезни Гамборо в инфицированных хозяйствах. Для определения практического значения антигенов, полученных при воздействии на вирус ультразвука, лазерного излучения и гамма-лучей, проводили исследования на 8 фермах и в 11 населённых пунктах Республики Конго. Всего было отобрано и исследовано в РИД 869 проб сывороток крови кур разных пород и возрастных групп. Полученные результаты показали, что все испытанные антигены способны выявлять специфические антитела к вирусу болезни Гамборо в сыворотках крови кур.

При испытании антигенов, полученных ультразвуковой или лазерной обработкой вируса болезни Гамборо, или их последовательным воздействием, в хозяйствах города Браззавиль и его окрестностей (ферма Церковного прихода, ферма Рашель и секция разведения Центра ветеринарных и зоотехнических исследований), где заболевание протекает в основном в острой форме, наличие специфических антител установлено в 80-100% проб. С помощью антигенов, полученных на вирусах, облучённых гамма-лучами, серопозитивность была выявлена у 53,34-89,42% проб. Стандартный антиген производства Ромерье (Франция) выявил параллельно 66,67-96,67% серопозитивных проб.

На фермах Нэско, Муосоо, Буба и в хозяйствах и населённых пунктах областей Пул (г.Климала, Мкидуки, Млоофу и Матумбу) и

Буэна (Икай), где заболевание протекало преимущественно в бессимптомной форме, серопозитивность при испытании антигенов, полученных воздействием ультразвука на вирус болезни Гамборо, была обнаружена у 40-94,03% проб; в случае лазерного облучения - 50-92,05%, в случае гамма-облучения - 30-67,46%, тогда как при использовании стандартного антигена производства Ронмерье (контроль) серопозитивность выявлена у 40-88,74% проб. Наиболее активными были антигены, полученные из обработанных ультразвуком вирусов - они выявляли наличие специфических антител у 79,63% проб. В случае лазерного облучения эффективность составляла 79,40%, а при воздействии этих факторов последовательно - 78,71%. Низкая степень выявляемости (70,77%) установлена при испытании антигенов из вируса, облученного гамма-лучами. Парадигмальный контроль со специфическим антигеном производства Ронмерье выявлял серопозитивность в 77,1% проб (табл.3).

Изучение на цыплятах антигенных и иммуногенных свойств вирусных препаратов, полученных воздействием различных физических факторов. Изучение проводили на 120 цыплятах, которым вводили антиген из вируса болезни Гамборо, подвергнутого воздействию ультразвука, лазерного излучения и гамма-лучей. Контролем служила вакцина TAD-Gumboro, а также суспензия фабричных оумок от здоровых цыплят. Антигенные свойства изучали по редотвом выявлению простота специфических антител в динамике формирования иммунитета. Иммуногенные свойства опре- для прямым заражением подопытных и контрольных цыплят вирусом, не подвергнутому инактивирующему действию. Результаты проведенных исследований показали, что препараты вируса, инактивированного всеми изученными физическими методами, вызвали образование у цыплят специфических антител, то есть это антигены. Наиболее высокие титры специфических антител устанавливались в группе цыплят, которым вводили антиген из вируса, подвергнутого действию ультразвука, лазерного излучения, или их совместному действию. Наличие специфических антител в этих группах цыплят достигло максимума к 20-30 дням и устанавливалось в среднегеометрических титрах равным  $4,2 \pm 0,4 - 7,4 \pm 0,6 \log_2$  с последующим спадом к 60-му дню (орок наблюдения) до  $1,5 \pm 0,2 - 3,0 \pm 0,4 \log_2$ . В группе цыплят, которым вводили антиген, полученный из вируса, облученного гамма-лучами, титр антител не превышал  $2,4 \pm 0,1 \log_2$ . В контрольной группе цыплят, привитых вакциной TAD-Gumboro, среднегеометрический титр антител на 20-30 дни составил  $3,4 \pm 0,2 - 4,8 \pm 0,3 \log_2$ .

Таблица 3

Результаты испытания активности антигенов из вируса болезни Гамборо, подвергнутого воздействию физических факторов, с целью выявления специфических антигенов в полевых пробах свороток крови

№	Место отбора проб свороток крови	Количе-ство		Ультре-звук		Лазерное излучение		Ультразвук + лазерное излучение (последова-тельно)		Ультразвук + лазерное излучение (последова-тельно)		Гамма - лучи		Стандарт-ный специ-фический	
		кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
1.	Ферма Церковного прихода	108	93,75	195	93,75	188	90,38	186	89,42	189	90,36				
2.	Ферма Рамель	15	80,00	12	80,00	12	80,00	9	53,34	10	66,67				
3.	Секция разведения Центра ветеринарных и зоотехни-ческих исследований	30	100,00	30	100,00	30	100,00	25	83,34	29	96,67				
4.	Ферма Нзюко	415	69,87	290	69,87	290	69,87	279	67,46	286	68,91				
5.	Ферма Му-осо	30	50,00	15	50,00	15	50,00	11	36,67	15	50,00				
6.	Ферма Буба	20	40,00	8	40,00	10	50,00	6	30,00	9	40,00				
7.	Хозяйства и населённые пункты областей Пул (Кин-кала, Мингули, Миссаду Ма-гуму) и Буэнза (Нкай)	151	94,03	140	92,71	139	92,06	100	66,22	134	88,74				
В С Е И О:		869	79,63	690	79,40	684	78,71	615	70,77	670	77,10				

При изучении иммуногенных свойств приготовленных препаратов всем цыплятам было введено интраназально и интраскулярно 100  $\text{ML}_{50}$  / $\text{ml}$  э.алонного вируса 52/70 (инфекционный титр  $10^{2,8}$   $\text{ML}_{50}/\text{ml}$ ) на 30-й день после иммунизации. Полученные данные показывают, что у всех цыплят, иммунизированных препаратами, полученными из вирусов, обработанных ультразвуком, лазерным излучением или последовательным действием, в течение 10 суток (срок наблюдения) не было установлено клинических признаков заболевания, отсутствовали патологоанатомические изменения при контрольном убое, тогда как у цыплят, иммунизированных антигеном, полученным из вируса, облученного гамма-лучами, в 20% случаев (Зидленка) были отмечены патологоанатомические изменения в фабрицевых сумках. В группе цыплят, привитых вакциной TAD-Gumboro (контроль), клинические признаки заболевания были установлены у одного цыпленка (6,6% случаев). В то же время все 15 неиммунизированных цыплят (контрольная группа) заболели и 6 цыплят (40%) пали.

## ВЫВОДЫ

1. Отличительными особенностями проявления болезни Гамборо в Республике Конго являются внезапная и быстро протекающая (5-10 дней) вспышка при первичном появлении в стаде на ферме, высокая заболеваемость (до 100%) и летальность (до 47,35%), последующая длительная латентная инфекция с высоким процентом серопозитивной птицы (от 40 до 100%), постоянная тенденция к распространению инфекции, частые случаи одновременного течения с другими инфекциями или осложнения различной вторичной инфекцией.

2. Впервые при изучении болезни Гамборо в Конго выделены эпизоотические штаммы вируса из патологического материала (фабрицевы сумки) больных и погибших цыплят, установлены различия их биологических свойств. Инфекционный титр штаммов вируса, выделенных из патологического материала, отобранного в 1986-1987г.г., составлял  $10^3 - 10^{3,5}$   $\text{ML}_{50}/\text{ml}$ , антигенная активность - 1:8; инфекционный титр штаммов вируса, выделенных из патологического материала, отобранного в 1988-1989г.г., составлял  $10^{3,8} - 10^4$   $\text{ML}_{50}/\text{ml}$ , антигенная активность - 1:4.

3. Повышение инфекционных свойств вируса болезни Гамборо представляется возможным посредством пассирования его на цыплятах 30-дневного возраста, что объективно устанавливается по показателям индексов фабрицевых сумок (отношение веса фабрицевой сумки к

весу тушек цыплят). Учет различий индексов фабричных сумок инфицированных и здоровых цыплят позволяет также констатировать репродукцию вируса даже при латентной инфекции.

4. Разработан принципиально новый способ инактивации инфекционных свойств вируса болезни Гамборо посредством ультразвука мощностью  $250 \text{ Вт/см}^2$ , при частотах 60-70 кГц в течение 10 и 5 мин. соответственно, лазерного излучения мощностью  $1 \text{ Вт/см}^2$ , длиной волны  $6328 \text{ \AA}$  в течение 3 и 6 часов, а также последовательного воздействия ультразвука мощностью  $250 \text{ Вт/см}^2$ , частотой 60 кГц в течение 5 мин и лазерного излучения мощностью  $1 \text{ мВт/см}^2$ , длиной волны  $6328 \text{ \AA}$  в течение 3 и 6 часов. Индексы фабричных сумок цыплят, инфицированных облученным вирусом, составляли соответственно  $1,3 \pm 0,3 - 1,6 \pm 0,2$ ;  $1,3 \pm 0,2$ ;  $2,0 \pm 0,2$  при исходном индексе фабричных сумок цыплят, инфицированных необлученным вирусом,  $0,8 \pm 0,3 - 0,9 \pm 0,2$ .

5. Снижение инфекционных свойств вируса болезни Гамборо под воздействием ультразвука и лазерного излучения в указанных выше режимах сопровождается увеличением в два раза антигенной активности. В то же время облучение гамма-лучами мощностью 2671 рад/мин в течение 40 мин приводит к потере антигенной активности вируса. Так, если антигенная активность интактного вируса контрольного эталонного и эпизоотического штаммов составляла 1:2, то после воздействия ультразвука или лазерного излучения она достигла 1:4.

6. Испытание приготовленных нами препаратов из вируса болезни Гамборо, подвергнутого воздействию ультразвука или лазерного излучения, в качестве диагностических антигенов показало их большую эффективность в полевых условиях, нежели применяемый антиген производства Роньерье. В инфицированных хозяйствах приготовленный нами антиген выдала в РИД от 40 до 100% серопозитивных кур, коммерческий импортный препарат параллельно обеспечивал обнаружение только 40-96,67% серопозитивных проб.

7. Введение цыплятам препаратов из местных эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо, инактивированных ультразвуком и лазерным излучением, обеспечивает образование более напряженного иммунитета, нежели контрольная вакцина TAB-Gamboro. В подопытной группе испытуемые препараты обеспечили образование специфических антител в среднегеометрических титрах  $5,01 \pm 0,2 - 7,41 \pm 0,6 \cdot 10^8$ , предохраняющих от прямого заражения 100 ВЛ 50/мл вирулентного

вируса (титр  $10^{2,8}$  ВЛ 50/мл ) всех иммунизированных цыплят. У цыплят, привитых вакциной TAB-Gumboro, где среднегометрический титр специфических антител достигал  $4,8 \pm 0,3 \log_2$ , были установлены клинические признаки у одного цыпленка (6,6%). Гибели цыплят в этой группе не наблюдалось. В контрольной группе неиммунизированных цыплят все 15 инфицированные особи заболели, из них погибло 6 цыплят (40%).

В. Новый способ приготовления антигенов из местных эпизоотических штаммов вируса болезни Гамборо, инактивация их посредством ультразвука или лазерного излучения позволяет получить высокоэффективные, безопасные вирусные антигены, которые в иммунологических реакциях значительно превосходят аналогичные коммерческие препараты, завозимые в Конго из Франции.

#### РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

##### НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ

1. Предлагается принципиально новый высокоэффективный способ инактивации вируса болезни Гамборо посредством воздействия ультразвука мощностью  $250 \text{ Вт/см}^2$ , при частотах 60-70 и 80 кГц в течение 10 и 6 мин соответственно, лазерного излучения мощностью  $1 \text{ мВт/см}^2$  длиной волны 6328 Å в течение 3 и 6 часов, а также их последовательного действия в указанных выше режимах.

2. Предлагается метод изготовления специфических диагностических антигенов для РИД из вируса болезни Гамборо, подвергнутого действию ультразвука или лазерного излучения, которые по своей активности в два раза превосходят коммерческие препараты РИД-Gumboro, импортируемые в Конго из Франции.

#### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Онтсука Вартолеми, Т.Зекиба. Эпизоотология, клиническая и патологоанатомическая картина болезни Гамборо // Диагностика и специфическая профилактика инфекционных болезней животных и птиц: Межвуз. сб. науч. тр./Кишиневский с.-х. ин-т им. М.В. Фрунзе. - 1989. - С. 66-69.

2. Карышева А.Ф., Онтсука Вартолеми. Приготовление и испытание в РИД антигенов вируса болезни Гамборо // Диагностика и специфическая профилактика инфекционных болезней животных и птиц/ Межвуз. сб. науч. тр./Кишиневский с.-х. ин-т им. М.В. Фрунзе. - 1989. - С. 69-72.