



Кошачий калицивирус: ПОИСК ВАКЦИНЫ

Х. ПУЛЕ, д.в.н., С. БРЮНЕ, д.ф.н., Д. ЖАЗ, д.в.н., Г. ШАППИУС, д.в.н.,
Компания «Мериал», г. Лион, Франция

Кошачий калицивирус (Feline Calicivirus — FCV) — возбудитель кошачьего гриппа, достаточно распространенного заболевания, которое сопровождается воспалительным процессом в верхних дыхательных путях, пузырчаткой ротовой полости и хроническим стоматитом. Для FCV характерна значительная антигенная и патогенная изменчивость, что осложняет создание эффективной вакцины.

Не так давно в Северной Америке было обнаружено несколько новых гипервирулентных разновидностей вируса, вызывающих тяжелую форму заболевания, нередко с летальным исходом, даже среди кошек, прошедших вакцинацию (Pedersen и др., 2000; Shorr-Evans и др., 2003). Существующие вакцины способны облегчить клинические проявления заболевания и снизить выделение вируса, но они не могут защитить от инфекции. К сожалению, попытки повысить эффективность вакцин FCV до сих пор оказывались безуспешными. Второе поколение ДНК-вакцин и векторных вакцин обеспечивает лишь частичную защиту от клинических проявлений и самого вируса (McCabe и др., 2002; Sommerville и др., 2002). Иммунизация слизистых оболочек с использованием вектора вируса кошачьего герпеса, содержащего ген капсида FCV, также не позволяет повысить эффективность вакцинации (Yokoyama и др., 1998).

Другая проблема создания действенной вакцины связана с высокой антигенной изменчивостью FCV (Baulch-Brown и др., 1999). Поскольку в естественных условиях животные сталкиваются с гетерогенными штаммами вирусов, высока вероятность того, что используемые вакцины будут способны защитить их лишь от незначительной части изолятов FCV (Lauritzen и др., 2000; Pedersen и др., 2000). Гетерологическая защита от различных видов штаммов вируса способствовала бы повышению эффективности существующих вакцин.

В результате ряда исследований была выдвинута гипотеза о том, что модифицированные живые штаммы, полученные из ослабленных вакцин, могут стать одной из причин появления новых изолятов (Dawson и др., 1993; Pedersen и Floyd Hawkins, 1995; Radford и др., 1997). Это может быть связано с остаточной вирулентностью ослабленных штаммов и высокой способностью FCV к мутациям.

Так стоит ли модифицировать существующие вакцины (Baulch-Brown и др., 1997)? Современные научные данные говорят о необходимости создания новых вакцин:

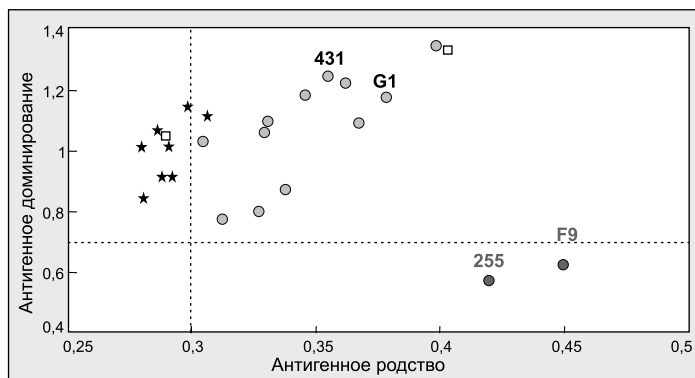
- с использованием существующих изолятов FCV в качестве антигенов, с более широким спектром защиты;
- без содержания ослабленных живых штаммов FCV;
- с более высокой степенью эффективности (конечной целью является предотвращение инфекции).

Выбор штаммов FCV

Недавно полученные изоляты FCV подверглись масштабным исследованиям на предмет перекрестной нейтрализации (рис. 1). Были определены закономерности антигенного доминирования и родства между штаммами. Результаты исследования подтвердили, что существующие штаммы вакцин (FCV 255 и FCV

Рис. 1. Перекрестная нейтрализация недавно полученных изолятов и штаммов вакцин.

Изоляты, выделенные у кошек с хронической инфекцией (звездочки), характеризуются более низкой степенью антигенного родства, нежели полученные у кошек с острой формой заболевания (кружки). История двух изолятов (пустые квадраты) неизвестна. Штаммы вакцин FCV F9 и FCV 255 характеризуются низкой степенью антигенного доминирования





F9) плохо адаптированы к изолятам существующей популяции FCV. Их антигенное доминирование (способность к стимуляции антител, характеризующихся перекрестной нейтрализацией) было самым низким из всех исследованных штаммов. Изоляты, выделенные у кошек с хронической инфекцией, характеризовались более низкой степенью антигенного родства, нежели полученные у кошек с заболеванием в острой форме (Poulet и др., 2000). Оба результата, по-видимому, связаны с антигенным смещением FCV, спровоцированным повышением иммунитета в результате использования существующих штаммов вакцин.

Антигенное разнообразие изолятов FCV было подтверждено иммунофлуоресцентным анализом с использованием набора моноклональных антител, помещенных на эпитоп белка капсида. Каждый из изолятов отличался от остальных.

Два из недавно полученных изолятов — FCV 431 и FCV G1 — были классифицированы как иммунодоминантные штаммы. Специфические антисыворотки FCV 431 и FCV G1, выделенные у инфицированных кошек, способны нейтрализовать более 90% большой группы изолятов, полученных в разных странах.

Некоторые исследователи предлагают использовать при создании вакцины более одного штамма (Dawson и др., 1993; Schneider и Truyen, 1998). В связи с этим была проведена оценка эффективности комбинирования двух штаммов. Для вакцинации кошек использовались живые штаммы FCV 431 и FCV G1, а также комбинация двух штаммов. Вакцина вводилась подкожно. После этого была произведена провокация путем занесения антигенно-различных изолятов вируса (FCV 220

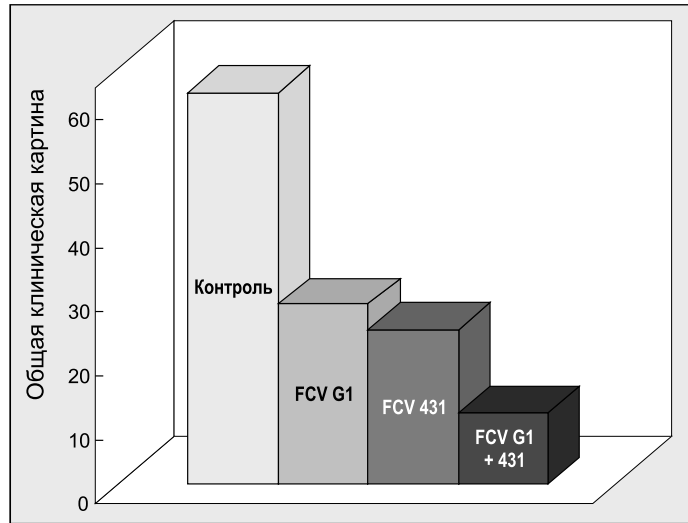


Рис. 2. Общая клиническая картина: контрольная группа, кошки, привитые только FCV G1, только FCV 431 и комбинацией FCV 431 и FCV G1. На графике представлены результаты после провокации с использованием FCV 220 и FCV 393

и FCV 393) в ротовую и носовую полости. Под воздействием FCV 220 и FCV 393 у кошек развились характерные клинические признаки заболевания, вызванного кошачьим калицивирусом. Иммунизация с использованием комбинации штаммов FCV 431 и FCV G1 была связана с более высокими показателями титров антител, направленных против штаммов FCV 220 и FCV 393. Во всех группах наблюдалось противодействие инфекции, однако сочетание двух штаммов обеспечивало лучшую защиту и сокращение выделения вируса после гетерологической провокации (рис. 2). Результаты показали, что сочетание в вакцине антигенов различных штаммов FCV позволяет обеспечить защиту от большего числа изолятов.

Детальное изучение гена капсида показало, что степень родства между FCV G1 и FCV 431 та же, что и у других пар из приведенного набора. Два эти штамма были отнесены к разным категориям, поскольку различия между нуклеотидами составляли 20% для сверхизменчивого участка E белка капсида. У эпидемиологически несвязанных изолятов различия в последовательностях участка E варьируются от 21 до 38% (Radford и др., 1997).

Выбор технологии вакцинации

После получения штаммов кошачьего калицивируса была применена адаптированная технология для разработки новой вакцины. Поскольку проверенные рекомбинантные методы в рассматриваемом случае не дали желаемого результата (Sommerville и др., 2002; Schwantes и др., 2003), было принято решение о разработке инактивированной вакцины. Вместе с тем адъюванты приводят к снижению местной переносимости и могут послужить причиной повышения риска вы-

раженного побочного действия в месте инъекции (Gobar и Kass, 2002), поэтому перед исследователями стояла задача разработать инактивированный антиген кошачьего калицивируса, который был бы эффективен без адъювантов.

Была разработана комбинированная вакцина против вирусного ринотрахеита (FHV), калицивирусной инфекции, инфекционной панлейкопении (FPV), хламидиоза и кошачьей лейкемии. Компонент, направленный на борьбу с калицивирусом, состоял из двух очищенных инактивированных антигенов кошачьего калицивируса, полученных из штаммов FCV 431 и АСМ П1. Эффективность этой вакцины была сопоставлена с эффективностью контрольной вакцины, содержащей ослабленный штамм FCV F9. В ходе клинических исследований четыре группы по шесть кошек были привиты комбинированной вакциной, содержащей новую вакцину против калицивируса (группы 0RM725 5T24, 5M18 и 5U25) или контрольной вакциной, содержащей ослабленный штамм FCV F9. Пятая группа из шести котят (контрольная) не была привита. После провокации путем введения FCV 255 через дыхательные пути кошки подвергались еже-



дневному осмотру, в ходе которого происходило измерение ректальной температуры, выявление симптомов калицивируса и регулярное измерение веса. Вследствие провокации у кошек контрольной группы были выявлены гипертермия, потеря веса и изъязвление ротовой и носовой полости. У привитых кошек симптомы заболевания были выражены значительно слабее. Животные, привитые новой вакциной, чувствовали себя лучше, чем те, которым был введен ослабленный штамм FCV F9. Вакцинация также привела к значительному снижению выделения вируса после провокации.

Первые опыты показали, что новая вакцина, приготовленная с использованием инактивированного антигена FCV без адъювантов, эффективно противостоит гетерологической провокации FCV. Иммунитет, приобретенный вследствие

ее введения, сохраняется не менее года. Организм кошек, которые были подвергнуты провокации спустя год после первичной вакцинации, достаточно эффективно противостоял вирусу.

Эффективность действия новой вакцины против FCV проявляется и у маленьких котят, в организме которых имеются полученные от матери антитела. Унаследованный от матери иммунитет сохраняется у котят старше 8 недель и может влиять на действие вакцины (Dawson и др., 2001). Вакцинация котят в возрасте 7,4-10,6 недель приводила к сероконверсии более чем в 92% случаев.

Заключение

Исследования показали, что новая вакцина более эффективна в отношении FCV по сравнению с существующими вакцинами, которые

плохо приспособлены к распространенным изолятам FCV в связи с антигенным сдвигом в существующей популяции вируса.

Новая инактивированная вакцина против FCV, приготовленная без использования адъювантов, позволяет решить проблему безопасности, актуальную для вакцин, в состав которых входят модифицированные живые или инактивированные штаммы и адъюванты.

Вакцина существенно облегчает течение болезни и способствует снижению выделения вируса. Иммунитет при вакцинации сохраняется в течение года, что подтверждено исследованиями с помощью серологических реакций и провокаций. Вакцина совместима с другими видами вакцин для кошек (против вирусного ринотрахеита, панлейкопении и хламидиоза) и эффективна при наличии полученных от матери антител.



Эффективность препарата «Гамапрен» при лечении аденовироза и парагриппа у собак

С.Л. САВОЙСКАЯ, к.в.н., ветврач, **Н.В. КЛИЦУНОВА**, к.м.н., **А.Н. НАРОВЛЯНСКИЙ**, д.б.н., профессор, **А.В. ПРОНИН**, д.б.н., профессор, **А.В. САНИН**, д.б.н., профессор, ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, г. Москва

Гамапрен — препарат, полученный путем фосфорилирования полипренолов шелковицы, активирует макрофаги, стимулирует естественную резистентность организма и повышает его устойчивость к вирусным инфекциям. Гамапрен отлично зарекомендовал себя при лечении калицивирусной и герпесвирусных инфекций и иных патологических состояний у кошек (1-3). В данной работе исследованы возможности препарата в комплексной терапии аденовироза и парагриппа у собак.

Аденовироз

Аденовироз собак (инфекционный ларинготрахеит) вызывается аденовирусом типа CAV-2. Заболевание характеризуется воспалительным процессом в респираторном тракте и сопровождается кашлем, фарингитом и увеличением лимфатических узлов (миндалин), реже — лихорадкой и конъюнктивитом.

Терапевтическая эффективность гамапрена при аденовирозе была исследована на 20 собаках разных пород, поступивших в ЛДВЦ «Микро-Плюс» (12 из них были в возрасте от 5 месяцев до 1 года, остальные — 6-9 лет). Диагноз ставился на основе клинической картины с использованием данных гематологических, иммунологических и микробиологических исследований. Кроме того, применялся метод электронной микроскопии (ЭМ), в отдельных случаях — полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая выполнялась в ВГНКИ.