Мониторинг альфагерпесвирусных инфекций лошадей 1-го и 4-го типов в табунном коневодстве

Monitoring of EHV-1 and EHV-4 infections in herding horses

Алексеевкова С.В.

г. Москва

DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-1-4

УДК: 619:616:98.578

Ключевые слова: ринопневмония, лошади, ГВЛ1, ГВЛ4, мониторинг, ИФА

Key words: equine rhinopneumonitis, horses, EHV-1, EHV-4, monitoring, ELISA

Резюме: Представлены результаты иммунологического мониторинга герпесвирусных инфекций 1-го и 4-го типов (ГВЛ1 и ГВЛ4) лошадей в восточном регионе Российской Федерации (Забайкальский край) и нескольких областях Республики Казахстан. Применяли стандартные методы: РН и ИФА с компонентами диагностического набора фирмы "Svanova" (Швеция). Исследованием, проведенным в Забайкальском крае РФ с сыворотками крови лошадей 10 хозяйств из восьми районов, выявили в РН антитела к вирусу ринопневмонии в диагностических титрах (1:16 и выше). Количество положительных проб в реакции нейтрализации составляло от 20 до 71,4 % от числа исследованных. Исследованием этих же проб в ИФА, который служил дифференцирующим тестом, установлено что в пробах обнаруживаются преимущественно антитела к ГВЛ4. Исключение составляет Читинская ГЗК с ипподромом, у лошадей этого предприятия одновременно выявили антитела к ГВЛ1 и ГВЛ4. В нескольких географических зонах Республики Казахстан выявили активную циркуляцию вируса обоих типов (ГВЛ1 и ГВЛ4). В среднем положительную реакцию получили на ГВЛ1 – 52,5%, на ГВЛ4 – 70% исследованных проб.

Summary: The results of immunological monitoring of EHV-1 and EHV-4 infections in horses in the eastern region of the Russian Federation (Trans-Baikal region) and several regions of the Republic of Kazakhstan are presented. Standard methods were used: NT and ELISA with the components of the diagnostic kit of the firm "Svanova" (Sweden). A study conducted with sera from the horses from 10 studs of eight districts of Trans-Baikal region revealed an antibodies to the rhinopneumonia virus in

diagnostic titres (1:16 and higher) in the NT. The number of positive samples in NT was from 20 to 71.4% of the number of tested. Testing the same samples in ELISA, which was as a test for differentiating, it is established that antibodies to EHV-4 are found in all samples. The exception is the stud with the racecourse in Chita city, where the horses simultaneously detected antibodies to EHV-1 and EHV-4. In several geographical areas of the Republic of Kazakhstan, active circulation of the virus of both types (EHV-1 and EHV-4) was revealed. On the average, positive reaction was obtained on EHV-1 – 52.5%, for EHV-4 – 70% of the samples tested.

Введение

Вирусная этиология широко распространенного в прошлом веке заболевания лошадей, известного под разными названиями: катаральная инфлуэнца, ринопневмония, вирусный аборт – стала понятной после открытия W.W. Dimock & P.R. Edwards (1933) возбудителя – герпесвируса лошадей 1-го типа [8]. В ряде стран (Англия, Австралия и др.) заболевание наблюдали преимущественно в респираторной форме, а количество абортов у кобыл было незначительным [9, 10, 12]. На этом основании различные штаммы вируса разделяли на респираторные и фетальные подтипы [11]. Последующими исследованиями было показано, что их следует рассматривать, как отдельные типы: герпесвирус лошадей 1-го типа и герпесвирус лошадей 4-го типа [6]. В отличие от ГВЛ4 вирусом первого типа можно легко воспроизвести заболевание у лошадей с характерными для ринопневмонии-вирусного аборта симптомами [3]. Вирусы герпеса лошадей 1-го и 4-го типов идентичны по последовательности нуклеотидов в пределах гомологичных генов на 55 – 84%, а по последовательности аминокислот на 55 – 96%. Существующие генетические различия между типами определяют их принципиальную разницу по главным биологическим признакам: антигенной активности, рестрикционному профилю, спектру хозяев и вирулентности для лошадей [2]. ГВЛ1 и ГВЛ4 имеют сходные антигенные детерминанты и перекрестно реагируют в разных серологических реакциях (РН, ИФА, РСК, РДП, иммуноблоттинг) с поликлональными антителами. У молодых лошадей, вакцинированных против ГВЛ1 или ГВЛ4, наблюдают неполную перекрестную защиту от экспериментальной инфекции гетерологичным вирусом [4]. Гликопротеины ГВЛ1 и ГВЛ4 в составе антигенных детерминант имеют группоспецифические и типоспецифические эпитопы, исключение – гликопротеин gG, который выявляет только типоспецифические антитела. В лабораторной практике моноклональные типоспецифические антитела к gG используют для дифференциальной диагностики ГВЛ1 и ГВЛ4 [5].

M.J. Studdert в своем сообщении на Международной конференции по инфекционным болезням лошадей в Токио (1994) обосновал принцип дифференциации инфекций 1 и 4 типов посредством исследования сыворотки крови лошадей в ИФА с рекомбинантными антигенами гликопротеина gG ГВЛ1 и ГВЛ4 [7]. На основании этой работы B. Klingeborn (Швеция) разработал рабочий вариант ИФА, реализованный в диагностическом наборе фирмы "Svanova".

В настоящем сообщении представлены результаты иммунологического мониторинга герпесвирусных инфекций лошадей 1 и 4 типов в восточном регионе Российской

Авторы / Authors

Алексеевкова С.В.¹, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусологии, e-mail: konstuyurov@yandex.ru

Кирикбаев С.Т.², аспирант

Сансызбай А.Р.², доктор ветеринарных наук, профессор, генеральный директор

Юров К.П.¹, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией вирусологии

¹ФГБНУ "Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко" Российской академии наук, г. Москва

²РГП "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Комитета науки Министерства науки и образования Республики Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, п.г.т. Гвардейский

Alexeyenkova S.V., Kirikbaev S.T., Sansyizbay A.R., Yurov K.P.

Федерации (Забайкальский край) и в Республике Казахстан.

Материалы и методы

Вирус. В работе использовали штаммы "CB/69" и "ПП" вируса ринопневмонии лошадей. Накопление вируса и РН проводили в культуре клеток почки кролика RK-13.

Сыворотки. Пробы сыворотки крови лошадей получали из 10 районов Забайкальского края РФ и 5 районов Республики Казахстан.

Иммуноферментный анализ. Использовали компоненты коммерческого набора "Equine herpesvirus type 1 and 4 Discriminating Test" (фирмы "Svanova", Швеция) для дифференциации антител к герпесвирусам лошадей типов 1 и 4.

Реакция нейтрализации (РН). Количественное определение вируснейтрализующих антител к вирусам выполняли в РН в 96-луночных культуральных планшетах (фирмы "Corning", США) методом двукратных разведений испытуемой сыворотки против 100 – 300 ТЦД₅₀/мл вируса на лунку в соответствии со стандартом Международного Эпизоотического Бюро. За положительный результат принимали нейтрализацию вируса при разведении сыворотки 1:16 и более.

Результаты и обсуждение

Объектом исследования служили преимущественно табунные, а также спортивные и племенные лошади. Рабочий алгоритм включал исследование проб сыворотки крови в РН с вирусом ГВЛ1 и ИФА с вирусами ГВЛ1 и ГВЛ4 посредством трёхкратного тестирования против 1) химерного белка глутатион-С-трансферазы (ГСТ) и гликопротеина G ГВЛ1; 2) химерного белка ГСТ и гликопротеина G ГВЛ4, а также 3) нативного белка ГСТ по методу, предложенному B.B. Crabb & M.J. Studdert, 1993 [7]. Использовали контрольные сыворотки, полученные на СПФ жеребцах, производства фирмы "Svanova", Швеция.

Исследованием, проведенным в Забайкальском крае РФ с сыворотками крови лошадей 10 хозяйств из восьми районов, выявили в РН антитела к вирусу ринопневмонии в диагностических титрах (1:16 и выше). Количество положительных проб в реакции нейтрализации составляло от 20 до 71,4 % от числа исследованных. Исследованием этих же проб в ИФА, который служил дифференцирующим тестом, установлено что в пробах обнаруживаются преимущественно антитела к ГВЛ4. Исключение составили лошади Читинской государственной заводской конюшни с ипподромом, у которых выявляли антитела к двум типам возбудителя ринопневмонии. В пробах, полученных из двух районов, антитела не были выявлены. Представленные результаты позволяют сделать заключение, что в регионе Забайкальского края РФ доминирующей является герпесвирусная инфекция лошадей 4-го типа. Результаты серологического мониторинга в нескольких географических зонах Республики Казахстан выявили активную циркуляцию вируса обоих типов (ГВЛ1 и ГВЛ4). Так, в Костанайской области во всех исследованных пробах обнаружены антитела к ГВЛ1 и 80 % проб от тех же лошадей оказались положительными к ГВЛ4. Превалирование последнего отмечено в Жамбылской области – 20% положительных к ГВЛ1 и 80% к ГВЛ4. В среднем получено положительных результатов к ГВЛ1 – 52,5% , к ГВЛ4 – 70%.

Табунное коневодство – традиционная отрасль в ряде

регионов, которая обеспечивает производство ценных, экологически чистых продуктов питания. С целью повышения качества местных, табунных лошадей, используются жеребцы-производители других пород. При этом существует реальная опасность распространения эмерджентных (для данных территорий) инфекций, в частности герпесвирусных инфекций лошадей [1]. В связи с этим контроль распространности эпизоотически актуальных штаммов вирусов, в том числе методом иммунологического мониторинга, результаты которого представлены в данной работе, необходимы для целенаправленного планирования и реализации противоэпизоотических мероприятий при герпесвирусных инфекциях лошадей.

Заключение

Известно, что ВГЛ-1 и ВГЛ-4-возбудители ринопневмонии-вирусного аборта и ринопневмонии аналогичны (на 55 – 96%) в пределах гомологичных генов. Различающиеся участки генома этих вирусов определяют принципиальную разницу главных биологических свойств возбудителей: вирулентности для лошадей, иммуногенности и др. В связи с этим контроль эпизоотических штаммов вирусов, в том числе методом иммунологического мониторинга, результаты которого представленного в данной работе, необходимы для целенаправленного планирования и реализации противоэпизоотических мероприятия при герпесвирусных инфекциях лошадей.

Литература

1. Оров К.П., Алексеенкова С.В., Неустроев М.П. Диагностика основных заразных болезней лошадей в табунном коневодстве// Коневодство и конный спорт, 2014; 4: 25-30.
2. Оров К.П., Косминков Н.Е., Заблочкий В.Т. Инфекционные и паразитарные болезни лошадей. -М.: Зоомедлит, 2010.
3. Оров К.П., Крюков Н.Н. Ринопневмония лошадей//Коневодство и конный спорт, 1969; 12: 31-32.
4. Оров К.П. Некоторые проблемы инфекционной патологии в коневодстве//Ветеринария и кормление, 2007; 2: 30-33.
5. Ma G., Azab W., Osterrieder N. Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) - masters of co-evolution and a constant threat to equids and beyond//Veterinary Microbiology, 2013;167(1-2):123-134. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.06.018.
6. Spiesschaert B., Osterrieder N., Azab W. Comparative analysis of glycoprotein B (gB) of equine herpesvirus type 1 and type 4 (EHV-1 and EHV-4) in cellular tropism and cell-to-cell transmission//Viruses, 2015; 7(2):522-542. doi: 10.3390/v7020522.
7. Crabb B.B., Studdert M.J. Epitopes of glycoprotein G of equine herpesviruses 4 and 1 located near the C termini elicit type-specific antibody responses in the natural host//Journal of Virology, 1993; 67 (10): 6332-6338.
8. Dimock W.W., Edwards P.R. Is there a filterable virus of abortion in mares?//Kentucky Agricultural Experiment Station Bulletin, 1933; 33: 297-301.
9. Dunowska M., Gopakumar G., Perrott M.R., Kendall A.T., Waropastrakul S., Hartley C.A., Carslake H.B. Virological and serological investigation of Equid herpesvirus 1 infection in New Zealand//Veterinary Microbiology, 2015; 176(3-4):219-28. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.01.016.
10. Cuxson J.L., Hartley C.A., Ficorilli N.P., Symes S.J., Devlin J.M., Gilkerson J.R. Comparing the genetic diversity of ORF30 of Australian isolates of 3 equid alphaherpesviruses//Veterinary Microbiology, 2014; 169(1-2):50-7. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.12.007.
11. Marenzoni M.L., Bietta A., Lepri E., Casagrande Proietti P., Cordoli P., Canelli E., Stefanetti V., Coletti M., Timoney P.J., Passamonti F. Role of equine herpesviruses as co-infecting agents in cases of abortion, placental disease and neonatal foal mortality//Veterinary Research Communications, 2013; 37(4):311-317. doi: 10.1007/s11259-013-9578-6.
12. Smith K.C., Blunden A.S., Whitwell K.E., Dunn K.A., Wales A.D. A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997//Equine Veterinary Journal, 2003; 35(5):496-501.