

6. Meir M. Artificial increase of eggshell conductance improves hatchability of early laid goose eggs / M. Meir, A. Ar // Brit. Poult. Sci.- 1996.-Vol. 37, N 5.-P. 937-951.
7. Кучмистов В.А. Влияние удаления кутикулы с поверхности яиц на выводимость/
8. В.А. Кучмистов, В.А. Бреславец // II Украинская конференция по птицеводству. Борки, 14-16 мая 1996. – Харьков, 1996. - С. 79.

#### DETERMINING THE MECHANISM OF ACTION DIFFERENT SHELL SURFACE TREATMENT CHEMICALS DURING THE INCUBATION OF EGGS OF GEES

**Pavlichenko O. V.**

*Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine*

*The paper presents data of electron microscopy and mass spectrometric analysis of samples of bioceramic protective properties after treatment of the surface of the scroop of incubating eggs of geese with solutions of sodium hypochlorite, hydrochloric acid or acetic acid. It has been established that the test preparations affect, to varying degrees, the morphology of the natural cuticle, but does not completely destroy it. Thus, sodium hypochlorite, although it has a gentle effect on the surface of the cuticle, fluffs it and thereby increases the number of holes, which increases the vapor permeability of the shell. The test acetic and hydrochloric acids do not cause a pronounced destructive effect on calcite shell layers, but they increase the number and depth of ruptures on the surface of the cuticle, which contributes to an increase in its vapor permeability.*

**Keywords:** eggs, geese, sodium hypochlorite treatment, acetic and hydrochloric acids, electron microscopy of the shell

УДК: 636:578.824.11:57.083

#### КАЛІБРУВАННЯ ГАЛУЗЕВОГО СТАНДАРТНОГО ЗРАЗКУ АНТИРАБІЧНОГО ІМУНОГЛОБУЛІНУ ІЗ СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛІВ

**Полупан І. М., Мазур Н. В.\*, Недосєков В. В.**

*Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна, e-mail: vetmedic@ukr.net*

*У статті надано результати калібрування отриманого нами Галузевого стандартного зразку антирабічного імуноглобуліну до Другого міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини активністю 30 МО/см<sup>3</sup>.*

*Показано активність препарату у РН на білих мишах на рівні 11,03 МО/см<sup>3</sup>, а у FAVN-тесті – 11,27 МО/см<sup>3</sup>.*

**Ключові слова:** антирабічний імуноглобулін, антирабічна активність, Галузевий стандартний зразок

Важливою ланкою в системі епізоотологічного контролю за сказом є лабораторна діагностика, одним із завдань якої є визначення рівня віруснейтралізуючих антитіл у сироватках крові домашніх і диких м'ясоїдних тварин, а також імуноглобуліну антирабічного для постекспозиційної профілактики сказу в людей. Важливим аспектом визначення антитіл до вірусу сказу є необхідність калібрування позитивних контрольних сироваток, які використовуються для рутинних досліджень [1; 2].

Найбільш поширеними методами таких досліджень є реакція нейтралізації (РН) на білих мишах, FAVN-тест (fluorescent antibody virus neutralisation) або ж RFFIT (rapid fluorescent focus inhibition test) в культурі клітин [3; 4; 5].

Суть цих методів полягає у нейтралізації постійної дози вірусу рядом послідовних розведень дослідної сироватки і порівняння результатів із референтною сироваткою [6]. В якості такої використовують стандартну позитивну антирабічну сироватку крові собак, рекомендовану Міжнародним епізоотичним бюро (активність 6, 7 Міжнародних одиниць в см<sup>3</sup>), яку виробляє Європейська референс-лабораторія зі сказу AFSSA (м. Нансі, Франція). Цей стандартний препарат призначений для оцінки напруженості антирабічного імунітету методами *in vitro* у домашніх тварин. Партії цього продукту відкалібровані до Другого міжнародного стандарту імуноглобуліну людини (The 2<sup>nd</sup> International Standard for anti-rabies immunoglobulin, human).

Отже, на сьогодні головним стандартом антирабічної сироватки, який придатний для досліджень титрів антирабічних антитіл методами *in vivo* та *in vitro*, є Другий міжнародний стандарт антирабічного імуноглобуліну людини. Цей препарат (об'єднаний зразок сироваток крові вакцинованих людей) був вироблений і апробований в лабораторії біологічних стандартів SSI (Копенгаген, Данія) в 1993 році. Після численних досліджень йому присвоєно антирабічну активність у 30 МО/см<sup>3</sup> (Міжнародних одиниць) [7]. Власником і розповсюдженцем міжнародних стандартів є Національний інститут біологічних стандартів і контролю (NIBSC, Potters Bar, Великобританія). Випуск Другого міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини, як й інших міжнародних стандартів антирабічних препаратів, досить обмежений, тому він не рекомендується для рутинного використання, а тільки для калібрування національних стандартів [8].

\* Аспірант – науковий керівник Недосєков В. В.

**Мета.** Провести калібрування Галузевого стандартного зразку антирабічного імуноглобуліну із сироватки крові кролів до Другого міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини.

**Матеріали та методи.** Для роботи використовували отриманий нами раніше стандартний зразок антирабічного імуноглобуліну із сироватки крові кролів.

Калібрування отриманого ліофільно висушеного препарату проводили відносно Міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини (30 МО/см<sup>3</sup>) у реакціях віруснейтралізації *in vivo* та *in vitro*. Для цього зразок досліджували шляхом трикратної постановки РН на білих мишах і FAVN-тесту.

Активність Галузевого стандартного зразку антирабічного імуноглобуліну визначали в реакції нейтралізації на білих мишах за методом Н. N. Johnson [9]. Для цього, до імуноглобуліну у різних розведеннях (від 1:200 до 1:1600) додавали робоче розведення вірусу сказу, референс-штаму CVS. Інкубацію, для з'єднання комплексів антиген – антитіло, проводили у термостаті за температури 37±0,5 °С впродовж 90 хвилин. Отриманий матеріал інокулювали лабораторним тваринам інтрацеребрально в об'ємі 0,03 см<sup>3</sup> і спостерігали за ними протягом 14 діб, специфічну загибель відмічали починаючи з 5 доби досліду. Статистичну обробку результатів проводили методом Spearman – Kärber [10]. Результати реакції виражали в МО/см<sup>3</sup>.

Принцип реакції FAVN є аналогічним (застосовується штам CVS вірусу сказу, адаптований до культури клітин ВНК-21 С 13). Титром імуноглобуліну є розведення, в якому 100 % вірусу нейтралізовано у 50 % лунок. Цей титр виражається в МО/см<sup>3</sup>, в порівнянні з нейтралізуючим розведенням стандартної сироватки.

**Результати досліджень.** Досить часто значення активності антирабічних глобулінів відрізняється залежно від методу, що використовується для їх оцінки. У зв'язку з цим ВООЗ рекомендує використовувати методи віруснейтралізації для калібрування активності національних стандартних зразків антирабічного імуноглобуліну. Тому нами проведено калібрування отриманого ліофільного препарату відносно Міжнародного стандарту антирабічного імуноглобуліну людини (30 МО/см<sup>3</sup>) у реакціях віруснейтралізації *in vivo* та *in vitro*. Для цього досліджено зразок шляхом трикратної постановки РН на білих мишах і FAVN-тесту (Табл.)

**Таблиця –** Калібрування дослідного зразку антирабічного імуноглобуліну n=3)

№ досліду	РН на білих мишах, МО/см <sup>3</sup>	FAVN-тест, МО/см <sup>3</sup>
1	10,5	11,0
2	11,8	11,3
3	10,8	11,5
Середнє значення	11,03±0,43	11,27±0,17

Результати калібрування отриманого нами зразку антирабічного імуноглобуліну показали активність препарату у РН на білих мишах на рівні 11,03 МО/см<sup>3</sup>, а у FAVN-тесті – 11,27 МО/см<sup>3</sup>.

Розроблений Галузевий стандартний зразок антирабічного імуноглобуліну за своїми характеристиками відповідає необхідним показникам якості, які ставляться перед національними стандартними зразками антирабічної активності, є стабільним за рахунок зберігання в ліофілізованій формі та придатним для визначення антирабічної активності сироваток крові та імуноглобулінів методами *in vivo* та *in vitro*.

**Висновки.** 1. Результати калібрування отриманого нами зразку антирабічного імуноглобуліну показали активність препарату у РН на білих мишах на рівні 11,03 МО/см<sup>3</sup>, а у FAVN-тесті – 11,27 МО/см<sup>3</sup>.

2. Розроблений Галузевий стандартний зразок антирабічного імуноглобуліну є стабільним за рахунок зберігання в ліофілізованій формі та придатним для визначення антирабічної активності сироваток крові та імуноглобулінів методами *in vivo* та *in vitro*.

#### Список літератури

1. Susan M. Moore. Rabies serology: relationship between assay type, interpretation, and application of results : dissertation PhD. / SUSAN M. MOORE. – Kansas, 2015. – 132 p.
2. A collaborative study to establish the 6th national standard for anti-Rabies Immunoglobulin in China / Leitai Shi, Shouchun Cao, Xiaohong Wu та ін. // J. Appl. Virol. – 2016. – С. 21–29.
3. Haase M. The mouse neutralization test in comparison with the rapid fluorescent focus inhibition test: differences in the results in rabies antibody determinations / M. Haase, D. Seinsche, W. Schneider. // Journal of Biological Standardization. – 1985. – №13. – P. 123–128.
4. Cliquet F. Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody / F. Cliquet, M. Aubert, L. Sagne. // Journal of Immunological Methods. – 1988. – №212. – P. 79–87.
5. Validation of the Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test for Rabies Virus-Neutralizing Antibodies in Clinical Samples / S. Kostense, S. Moore, A. Companjen et al. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2012. – p. 3524–3530.
6. 3. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електронний ресурс] // OIE. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.13\\_RABIES.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.13_RABIES.pdf)
7. Lyng J. Calibration of Replacement Preparation for the International Standard for Rabies Immunoglobulin / J. Lyng. // Biologicals. – 1994. – №22. – P. 249–255.
8. World Health Organizations. Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards. WHO Technical report series, 2006, 932:, p. 73-121.

9. H. N. Jonson. Реакция нейтрализации на белых мышах / Jonson H. N. // Методы лабораторных исследований по бешенству – Женева: Медицина, 1975. – С. 319–327.
10. R. J. Lorenz. Статистические методы обработки результатов. Метод Sperman-Kärber / R. J. Lorenz, K. Bögel // Методы лабораторных исследований по бешенству – Женева: Медицина, 1975. – С. 319–327.

#### CALIBRATION OF BRANCH STANDARD SAMPLE OF ANTI-RABIES IMMUNOGLOBULIN FROM RABBITS BLOOD SERUM

*Polupan I. M., Mazur N. V., Nedosekov V. V.*

*Institute of Veterinary Medicine of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

*Objective. To perform calibration of branch standard sample of anti-rabies immunoglobulin from rabbits blood serum to The 2nd International Standard for anti-rabies immunoglobulin, human.*

*Materials and methods of research. For study we used previously obtained a standard sample of anti-rabies immunoglobulin.*

*Calibration of obtained lyophilized preparation was performed relative to the International Standard for anti-rabies immunoglobulin, human (30 IU/ml) in virusneutralization reactions – mouse neutralization test (MIT) and FAVN-test by triple study.*

*Potency of Branch standard sample of anti-rabies immunoglobulin was determined in MIT and FAVN-test.*

*Results of research. Quite often activity of anti-rabies globulin differs depending on the method used for evaluation. In this regard, WHO recommends to use virusneutralization methods to calibrate potency of national standard samples for anti-rabies immunoglobulin.*

*In results of calibration of branch sample for anti-rabies immunoglobulin we showed potency in MIT at 11.03 IU/ml, and FAVN-test - 11.27 IU/ml.*

*Conclusions. 1. In results of calibration of branch sample for anti-rabies immunoglobulin we showed potency in MIT at 11.03 IU/ml, and FAVN-test - 11.27 IU/ml.*

*2. Developed branch standard sample of anti-rabies immunoglobulin is stable at the expense of storage in lyophilized form and suitable for determining the potency of anti-rabies immunoglobulins by in vivo and in vitro methods.*

**Keywords:** anti-rabies immunoglobulin, anti-rabies potency, Branch standard sample

УДК: 619:616.98:578.823.2:57.083.224:636.5

#### ВИВЧЕННЯ АДАПТАЦІЙНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОЇ БУРСАЛЬНОЇ ХВОРОБИ У РІЗНИХ КУЛЬТУРАХ КЛІТИН

*Потрясаєва О. О., Стегній Б. Т., Музика Д. В., Усова Л. П., Рула О. М.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: admin@vet.kharkov.ua*

*У статті наведені дані щодо перевірки адаптаційних властивостей штаму вірусу ІБХ у культурах клітин різного походження. У дослідженнях було вивчено здатність штаму вірусу ІБХ до культивування та накопичення у первинно-трипсинізованих культурах фібробластів курячих, перепелиних, гусячих, качиних ембріонів, а також перещеплюваних культурах клітин Vero.*

*Встановлено що більш ефективними системами культивування для вірусу ІБХ штаму «Winterfield 2512» виявилися первинні культури клітин ФЕК та ФЕП. Найвищі титри інфекційної активності штаму «Winterfield 2512» до первинних культур ФЕК та ФЕП – 5,85 та 5,80 Іг ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> відповідно було отримано на 10 пасажі.*

*Доведено відсутність впливу різних систем культивування на специфічність антигену вірусу ІБХ та придатність його для використання в якості компоненту тест-системи ІФА.*

**Ключові слова:** вірус ІБХ, культивування, культура клітин, інфекційна активність

Птахівничій галузі відчутних збитків завдає інфекційна бурсальна хвороба (ІБХ), економічні втрати від якої, складаються із загибелі курчат (від 5 до 40 %), зниження м'ясної продуктивності і збільшення відсотку вибракування птиці, особливо серед бройлерів та, у випадках субклінічного перебігу, збитками внаслідок імунодепресивної дії вірусу [3, 4, 6]. Сучасні методи діагностики та вакцинопрофілактика – це ключові рішення у боротьбі з даною інфекцією, а однією із головних умов їх ефективності є відповідність антигенних властивостей польових ізолятів збудника та штамів, які використовуються для виготовлення вакцин і діагностичних препаратів [5].