

6. Isolation and genetic characterization of Avian influenza viruses isolated from wild birds in the Azov-Black Sea region of Ukraine (2001–2012) / D. Muzyka [et al.] // Avian Diseases. — 2016. — Vol. 60, iss. 1, suppl. — P. 365–377. — Mode to access : <http://doi.org/10.1637/11114-050115-Reg>. — Title from the screen.
7. Global patterns of Influenza A virus in wild birds / B. Olsen [et al.] // Science. — 2006. — Vol. 312, iss. 5772. — P. 384–388. — Mode to access : <http://doi.org/10.1126/science.1122438>. — Title from the screen.
8. Animal influenza virus / E. Spackman (Ed.). — 2nd ed. — New York, NY : Springer, 2014. — 425 pp. — (Methods in Molecular Biology, Vol. 1161). — Mode to access : <http://doi.org/10.1007/978-1-4939-0758-8>. — Title from the screen.
9. Influenza virus subtypes in aquatic birds of eastern Germany / J. Süß [et al.] // Archives of Virology. — 1994. — Vol. 135, iss. 1–2. — P. 101–114. — Mode to access : <http://doi.org/10.1007/BF01309768>. — Title from the screen.
10. Animal influenza / D. E. Swayne (Ed.). — Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2016. — 634 pp. — Mode to access : <http://doi.org/10.1002/9781118924341>. — Title from the screen.
11. Виділення високопатогенного вірусу грипу птиці підтипу H5N8 від диких птахів в Україні / Б. Т. Стегній [та інш.] // Вет. біотехнологія. — 2018. — Вип. 32 (1),— С. 491–498.

RECEPTION OF INACTIVATED ANTIGEN AND SPECIFIC BLOOD SERUM TO H5N8 HIGHLY PATHOGENIC INFLUENZA VIRUS

Muzyka D. V.¹, Stegnyy B. T.¹, Pischanskiy O. V.², Tkachenko S. V.¹, Rula O. M.¹, Stegnyy A. B.¹

¹ National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

² State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Expertise, Kyiv, Ukraine

The article provides information on conducting studies to obtain specific components for the diagnosis influenza virus H5N8 subtype: an antigen with activity in the hemagglutination of 6–7 log₂ and a positive serum in the activity of the hemagglutination inhibition 7–8 log₂. The basic biological properties of the selected pathogen have been studied in advance and the modes of its inactivation have been worked out.

Keywords: antigen, diagnosis influenza virus H5N8 subtype, pathogen

УДК 619:578:616.98

ІМУНОГЕННІСТЬ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ІНДИКІВ «ПОЛІМУН РТ ІНАК»

Недосєков В. В., Мазуркевич В. І.

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
м. Київ, Україна, e-mail: nedosekov1@rambler.ru, dmandred91@gmail.com

Салій О. О.

Київський національний університет технології та дизайну,
м. Київ, Україна, e-mail: saliy.oo@knutd.com.ua

Годовський О. В.

ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ, Україна, e-mail: a_godovskiy@biotestlab.net

У даній статті описано перевірку імуногенності та тривалості імунітету після застосування інактивованої вакцини «Полімун РТ інак» у курей та індиків. Застосовуючи імуноферментний аналіз було доведено формування стійкого та тривалого імунітету у цільових груп птахів.

Ключові слова: метапневмовірус, вакцина, імуногенність, антитіла, імуноферментний аналіз.

Для специфічної профілактики метапневмовірусної інфекції (МПВІ) застосовують живі аттенуйовані та інактивовані вакцини. Як відомо, проблеми, що виникають у процесі відтворення захворювання в лабораторних умовах, пов'язані перш за все із трудомісткою процедурою з ослаблення вірусів. Однак, у звітах різних дослідників, що займаються цими питаннями, представлені результати з атенуації вірусів ринотрахеїту індичок і ефективного використання таких вірусів в якості вакцин. Живі та інактивовані вакцини на основі вірусу ринотрахеїту індичок використовуються як для індичок, так і для курей. Живі вакцини розрізняються типом,

походженням і ступенем ослаблення вірусу. Існують живі вакцини, отримані з штамів, виділених або від курчат, або від індичок[9].

Інактивовані МПВІ-вакцини в основному використовуються для отримання високих, довготривалих та рівномірних рівнів антитіл в організмі індичок-несучок, які раніше були провакциновані живими вакцинами або уражені польовим вірусом у процесі вирощування [6, 10]. Підставою для використання інактивованих вакцин для імунізації птиці батьківського гурту є покращення їх захисту не тільки проти респіраторних проявів ТРТ, а також і проти репродуктивних ознак (зниження яйценоскості), пов'язаних з МПВІ інфекцією. Нерідко застосування інактивованих вакцин проти МПВІ також комбінують вірус з кількома іншими вірусами, які також викликають розлади дихальних шляхів та/або репродуктивних органів. Звичайна програма передбачає застосування інактивованої вакцини для імунізації індичок у період щонайменше через 4–6 тижнів після останньої вакцинації живою вакциною, до 28-тижневого віку, за 4 тижні перед початком яйценоскості. Інактивована вакцина виготовляється як емульсія "вода-в-маслі" індивідуальної імунізації птиці. Частіше застосовують внутрішньом'язове або підшкірне її введення.

Численні дослідження підтвердили виникнення високу ефективність створення перехресного імунітету між підтипами А та В [12]. Застосування вірусів цих підтипів викликає в організмі птиці розвиток імунітету також і проти вірусу підтипу С, проте останній не викликає перехресного імунітету з вірусами підтипів А та В. Разом з тим, рівень атенуації, також як і походження вірусу, використовуваного в різних вакцинах (що визначають їх ефективність), є набагато важливішими факторами у виборі препарату, особливо, якщо мова йде про вакцинацію курчат.

Дослідженнями вітчизняних і закордонних авторів доведено, що успіху в профілактиці даного захворювання можливо домогтися, забезпечуючи поєднання постійних заходів з біобезпеки з хорошими умовами утримання птахів і ретельним контролем гігієни, а також використання відповідної програми вакцинації.

На даний момент в Україні немає розроблених вакцин проти інфекційного ринотрахеїту. Тому перед авторами стояло завдання розробити сучасну інактивовану вакцину для профілактики захворювання.

Мета роботи. Метою даної роботи було визначення ефективності імунітету та його тривалості після застосування інактивованої вакцини проти інфекційного ринотрахеїту індиків.

Матеріали та методи. У досліді було використано 40 курчат 21 добового віку зі статусом ВПФ та 40 індиків 14 добового віку серонегативних до інфекційного ринотрахеїту, закуплених у господарстві благополучному з інфекційних захворювань птиці.

Сформовано чотири групи птиці — три дослідні та одна контрольна. Вся птиця була пронумерована за допомогою кільцювання.

Курчата усіх трьох груп знаходились у ВПФ-боксах для ізолюваного утримання. Умови утримання, годівля та поїння однакові для всіх груп птиці.

У дослідженні застосовували вакцину «Полімун РТ інак — вакцину проти інфекційного ринотрахеїту птиці», інактивовану, розроблену на базі ТОВ «БІОТЕСТЛАБ».

Для застосування використовували середню пробу кожної серії вакцини. Досліджували імуногенність вакцини, тривалість імунітету.

Дослідження імуногенності вакцини. Перед вакцинацією у всієї птиці відібрали проби крові з яких отримали сироватки крові, котрі передали для дослідження в «Центр ветеринарної діагностики» для дослідження рівня специфічних до вірусу інфекційного ринотрахеїту індиків антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА)[11].

Птиці вводили вакцини внутрішньом'язово та підшкірно в об'ємі $0,5 \text{ см}^3 \geq 10^{6,5}$ ТЦД₅₀/мл і впродовж 21 доби вели спостереження за поведінкою птахів, відмічаючи зміни їх фізіологічного стану.

Через 21 добу після вакцинації від птиці всіх груп відібрали проби крові, з яких отримали сироватки крові для лабораторних досліджень.

Дослідження тривалості імунітету. Після дослідження імуногенності вакцини, дослідну птицю перемістили до ПП «Візнюк» смт. Нова Ушиця, де вона утримувалась у підготовлених для цієї мети приміщеннях з доступом до вугулу на подвір'ї. Відбір крові від птиці та отримання сироватки проводили на 91, 182, 270 та 360 добу після вакцинації.

У сироватці визначали рівень антитіл з використанням методу ІФА. Для визначення рівня специфічних до вірусу інфекційного ринотрахеїту птиці антитіл методом ІФА використаний тест-набір виробництва компанії IDEXX (США). Аналізи виконані в «Центрі ветеринарної діагностики».

Результати досліджень. Дослідження імуногенності досліджуваної вакцини. Встановлено, що на 21-у добу після вакцинації вся птиця дослідних груп мала вірус специфічні до вірусу РТІ антитіла в межах від 750 до 900, що є достатнім рівнем для забезпечення захисту птиці від польового вірусу.

У птиці контрольних груп зареєстрований мінімальний рівень антитіл (Рис. 1, 2).

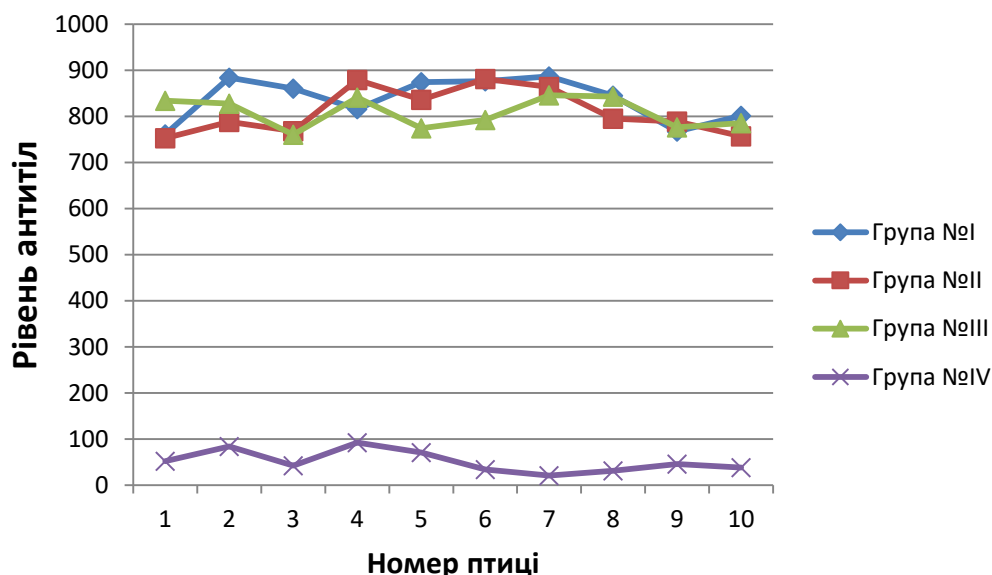


Рис. 1. Рівень вірус специфічних антитіл у вакцинованих курей.

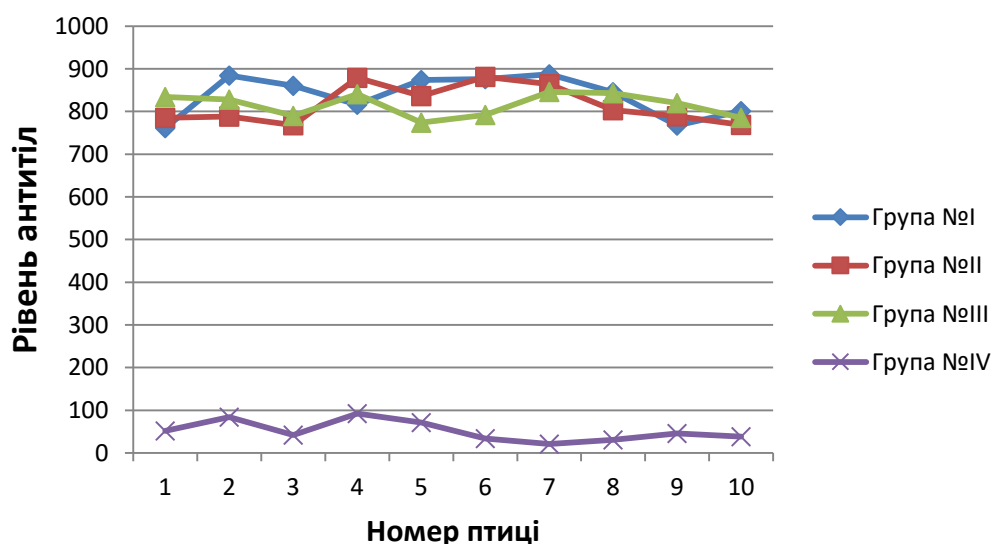


Рис. 2. Рівень вірус специфічних антитіл у вакцинованих індиків.

Дослідження тривалості імунітету. Дослідження тривалості імунітету показали, що рівень антитіл у сироватці крові на 91-й добу становив у середньому 1991 у індиків та 781 у курей, на 182-у — 706 і 732, на 270-у — 462 і 594 та на 360-у — на рівні 196 для курей і були відсутні у індиків (Рис. 3).

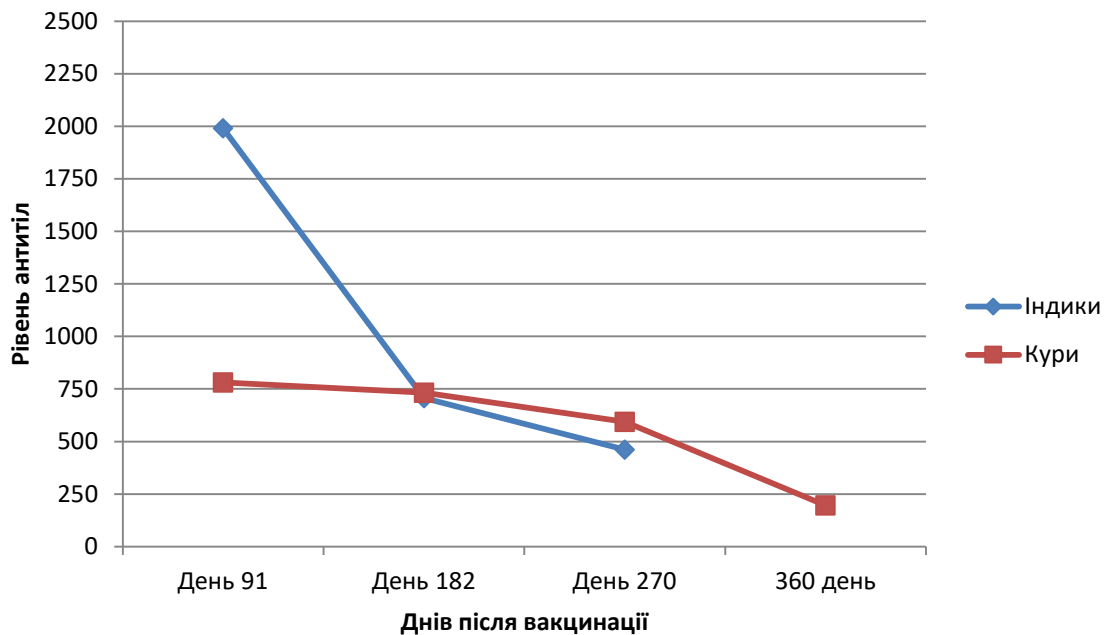


Рис. 3. Визначення тривалості імунітету у вакцинованих птахів.

У всіх птахів за час спостереження не було виявлено ознак респіраторних захворювань та інших клінічних особливостей, які могли б свідчити про відсутність у них захворювання на інфекційний ринотрахеїт індиків через зараження польовим штамом.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що за впливу «Полімун РТ інак– вакцини проти інфекційного ринотрахеїту птиці», інактивованої, розробленої на базі ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», антитіла утримуються у індиків протягом 180-ти діб, а у курей протягом 270-ти діб.

Висновки. У результаті дослідження трьох серій препарату «ПОЛІМУН РТ інак — вакцина проти інфекційного ринотрахеїту птиці, інактивована» встановлено, що:

— вакцина «Полімун РТ інак» на 21-у добу стимулює утворення вірус специфічних антитіл у захисних рівнях.

— антитіла в захисних титрах утримуються для індиків у продовж 180 діб, для курей 270 діб. Після вказаного терміну титри антитіл знижуються, що підтверджує тезу розробників вакцинних препаратів проти ринотрахеїту індиків в Європі та світі про необхідність праймерної вакцинації живими вакцинами.

— вакцина ефективна і після проведення Державної реєстрації. може бути рекомендована для профілактики інфекційного ринотрахеїту індиків у господарствах.

Список літератури

1. An experimental turkey rhinotracheitis (TRT) infection in breeding turkeys and the prevention of its clinical effects using live-attenuated and inactivated TRT vaccines / J.K.A. Cook, F. Orthel, S. Orbell [et al.] // Avian Pathology. — 1996. — Vol. 25. — P. 231-243.
2. Reproducibility of swollen sinuses in broilers by experimental infection with 118 avian metapneumovirus subtypes A and B of turkey origin and their comparative pathogenesis / Y.H. Aung M. Liman, U. Neumann, S. Rautenschlein // Avian Pathology. — 2008. — Vol. 37, № 1. — P. 65-74
3. Demonstration of loss of attenuation and extended field persistence of a live avian metapneumovirus vaccine / E. Catelli, M. Cecchinato, C.E. Savage [et al.] // Vaccine. — 2006. — Vol. 24, № 42-43. — P. 6476-6482.
4. Avian metapneumoviruses in Italy: evidence of attachment protein evolution coincident with mass live vaccine introduction / M. Cecchinato, E. Catelli, C. Lupini [et al.] // Proceedings of the 6-th International Symposium on Avian Corona- and Pneumoviruses and Complicating Pathogens.— Rauschholzhausen, Germany, 2009. — P. 278-284.
5. Антигенная специфичность и степень нейтрализации вакцинных штаммов метапневмовируса птиц / Б.Б. Трефилов, Н.В. Никитина, Л.Ю. Данко, В.С. Бочкарёв // Ветеринарная практика. - 2011. - № 3 (54). - С. 38-40
6. Борисова И. А. Метапневмовирусная инфекция птиц: диагностика и профилактика / И. А. Борисова, Т. Б. Манин // БИО. - 2010. - № 1. - С. 6-9.

7. Корелла, Х.С. Проблемы с метапневмовирусом в стадах кур-несушек / Х.С. Корелла, В.В. Сафаров // БИО. — 2013. - № 5. - С. 29-31.
8. Лазуткина, Е.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия при синдроме опухшей головы / Е.А. Лазуткина, Б.Ф. Бессарабов, И.И. Мельникова // Птицеводство. — 2007. — № 10. — С. 35-36.
9. Насонов, И.В. Диагностика и профилактика пневмовирусной и реовирусной инфекций в промышленных стадах птицы / И.В., Насонов, И.В. Костюк // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария. — 2008. — № 3. — С. 15-21.
10. A turkey rhinotracheitis outbreak caused by the environmental spread of a vaccine-derived avian metapneumovirus / C. Lupini, M. Cecchinato, E. Ricchizzi [et al.] // Avian Pathology. — 2011. — Vol. 40, № 5. — P. 525-530.
11. Alkahalaf, A.N. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays and virus neutralization test for detection of antibodies to avian pneumovirus / A.N. Alkahalaf, D.A. Halvorson, Y.M. Saif // Avian Diseases. — 2002. — Vol. 46. — P. 700-703.
12. Antigenic differentiation of strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies / J.K.A. Cook, B.V. Jones, M.M. Ellis [et al.] // Avian Pathology. — 1993. — Vol. 22. — P. 257-273.

IMMUNOGENICITY OF INACTIVATED VACCINE AGAINST INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS OF TURKEYS "POLIMUN RT INAK"

Nedosiekov V. V., Mazurkevich V. I.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Saliy O. O.

Kiev National University of Technology and Design, Kyiv, Ukraine

Godovsky O. V.

"BIOTESTLAB" Ltd., Kyiv, Ukraine

The purpose of this work was to determine the effectiveness of immunity and its duration after the use of inactivated vaccine against infectious rhinotracheitis of turkeys.

Materials and methods. In the experiment were used 40 chicks of 21 day-old age with the SPF status and 40 turkeys of 14 days of age, seronegative for infectious rhinotracheitis. Formed into four groups of birds - three experimental and one control. In the study was used vaccine "Polimun RT inac", developed on the basis of BIOTESTLAB Ltd. For use, the average sample of each vaccine series was used. Immunogenicity study of the vaccine: Before vaccination from all birds were obtained samples of blood from which serums were prepared, which were transferred to the "Center for Veterinary Diagnostics" for the study of the level of specific antibodies against aMPV by the method of immunoassay (ELISA). In the study were used test kits produced by the company IDEXX (USA). To all birds inoculated the vaccine intramuscularly and subcutaneously in a volume of 0.5 cm³ ≥ 10^{6.5} TCID₅₀/ml, and during 21 days birds were observed. 21 days after vaccination samples of blood were taken from the birds, from which blood serums were obtained for laboratory studies. Study of the immunity duration. After studying of immunogenicity of the vaccine, the experimental birds were transferred to the PP "Viznyuk" in the village .New Ushytza .Blood sampling from poultry and the receipt of serum was carried out at 91, 182, 270 and 360 days after vaccination. Antibodies in the serum were determined using the ELISA method.

Results and discussion. Study of the immunogenicity of the vaccine. It was found that at the 21st day after vaccination, all bird of experimental groups had specific antibodies against aMPV in the range of 750 to 900, which is a sufficient level for protection. In the birds of control groups, a minimal level of antibodies is recorded.

Study of the duration of immunity. Investigations of the duration of immunity showed that the level of antibodies on day 91 was on average in 1991 in turkeys and 781 in chickens, in 182 in 706 and 732, in 270 in 462 and 594, and at 360 at 196 for chickens and were absent in turkeys. In all birds during the observation period, no signs of respiratory diseases and other clinical signs of the disease were detected. Thus, according to the results of the conducted research, it was established that after inoculation with vaccine "Polimun RT inac" antibodies are kept in turkeys for 180 days and in chickens for 270 days.

Conclusions. As a result of the study of three batches of the drug Polimun RT inac it was established that:

— vaccine Polimun RT inac on the 21st day, stimulates the formation of a virus specific antibodies in protective levels

— antibodies in protective levels are kept in turkeys for 180 days and in chickens for 270 days. After this time, antibody titers are declining, which confirms the thesis of the vaccine developers against the rhinotracheitis of turkeys in Europe and the world about the need for primer vaccination with live vaccines.

— the vaccine is effective and after the state registration can be recommended for the prevention of infectious rhinotracheitis of turkeys in farms.

Keywords: metapneumovirus, vaccine, immunogenicity, antibodies, immunoassay analysis.