



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 636.5.034:615.371

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.14

ПОСТВАКЦИНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ЦЕЛЬНОВИРИОННЫМИ, РЕКОМБИНАНТНЫМИ И СУБЪЕДИНИЧНЫМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИВ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ГРИППА ПТИЦ

Тарлавин Н.В.^{1*} – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-6474-9171); Веретенников В.В.¹ – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0001-9648-2259); Джавадов Э.Д.¹ – д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-1589-6300); Кудря К.С.² – лаборант-исследователь (ORCID 0000-0003-4774-4294); Красков Д.А.¹ – асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-2362-2641); Дегтярева А.В.¹ – студ. (ORCID 0009-0002-1553-4737)

¹ ФГБОУ ВО СПбГУВМ

² ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева

* tarlav1995@bk.ru

Ключевые слова: высокопатогенный грипп птиц, H5N1, инактивированные вакцины, субъединичные вакцины, рекомбинантные вакцины.

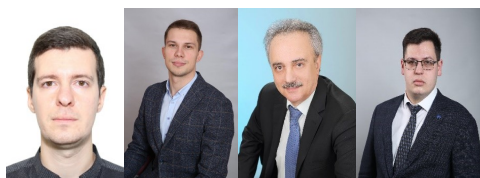
Keywords: highly pathogenic avian influenza, H5N1, inactivated vaccines, subunit vaccines, recombinant vaccines.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-10044, <https://rscf.ru/project/24-76-10044>

Поступила: 15.10.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования иммунного ответа цыплят кросса Доминант на вакцинацию отечественными и зарубежными вакцинами против высокопатогенного птичьего гриппа подтипа H5N1. В качестве вакцин использовались препараты: «Флу Протект H5», «Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9(H7Re4))» и «Volvac® B.E.S.T. AI+ND». Для количественного анализа антигенной активности вакцин в сыворотках крови были использованы наборы ID Screen® Influenza H5 Indirect, предназначенные для определения титра антител к гемагглютнину H5, и ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, позволяющие измерить титр антител к NP-белку (нуклеопротеину вируса гриппа А). По итогам исследования вакцина

«Reassortant Trivalent Vaccine» продемонстрировала наибольший средний титр антител среди протестированных образцов (10709,5), что указывает на её высокую иммуногенность. Наименьшие показатели эффективности показала вакцина «Volvac® B.E.S.T. AI+ND» с средним титром антител 2627,5. Все три вакцины продемонстрировали высокую защитную активность в отношении вируса гриппа А подтипа H5N1, однако эффективность и устойчивость иммунного ответа варьировались. Проведённое параллельное исследование сывороток крови с использованием тест-наборов, ориентированных на различные антигены вируса гриппа (гемагглютинин и нуклеопротеин), показало возможность дифференциации инфицированной птицы от вакцинированной. Данный подход оказался особенно результативным при применении субъединичных вакцин, позволяя достоверно отличать естественное инфицирование от вакцинного иммунного ответа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Высокопатогенный птичий грипп (ВГП) представляет значительную угрозу для домашней и дикой птицы, а также несет риски для здоровья человека [2]. Вспышки ВГП наносят значительный экономический ущерб птицеводству из-за высокой смертности птицы, вынужденного убоя, различных ограничений и затрат на профилактические и лечебные меры [6]. Вирус характеризуется высокой патогенностью и способностью к межвидовой передаче, что делает необходимым постоянный мониторинг эпизоотологической ситуации и совершенствование мер биозащиты и профилактики в промышленном и фермерском птицеводстве [9]. Эффективность предотвращения эпизоотий напрямую зависит от грамотного использования вакцин, способных формировать устойчивый иммунитет против вируса и ограничивать его распространение.

Для борьбы с ВГП применяются различные вакцины, которые можно условно разделить на моновалентные и поливалентные, направленные против нескольких подтипов вируса [3]. Среди актуальных на сегодняшний день вакцин выделяются как отечественные, так и зарубежные разработки, в которых используются различные подходы к созданию антигенной защиты против вирусов, циркулирующих в дикой природе и на птицефермах [7]. Особое внимание уделяется вакцинам на основе антигенов гемагглютинина H5, поскольку данный белок является основным компонентом иммунного ответа организма и важен для предотвращения патогенеза заболевания. Кроме того, изуче-

ние антител к нуклеопротеину (NP-белку) позволяет оценить общий уровень инфицирования вирусом гриппа А и различить вакцинный иммунный ответ от реакции на полевые штаммы вируса [8].

В настоящее время промышленное птицеводство России работает в условиях запрета на вакцинацию против ВГП крупных птицевладельцев закрытого типа (птицефабрик). Основанием для запрета служит «невозможность» достоверно отличить иммунный ответ, возникающий вследствие вакцинации и вследствие переболевания полевым штаммом вируса гриппа подтипа H5 [1]. Применение рекомбинантных субъединичных вакцин может решить данную проблему, что демонстрируется в нашем исследовании.

Цель настоящего исследования — оценить и дифференцировать между собой иммунный ответ у цыплят кросса Доминант на вакцинацию отечественными и зарубежными вакцинами, такими как «Флу Протект H5», «Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9(H7Re4)» [5] и «Volvac® B.E.S.T. AI+ND». Для объективной оценки иммунного ответа использовались наборы для анализа сывороток крови: ID Screen® Influenza H5 Indirect, позволяющий измерить титры антител против гемагглютинина H5, и ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, используемый для определения уровня антител к NP-белку, что позволяет дифференцировать ответ на вакцинацию от ответа на естественное инфицирование вирусом гриппа А.

Исследование направлено на уточне-

ние эффективности данных вакцинных препаратов в условиях промышленного птицеводства. Проведённый анализ титров антител к H5 и NP-белку [4] позволяет оценить стойкость и качество иммунного ответа у вакцинированных птиц, что важно для дальнейшего планирования программ профилактики и контроля ВГП на уровне хозяйств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент проводили в 2024 году на базе вивариев кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ). Материалом для исследования служили 80-дневные цыплята кросса Доминант, содержащиеся в соответствии с требованиями к кроссу. Содержание клеточное. Было сформировано 4 группы клинически здоровых птиц, по 10 цыплят в каждой группе, по следующей схеме:

- группа №1 – вакцинированная вакциной Флу Протект H5 (вакцина против гриппа птиц инактивированная эмульгированная, производства ФКП "Ставропольская биофабрика", Россия);
- группа №2 – вакцинированная вакциной Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6 (H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9(H7Re4) трехвалентная вакцина, рекомбинантная инактивированная, производства «Chongqing River Biotechnology Co.», Китай);
- группа №3 – вакцинированная вакциной Volvac® B.E.S.T. AI+ND (масляная субъединичная инактивированная вакцина, содержащая рекомбинантный гемагглютинин H5, производства «BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA», Германия);
- группа №4 – интактный контроль.

Спустя 30 дней после введения вакцины у всех птиц каждой группы были отобраны пробы сыворотки крови и проведен иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови цыплят двумя коммер-

ческими наборами производства ID Vet (ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species и ID Screen® Influenza H5 Indirect). Первый набор обнаруживает антитела к NP-белку вируса гриппа А и используется для диагностики всех подтипов вируса гриппа А. Второй набор используется для выявления антител исключительно к гемагглютинуину H5 вируса гриппа А.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Результаты, полученные в ходе изучения сывороток крови, полученных от опытных групп, позволили сделать ряд выводов касательно иммунного ответа птиц на вакцины, содержащие различный антиген.

При исследовании сывороток крови при помощи набора ID Screen® Influenza H5 Indirect мы получили результаты титра антител, выработанного в отношении гемагглютиниона (наиболее иммуногенного белка вируса гриппа А) (Рис. 1). Таким образом, китайская вакцина «Reassortant Trivalent Vaccine» показала наивысший средний титр среди исследованных (10709,5). Следующей по эффективности сработала вакцина «Флу Протект H5» отечественного производства (7959). Наименьшую защитную эффективность показала вакцина «Volvac B.E.S.T. AI+ND» (2627,5). Отсутствие антител в группе контроля говорит об отсутствии контакта птицы как с вакцинным, так и с полевым патогенным вирусом и свидетельствует о чистоте эксперимента. Высокий уровень антител в отношении гемагглютиниона в группе, вакцинированной вакциной «Reassortant Trivalent Vaccine» мы связываем с наличием в вакцине не одного, а двух рекомбинантных вирусов гриппа подтипа H5 (H5N6 и H5N8).

Несмотря на то, что уровень иммунного ответа на различные вакцины получился разный, можно с уверенностью говорить, что все три испытанные вакцины показали защитную эффективность в отношении вируса гриппа подтипа H5N1 и птица, вакцинированная любой из представленных вакцин, будет надежно защищена от заболевания.

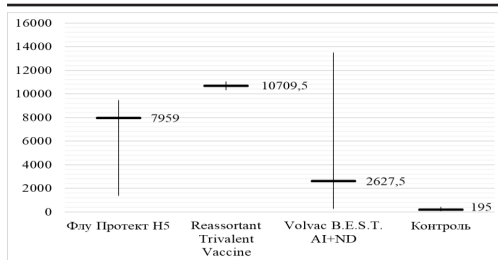


Рисунок 1 – Титр антител в ответ на вакцинацию тремя различными коммерческими вакцинами, набор ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species.

Однако, различная конфигурация вакцин и различные антигены, входящие в их состав, позволяют нам сделать дифференциацию природы антител, возникших в ответ на вакцинацию.

Для этого мы воспользовались набором ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, который обнаруживает антитела в отношении NP-белка (нуклеопротеина вируса гриппа А), который обладает низкой изменчивостью и нуклеотидный состав которого меняется в зависимости от подтипа вируса гриппа А лишь на 5-15%.

Таблица 1 демонстрирует, что после вакцинации цельновирионными вакцинами «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine» у птицы образуются специфические антитела в отношении NP-белка, а после вакцинации «Volvac B.E.S.T. AI+ND» и у контрольной группы – отсутствие данных антител.

Таблица 1 – Титр антител в ответ на вакцинацию тремя различными коммерческими вакцинами, набор ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species

Исследуемая группа	Флу Протект H5	Reassortant Trivalent Vaccine	Volvac B.E.S.T. AI+ND	Контроль
Средний результат	Обнаружено	Обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Из проведенных исследований можно сделать следующие выводы. Все три испытанные вакцины («Флу Протект H5», «Флу Протект H5», «Volvac B.E.S.T. AI+ND») показали высокую защитную

Результаты данного исследования обусловлены тем, что вакцины «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine» являются цельновирионными, то есть содержат все 8 белков вируса гриппа А, среди которых есть и гемагглютинин и нуклеопротеин. Субъединичная вакцина «Volvac B.E.S.T. AI+ND», напротив, содержит лишь рекомбинантный гемагглютинин, полученный в бакуловирусной системе экспрессии (B.E.S.T.).

Данный результат подтверждает возможность дифференциации природы антител, возникших в ответ на контакт организма птицы с антигеном вируса гриппа подтипа H5N1. Логично предположить, что в случае контакта с цельным полевым вирулентным штаммом вируса результат будет схож с тем, что мы видим в случае вакцинации птицы вакцинами «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine», то есть положительный результат в случае исследования обоими наборами.

Данное явление имеет огромную значимость для специфики российского птицеводства в условиях запрета на вакцинацию крупных птицефабрик. Таким образом, в случае вакцинации птиц вакциной «Volvac B.E.S.T. AI+ND», при помощи параллельного исследования сывороток крови птиц вышеобозначенными наборами можно будет достоверно говорить, что птица не имела контакта с полевым штаммом вируса H5N1, а наличие антител вызвано вакцинацией.

эффективность в отношении вируса гриппа А подтипа H5N1. Используя параллельное исследование сывороток крови иммунных птиц при помощи наборов, нацеленных на различные белки вируса гриппа (гемагглютинин и нуклеопроте-

ин), можно достоверно отличать инфицированную птицу от вакцинированной, в случае если вакцинация была осуществлена субъединичной вакциной. Проводить данное различие возможно при помощи регистрации отрицательного результата при исследовании антител к NP-белку и положительного результата при исследовании антител к гемагглютинуину H5.

POST-VACCINAL DIAGNOSTICS OF THE IMMUNE RESPONSE INDUCED BY WHOLE-VIRION, RECOMBINANT AND SUBUNIT VACCINES AGAINST HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA

Tarlav N.V. ^{1*} – Ph.D., Assistant of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-6474-9171); **Veretennikov V.V.** ¹ – Assistant of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0001-9648-2259); **Javadov E.J.** ¹ – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-1589-6300); **Kudrya K.S.** ² – laboratory assistant researcher at the (ORCID 0000-0003-4774-4294); **Kraskov D.A.** ¹ – post-graduate student of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-2362-2641); **Degtyareva A.V.** ¹ – 5th year student of the Faculty of Veterinary Medicine of the (ORCID 0009-0002-1553-4737).

¹ FGBOU VO SPbGUVM

² Smorodintsev Federal State Budgetary Research Institute of Influenza

*tarlav1995@bk.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the immune response of chickens of the Dominant cross to vaccination with domestic and foreign vaccines against highly pathogenic avian influenza subtype H5N1. The following drugs were used as vaccines: Flu Protect H5, Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9 (H7Re4)" and "Volvac® B.E.S.T. AI+ND". For quantitative analysis of the antigenic activity of vaccines in blood sera, ID

Screen® Influenza H5 Indirect kits were used, designed to determine the titer of antibodies to hemagglutinin H5, and ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, allowing to measure the titer of antibodies to NP protein (nucleoprotein of the influenza A virus). According to the results of the study, the Reassortant Trivalent Vaccine demonstrated the highest average antibody titer among the tested samples (10709.5), which indicates its high immunogenicity. The lowest efficiency indicators were shown by the vaccine "Volvac® B.E.S.T. AI+ND" with an average antibody titer of 2627.5. All three vaccines demonstrated high protective activity against influenza A virus of the H5N1 subtype, but the effectiveness and resistance of the immune response varied. A parallel study of blood sera using test kits focused on various influenza virus antigens (hemagglutinin and nucleoprotein) showed the possibility of differentiating an infected bird from a vaccinated one. This approach proved to be particularly effective in the use of subunit vaccines, allowing us to reliably distinguish natural infection from the vaccine immune response.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Актуальные вирусные инфекции в птицеводстве: анализ результатов молекулярной диагностики / Д.Б. Андрейчук, Л. О. Щербакова, Н. А. Гусева [и др.] // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я. П. Коваленко. 2021. Т. 82. С. 51-57.
2. Джавадов, Э. Д. Грипп птиц / Э. Д. Джавадов, М. Е. Дмитриева // ГНУ ВНИИП Россельхозакадемии. 2011. 188 с.
3. Ларионова, Н. В. Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Ларионова Наталья Валентиновна // Санкт-Петербург, 2017. 22 с.
4. Сравнительный анализ кодирующих последовательностей пятого и седьмого сегмента генома вируса гриппа, а подтипов H5N1, H7N9, H9N2 / Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Э. Д. Джавадов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2023. – № 4. – С. 3-5.
5. Genetic and biological properties of H7N9 avian influenza viruses detected after

application of the H7N9 poultry vaccine in China / Yin X., Deng G., Zeng X. Et al. // PLoS Pathog. 2021. No. 17 (4): e1009561.

6. Identification of a Novel Viral Protein Expressed from the PB2 Segment of Influenza A Virus / Yamayoshi S., Watanabe M., Goto H., Kawaoka Y. // J. Virol. 2015. 90 (1): 444-456.

7. Jiang L., Chen H., Li C. Advances in deciphering the interactions between viral proteins of influenza A virus and host cellular proteins. Cell Insight. 2023. 31. No. 2 (2): 100079.

8. Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: a review / Alqazlan N., Astill J., Raj S., Sharif S. // Avian Pathol. 2022. No. 51 (3): 211-235.

9. Success factors for avian influenza vaccine use in poultry and potential impact at the wild bird-agricultural interface / Swayne D.E., Spackman E., Pantin-Jackwood M. // Ecohealth. 2014. No. 11 (1): 94-108.

REFERENCES

1. Current viral infections in poultry farming: analysis of the results of molecular diagnostics / D.B. Andreychuk, L.O. Shcherbakova, N.A. Guseva [et al.] // Proceedings of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya.R. Kovalenko. 2021. Vol. 82. Pp. 51-57.

2. Dzhavadov, E.D. Avian influenza / E.D. Dzhavadov, M.E. Dmitrieva // State Scientific Institution VNIVIP of the Russian Agricultural Academy. 2011. 188 p.

3. Larionova, N.V. Influenza pathogen: variability in nature and experiment: abstract of a dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences / Natalya Valentinovna Larionova // St. Petersburg, 2017. 22 p.

4. Comparative analysis of the coding sequences of the fifth and seventh segments of the influenza A virus genome of the H5N1, H7N9, H9N2 subtypes / N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, E. D. Dzhavadov [et al.] // Veterinary Science of Kuban. - 2023. - No. 4. - P. 3-5.

5. Genetic and biological properties of H7N9 avian influenza viruses detected after application of the H7N9 poultry vaccine in China / Yin X., Deng G., Zeng X. Et al. // PLoS Pathog. 2021. No. 17 (4): e1009561.

6. Identification of a Novel Viral Protein Expressed from the PB2 Segment of Influenza A Virus / Yamayoshi S., Watanabe M., Goto H., Kawaoka Y. // J. Virol. 2015. 90 (1): 444-456.

7. Jiang L., Chen H., Li C. Advances in deciphering the interactions between viral proteins of influenza A virus and host cellular proteins. Cell Insight. 2023. 31. No. 2 (2): 100079.

8. Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: a review / Alqazlan N., Astill J., Raj S., Sharif S. // Avian Pathol. 2022. No. 51 (3): 211-235.

9. Success factors for avian influenza vaccine use in poultry and potential impact at the wild bird-agricultural interface / Swayne D.E., Spackman E., Pantin-Jackwood M. // Ecohealth. 2014. No. 11 (1): 94-108.