

Список литературы

1. Wang, J. From DNA biosensors to gene chips // *Nucleic Acids Res.* — 2000. — 28, N 16. — P. 3011 — 3016.
2. Teles, F.R.R., Fonseca L.P. Trends in DNA biosensors // *Talanta.* — 2008. — 77, N 2. — P. 606-623. 3. Gabig-Ciminska, M. Developing nucleic acid-based electrical detection systems // *Microbial Cell Factories.* — 2006. — 5. — P. 1-9. 4. Homola, J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2003. — 377, N 3. — P. 528-539. 5. Lazcka, O., Del Campo F. J., Munoz F. X. Pathogen detection: A perspective of traditional methods and biosensors // *Biosens. Bioelectron.* — 2007. — 22, N7. — P. 1205-1217. 6. Vasjari, M., Shirshov, Yu.M., Samoylov, A.V., Mirsky, V.M. SPR investigation of mercury reduction and oxidation on thin gold electrodes // *J. Electroanal. Chem.* — 2007. — 605, N 1. — P. 73-76. 7. Бенілова І.В., Солдаткін О.П., Рачков О.Е., Ушенін Ю.В., Чегель В.І., Мартле К., Жаффрезік-Рено, Н. Дослідження ефективності іммобілізації нюхових рецепторів людини на сенсорному чипі за допомогою спектрометра ППР «Плазмон ППР 4м» // Дослідження у галузі сенсорних систем та технологій. — Київ, 2006. За ред. Єльської Г.В., Походенка В.Д. — С. 41-50. 8. Nowell, P.C. Hungerford D.A. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1960. — 25, N 1. — P. 85-109. 9. Rowley, J.D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining // *Nature.* — 1973. — 243, N 5405. — P. 290-293. 10. Телегеев, Г.Д., Дубровская, А.Н., Дыбков М.В. Роль белка BCR / ABL в лейкогенезе // *Экспериментальная онкология.* — 1999. — 21, N 3 — 4. — P. 182-194. 11. Markham, N.R., Zuker, M. DINAMelt web server for nucleic acid melting prediction // *Nucleic Acids Res.* — 2005. — 33, Web Server issue. — P. W577-W581. 12. Markham, N. R., Zuker, M. UNAFold: software for nucleic acid folding and hybridization // *Bioinformatics, Volume II. Structure, Functions and Applications*, number 453 in *Methods in Molecular Biology*, chapter 1, Humana Press, Totowa, NJ, 2008, ed. Keith J.M. — P. 3-31.

OLIGONUCLEOTIDE RECOGNITION USING SURFACE PLASMON RESONANCE SPECTROMETER «PLASMON SPR-4M»

Rachkov A.E.¹, Holodova Yu.V.², Telegeev G.D.¹, Soldatkin A.P.¹

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics NASU, Kiev

² Kiev National University named after T. Shevchenko

It has been proposed the biosensor method for detection of various pathogenic agents as an efficient way of diagnostics and preventive health care using surface plasmon resonance (SPR) spectrometer "Plasmon SPR-4m", which was developed by Ukrainian researchers. Immobilization of single-stranded oligonucleotides of known sequence on the sensor surface of the device creates the possibility for their interactions on this surface with oligonucleotides from the samples under study. It generates real-time label-free sensor response. Following the introduction of the oligonucleotides under study into the measuring cell the biosensor responses were obtained which values correspond to the extent of their complementarities to the immobilized oligonucleotide. Thus, the possibility of oligonucleotide recognition by the proposed biosensor method has been shown.

УДК 619:615:371:578.832.1:619.5

ІМУННА ВІДПОВІДЬ У КУРЧАТ НА ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНІВ З РІЗНОЮ АКТИВНІСТЮ ГЕМАГЛЮТИНІНУ ВІРУСУ ГРИПУ ПТИЦІ

Рула О.М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У статті наведені результати досліджень щодо імунної відповіді в курчат на введення інактивованого антигену з різною активністю гемаглютиніну високопатогенного грипу птиці. Дослідження проводились шляхом дворазового щеплення курчат 40-добового віку та наступним серологічним моніторингом щодо наявності антитіл до вірусу. Були проаналізовані отримані дані досліджень та встановлено, що інактивовані антигени з титром гемаглютинінів 1:1024 — 128 в організмі імунізованих курчат здатні викликати утворення антитіл до вірусу високопатогенного грипу на протективному рівні зі значним запасом.

Експерти FAO/WHO/OIE розглядають вакцинацію, як доповнення до заходів з контролю грипу птиці, яка вже використовувалась у багатьох країнах Європи, Азії та Південної Америки, а саме Італії (H7N1 і H7N3), Мексиці (H5N2), Пакистані

(H7N3), Гонконзі (H5N1), В'єтнамі (H5N1) та Індонезії (H5N1) і, як правило, була ефективна [1].

На сьогодні різні фірми пропонують ряд комерційних вакцин для профілактики грипу птиці, які включають в себе гемаглютиніни H5, H7, H9 та нейрамінідази N1, N2, N7, N9 [2, 3, 4].

Одним з критеріїв визначення якості протигрипозних вакцин є антигенна активність біопрепаратів, яка певним чином залежить від гемаглютинінів у використаній вірус-сировині.

У Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» розроблена технологія виготовлення вакцини проти високопатогенного грипу птиці «АвіФлуВак-ІЕКВМ», яка пройшла Державні випробування.

На сьогодні науковці відділу хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» займаються вивченням імунної відповіді у птиці при використанні «АвіФлуВак-ІЕКВМ» з різним рівнем гемаглютинінів.

Метою роботи було вивчити імунну відповідь у курчат після щеплення експериментальними серіями вакцини «АвіФлуВак-ІЕКВМ» з різною активністю гемаглютинінів.

Матеріали та методи досліджень. *Антигенний компонент.* У складі вакцин використовували інактивованій антиген вірусу високопатогенного грипу птиці H5N1 – виробничий штам А/курка/Сиваш/02/05 (з різним титром гемаглютинінів – 1:1024, 1:512, 1:256, 1:128, 1:64).

Інактивант. Інактивацію вірусу проводили за допомогою формаліну в кінцевій концентрації 0,5 % за температури 37,0 °C упродовж 72 годин.

Ад'ювант. Використовували масляний ад'ювант «Монтанід ISA-70» фірми «SEPPIC» (Франція).

Виготовлення вакцини. Антигенні компоненти з різною гемаглютинуючою активністю об'єднували з масляним ад'ювантом у співвідношенні 30:70 та проводили емульгування в гомогенізаторі до отримання емульсії оберненого типу («вода-олія»).

Піддослідна птиця. У досліді були використані 60 голів курчат яєчного кросу «Домінант» 40 добового віку.

Першу дослідну групу птиці імунізували експериментальною серією вакцини «АвіФлуВак-ІЕКВМ» з титром гемаглютинінів 1:1024; другу – з титром гемаглютинінів 1:512; третю – 1:256; четверту – 1:128; п'яту – 1:64; шоста група була контролем та утримувалась окремо від дослідних.

Кожною серією вакцини щеплювали по 10 голів внутрішньом'язово в дозі 0,5 см³ з ревакцинацією через 3 тижні.

Вивчення імунітету у птиці до інактивованого антигену вірусу грипу з різною активністю гемаглютинінів оцінювали через 21 добу після першого щеплення, а потім через кожні 30 діб. Рівень антитіл у сироватці крові визначали в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) за методикою, рекомендованою МЕБ [5]. Для проведення РЗГА була використана «Тест-система H5N1», виробництва ННЦ «ІЕКВМ». Титр антитіл $5 \log_2$ (1:32) та більше вважали позитивним.

Результати досліджень. На рис. 1 та 2 у графічному вигляді представлені порівняльні результати імунної відповіді в курчат після імунізації інактивованими антигенами з різною активністю гемаглютинінів, які входять до складу експериментальних серій вакцин «АвіФлуВак-ІЕКВМ» через 21 добу після щеплення та через 30 діб після ревакцинації.

Як видно з рис. 1, у дослідних курчат через 21 добу після щеплення вакцинами з різним титром гемаглютинінів титр антигемаглютинінів у першій групі (титр гемаглютинінів 1:1024) становив $5,75 \log_2$, а напруженість – 50 %; у другій (титр гемаглютинінів 1:512) – $5,0 \log_2$, а напруженість 66,7 %; у третій (титр гемаглютинінів 1:256) – $4,7 \log_2$ та 66,7 %; у четвертій (титр гемаглютинінів 1:128) – $5,0 \log_2$ та 16,7 % відповідно; у п'ятій дослідній групі (титр гемаглютинінів 1:64) та контролі антигемаглютиніни були відсутні.

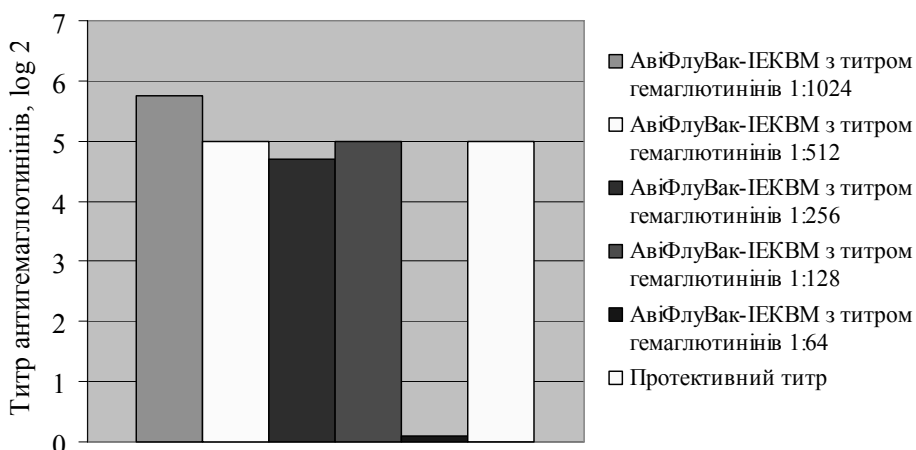


Рис. 1. Рівень гуморальних антитіл до вірусу високопатогенного грипу H5N1 у залежності від активності гемаглютининів у «АвіФлуВак-ІЕКВМ» через 21 добу після першого щеплення птиці

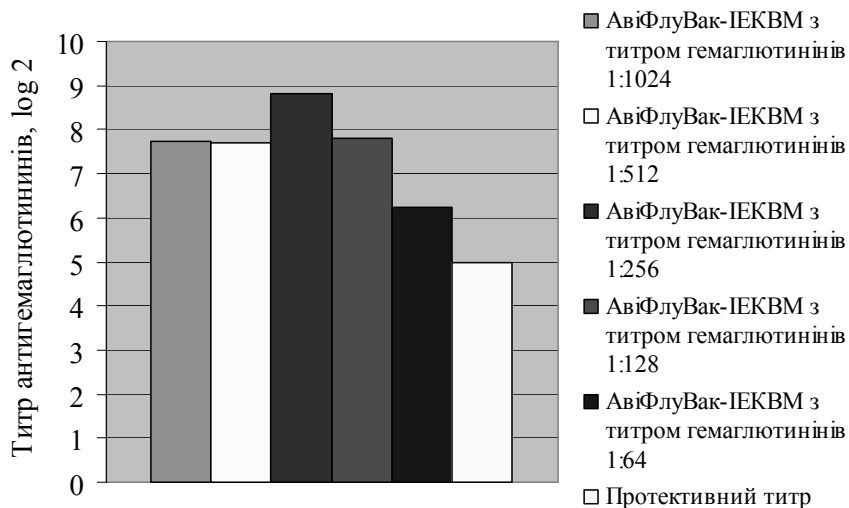


Рис. 2. Рівень антитіл до вірусу високопатогенного грипу H5N1 у залежності від активності гемаглютиніну в «АвіФлуВак-ІЕКВМ» через 30 діб після ревакцинації птиці

У свою чергу через 30 діб після ревакцинації рівень антигемаглютининів у першій, другій та четвертій групах збільшився і майже не відрізнявся: у першій дослідній групі він становив 7,75 log₂; у другій – 7,7 log₂; у четвертій – 7,8 log₂ відповідно; у третій він був вищий, ніж у інших і становив 8,8 log₂. Напруженість імунітету в зазначених дослідних групах птиці була висока та становила 100 %. У п'ятій групі титр антигемаглютининів становив 6,25 log₂, з напруженістю – 90 % (рис. 2).

Висновки. На основі проведених досліджень було встановлено, що дані імунної відповіді в курчат, яким вводили вакцину з гемаглютинуючою активністю 1:1024-1:128 були майже однаковими, що вказує про достатній антигенний запас на 30 добу після ревакцинації.

У той же час при використанні вакцини з гемаглютинуючою активністю 1:64 хоча й отримані дані відповідають рівню проєктивного титру антитіл через 30 діб після ревакцинації, але не мають достатнього запасу антигенної активності.

Дослідження продовжуються.

Список литературы

1. Weibe Vander Sluis. Vaccination accepted as part of AY control strategy// World Poultry. — 2004. — vol. 20. — №3 — P. 29-31.
2. Боцуляк, Н.Я. Грип курей // Сучасне птахівництво. — 2006. — № 2. — С. 18-19.
3. Венгеренко, Л.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия по защите птицеводческих хозяйств от заноса возбудителей заразных болезней // Сб. тр. II Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 21-23 марта 2006 года. Москва, ВВЦ. — 2006. — С. 29-35.
4. Ямникова, С.С. Стратегия профилактики и борьба с грипом птиц / С.С Ямникова, В.И. Смоленский, Н.А. Власов, О.Ф. Хохлачев // Сб. тр. II Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 21-23 марта 2006 года. Москва, ВВЦ. — 2006. — С. 38-41.
5. OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 4th Ed., 2000.

IMMUNE RESPONSE IN CHICKENS ON THE INTRODUCTION OF ANTIGENS WITH DIFFERENT ACTIVITY OF AVIAN INFLUENZA VIRUS HEMAGGLUTININ

Rula A.N.

National scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary medicine”

Results of investigation of immune response in chickens on the introduction of inactivated antigens with different activity of highly pathogenic avian influenza virus hemagglutinin are presented in the paper.

Investigations were conducted by the method of two times immunization of 40 days old chickens with further serological monitoring of antibodies presence.

Obtained data was analyzed. There has been determined that inactivated antigens with hemagglutinin titer 1:1024 — 128 may cause appearance of antibodies to highly pathogenic influenza virus on protective level

УДК 619.578.807.7.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В АРМЕНИИ

Саркисян Х.В.

Научный центр животноводства и ветеринарии Республики Армении, г. Ереван

Методами лабораторной диагностики гемадсорбции, ИФ, ИФА и ПЦР подтверждена вспышка африканской чумы свиней в Армении в 2007 году, вызванная вирусом АЧС. Изучены адаптационные свойства изолята к различным линиям культур клеток.

Введение. Африканская чума свиней одно из наиболее значимых в экономическом отношении заболевание сельскохозяйственных животных. Ущерб от болезни огромен, он складывается из потерь: от вынужденного убоя зараженного скота и уничтожения инфицированных продуктов животноводства, затрат на ветеринарно-санитарные мероприятия по ликвидации вспышек заболевания, потерь от закрытия или ограничения международных рынков животноводческой продукции для неблагополучных по АЧС странам.

Для Армении постоянно существует опасность проникновения этой болезни из сопредельных государств, свидетельством чего являются вспышки АЧС на территории РА в 2007-2008гг., вызванные заносом инфекции из Грузии. В этой ситуации, разработка и совершенствование средств и методов диагностики АЧС напрямую связаны с проблемой обеспечения ветеринарно-санитарной, экономической и экологической безопасности страны.

В настоящее время, ветеринарные диагностикумы представлены несколькими иностранными коммерческими тест-системами для выявления вируса АЧС. Отечественных тест-систем до сих пор не разработано. Для их разработки решающим моментом является получение производственного штамма возбудителя АЧС [2, 6].

Для проведения вышеуказанных реакций (ИФ, ИФА и ПЦР) в рамках программы ФАО по африканской чуме свиней, научному центру предоставлены диагностические конъюгаты (диагностические наборы).