

Адууны томуу өвчний эсийн өсгөвөрт вакцины загвар бэлтгэн туршсан дүн

Ёндонжамцын Энхмандах¹, Дашзэвгэгийн Эрдэнэчимэг¹, Энхбаатарын Батмагнай¹, Гантулгын Ариунболд¹, Мягмарсүрэнгийн Одончимэг¹, Цэнд-Аюушийн Нумсүрэн², Сүхбаатарын Өсөхгэрэл², Базарцэрэнгийн Болдбаатар^{1*}

¹ Вирус судлалын лаборатори, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, ХААИС, Зайсан 17024, Улаанбаатар

² Мал Эмнэлгийн Эмийн Сорилт Баталгаажуулалтын Улсын Лаборатори, 210131, Улаанбаатар

*Холбоо баригч зохиогч: boldoomglvet@gmail.com

 - <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>

Хүлээн авсан: 02.10.2020

Хянасан: 15.01.2021

Хэвлэлтэд орсон: 10.02.2021

Хураангуй

Бидний судалгааны ажлын гол зорилго нь адууны томуу өвчний эсийн өсгөвөрт вакцины загвар гарган авах бөгөөд зорилгын хүрээнд адууны томуу өвчний нутгийн үүсгэгчийг илрүүлэхээр нийт 161 адууны хамрын арчдас цуглуулж, цус наалдуулах урвалаар шалгахад 15(9.3%) дээж эерэг дүн үзүүлсэн. Эдгээр эерэг дүн үзүүлсэн арчдаснаас MDCK дамжмал эсийн өсгөвөрт халдвар хийв. Хураан авсан эмгэгт шингэнийг 2-Bromoethylamine Hydrobromide бодисоор идэвхгүйжүүлээд, MONTANIDE ISA 206 тосон суурьт адьювант (хүчлүүр) бодистой 1:1 харьцаатай хольж вакцины загварыг бэлтгэсэн. Бэлтгэсэн вакцины загварын ариун чанар, хорон чанар, зуурамтгай байдал, тогтвортой байдал болон идэвхит чанарыг шалгалаа. Бидний хийсэн туршилтын дүнгээс үзвэл вакцин таригдсан адууны анхны тарилтын дараа 30 хоногтоо 1.64-1:128 таньцтай дархлаа тогтсон бөгөөд 60 дахь хоногтоо 1:128-1:256 таньцтай болж хадгалагдан тэр нь аажмаар буурч 180 хоногтоо 1:16-1:32 таньцтай болсон байна. Үр дүнгээс харахад бидний бэлтгэсэн вакцины загвар нь 6 сарын хугацаанд хамгаалах идэвхитэй байна.

Түлхүүр үг: Томуу, вирус, MDCK эс, вакцин

Оршил

Мал, амьтны амьсгалын замын хурц халдварт өвчнүүдээс адууны томуу нь *Миксовирусын* овог, *Ортомиксовирусын* язгуур, А хүрээнд хамаарах Н3N8 ба Н7N7 гэсэн 2 дэд хэв шинжээр үүсгэгддэг [1]. Энэ өвчин тархалтын хурд, халдварлалтын хүрээгээрээ бусад халдварт өвчнүүдтэй харьцуулахад ихээхэн онцлогтой. Манай оронд 1950-иад оны сүүлээр адууны халдварт ханиад нэрээр тэмдэглэгдсэн, үүнээс хойш 1975 оноос эхлэн энэ өвчний судалгааны ажил хийгдэж эхэлсэн байна. Томуу судлаачдын судалгааны ажлын үр дүнгээс үзвэл адууны томуугийн үүсгэгчийн эсрэгтөрөгчийн шинж нь нилээд тогтворгүй, байнга өөрчлөгдсөөр 10-15 жилийн давтамжтай гарах хандлагатай байна [2]. Манай орны хувьд адууны томуу өвчний А хүрээний Н3N8 хэв шинжийн вирус дэгдэлт гарах эрсдэл өндөртэй [2,3]. Энэ өвчнөөс

сэргийлэх гол арга зам нь вакцинжуулалт юм. Бидний энэхүү судалгааны ажил нь ШУТТ-ын дэд сэдэвт “Адууны томуу өвчний эсийн өсгөвөрт вакцины загвар бэлтгэн турших” ажлын хүрээнд хийгдсэн бөгөөд манай улсад одоо хэрэглэж байгаа вакцины үйлдвэрлэгдэх хэмжээ хангалтгүй, үйлдвэрлэх хугацаа урт, тахианы үр хөврөлтэй өндөг олоход хүндрэлтэй, халдвар хийсэн өндөгнөөс хураан авах шингэний хэмжээ бага зэрэг технологийн хүндрэлтэй асуудлуудаас болж нийт адуугаа бүрэн дархлаажуулалтанд хамруулж чадахгүй байна. Иймээс бид энэ удаагийн судалгааны ажлаараа вакцины стандарт омог болон Монгол оронд одоо эргэлтэнд байгаа омгуудын эсрэгтөрөгчийн шинжийг нь судалж шинэ үүсгэгч оруулан вакцины технологийг өөрчлөн эсийн өсгөвөрт өсгөвөрлөхийг зорьсон юм.

Судалгааны материал, арга зүй:*Эмгэгт сорьц цуглуулах:*

Төв, Хэнтий, Дундговь, Ховд аймгуудаас цуглуулсан нийт 161 адууны хамрын арчдасны дээжийг ашиглав.

Туршилтын амьтан

Судалгааны ажилд хэрэглэх мал амьтныг МЭБАЦС-18/02/12 бүртгэлийн дугаартай туршилтын амьтан хэрэглэх ёс зүйн хяналтын журамд заасны дагуу адуу болон лабораторийн цагаан хулганыг ашигласан.

Вакцины стандарт омог

Адууны томуугийн олон улсын омог болох A/equine/Miami/63 омгийг ашигласан.

Эсийн өсгөвөр

Томуугийн вирусын мэдрэг эс болох MDCK (Madin Darby Canine Kidney) эсэд вирусыг нийтэд мөрддөг аргаар халдаав [4].

Цус наалдуулах урвал (ЦНУ)

Томуугийн вирусын гадаргууд байрлах бүтцийн үндсэн эсрэгтөрөгчийн нэг болох гемагглютинин нь зарим төрлийн мал амьтны эсэд наалдах өвөрмөц чанартай байдаг [5,14]. Иймээс өвчтэй адуунаас цуглуулсан хамрын арчдасыг улаан эсийг наалдуулж буй эсэхийг шалгахад ашиглалаа. Урвалыг тавихдаа тахианы 1%-ийн улаан эсийг ашиглав.

Эсийн өсгөвөрт халдвар хийх

Томуугийн олон улсын стандарт омог болох Майами/63 омог болон нутгийн үүсгэгчийг мэдрэг эсийн өсгөвөр болох MDCK эсийг нийтэд

мөрддөг аргаар 6 үүр бүхий хавтанд жигд ургуулж халдварыг хийсэн. Халдварыг хийхдээ трипсин агуулсан D-MEM (200мкл/100мл) тэжээлт орчноос 2 мл-ээр авч эсээ 3 удаа угаана. 3 дахь угаасан уусмалаа соруулж асгаад дээр нь халдвар хийх дээжнээс 200 мкл авч эс ургуулсан 6 үүртэй хавтанд хийгээд 37°C-ийн дулаан тогтоогуурт 30 минут тавьж вирусийг шингээнэ. Дээрх хугацааны дараа 2 мл трипсин агуулсан ийлдэсгүй D-MEM орчноос хийж, 37°C-ийн дулаантай CO₂ 5%-тай термостатад тавьсан [15]. Ингээд өдөр бүр эсийн эмгэгшилтийг микроскопоор дурандаж 6-7 хоногт нь вируст шингэнийг хураан авсан. Хураан авсан вируст шингэн вирусн таньцыг шалгахдаа дахин цус наалдуулах урвалыг ашигласан[6].

Вируст шингэнийг идэвхгүйжүүлэх

Өндөр таньц бүхий эсийн эмгэгшсэн шингэнийг идэвхгүйжүүлэх бодис болох 2-Bromoethylamine Hydrobromide-оор 0.01 M-иар хольж, 37°C-ийн дулаанд тавьж, 0, 2, 4, 6, 8, 24 гэсэн тодорхой цагуудад хураан авна. Хураан авах үедээ нийт эзэлхүүнээсээ 10 дахин багаар бодож sodium thiosulfate нэмж бодисын үйлчлэлийг зогсоосон. Идэвхгүйжүүлсэн шингэнээс PHX ялгаж, БХ-ПГУ-аар хэд дэхь цаг дээрээ бүрэн идэвхгүйжснийг тодорхойлсон. Мөн эдгээр цагуудад хураан авсан шингэнийг тус бүрд нь 24 үүрт хавтанд ургуулсан MDCK эсэд дээрх арга зүйн дагуу халдааж, тус бүрд хураан авч дахин PHX ялгаж, БХ-ПГУ-аар бүрэн идэвхгүйжснийг шалгасан. Энэ идэвхгүйжүүлэх туршилтыг 3 удаа давтан хийсэн [7].

Table 1

RT-PCR results of virus inactivation

(Bromo ethylamine hydrobromid)	Идэвхгүйжүүлсэн цаг	Идэвхгүйжүүлсний дараа шалгасан дүн
		БХ-ПГУ
0,01 M+ Sodium Thiosulphate	0 цаг	+
	2 цаг	?
	4 цаг	?
	6 цаг	?
	8 цаг	?
	24 цаг	?

Вакцины загвар бэлтгэх

Вакцины загвар бэлтгэхдээ бүрэн идэвхгүйжсэн вируст шингэнийг MONTANIDE ISA 206 адьювант (хүчлүүр) бодистой 1:1 харьцаатай

хольж вакцины загварыг гарган авсан [8]. Гарган авсан вакцины загварын ариун чанар, тогтвортой байдал, зуурамтгай байдал, уусамтгай байдал, идэвхит чанарыг шалгасан

Судалгааны үр дүн

Цус наалдуулах урвалын үр дүн

Төв, Хэнтий, Дундговь, Ховд аймгуудаас цуглуулсан 161 адуу, тэмээний хамрын арчдсанд боловсруулалт хийж, цус наалдуулах урвалаар

шалгав. Урвалын үр дүнгээр дээрх аймгуудад адууны томуугийн өвчний эсрэгтөрөгч илрүүлэлтийг хүснэгтээр харуулав (хүснэгт 2)

Table 2.

Results of HA of horse sera

Дээж цуглуулсан аймаг	Хамрагдсан адууны тоо	Эерэг дээжний тоо	Хувь
Төв	43	6	3,7%
Хэнтий	39	3	1,8%
Дундговь	56	6	3,7%
Ховд	23	0	0%
Нийт	161	15	9.3%

Эсийн эмгэгшлийг тодорхойлсон дүн

Эсийн эмгэгшлийг 24 цаг тутам гэрлийн микроскопоор харж, 5-7 хоногийн турш халдвар хийгээгүй эрүүл эстэй харьцуулав Халдвар хийсэн эс нь адууны томуугийн вирусын өвөрмөц эсийн эмгэгшил болох хэлбэр, хэмжээ

өөрчлөгдөж том жижиг болох, эмгэгшсэн эсүүд савны хананаас ховхорч тэжээлт орчинд хөвөх зэргээр эмгэгшил үүсгэж байлаа. Хяналтын эсэд эдгээрээс аль ч өөрчлөлт илрээгүй, эсүүд савны хананд наалдсан, хэлбэр, хэмжээ алдагдаагүй байлаа (зураг 1).

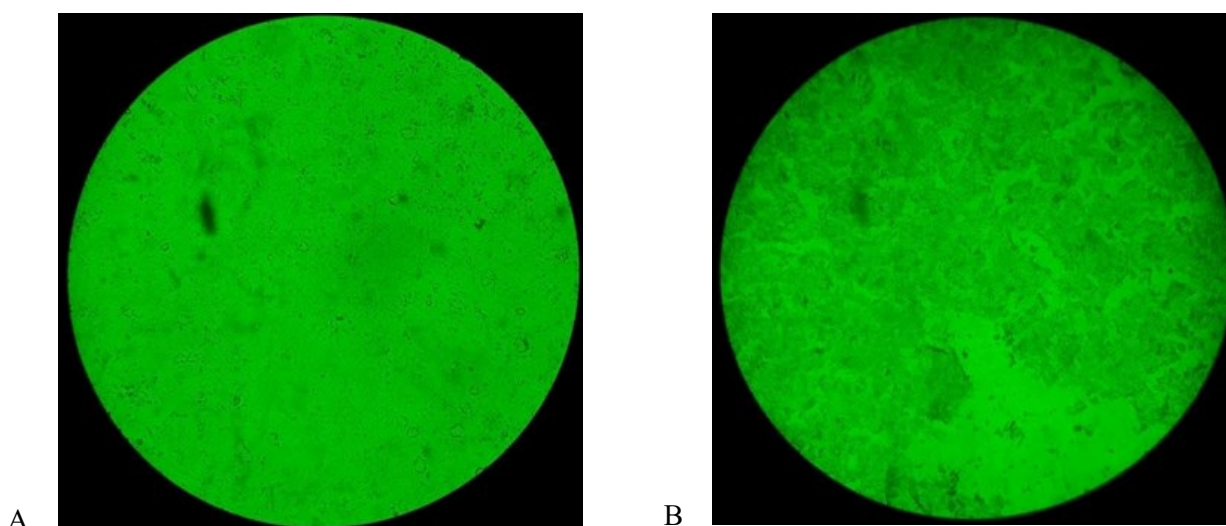


Figure 1. MDCK cell culture infected (A) and mock-infected (B)

Вирус идэвхгүйжүүлсэн үр дүн:

Bromoethylamine Hydrobromide-ийг NaOH-д уусган идэвхгүйжүүлж, 0, 2, 4, 6, 8, 24 цагуудад хураан авч sodium Thiosulfate уусмалаар идэвхгүйжүүлэгч бодисын үйлчлэлийг зогсоосны дараа РНХ ялгаж БХ-ПГУ-аар шалгасан. Мөн энэхүү идэвхгүйжүүлсэн

шингэнээс дахин эсэд халдааж, эсийн шингэнээс мөн адил РНХ ялгаж, БХ-ПГУ-аар шалгахад 8 дахь цаг дээрээ бүрэн идэвхгүйжиж байсан. Энэхүү туршилтыг 3 удаагийн давтамжтай хийсэн ба туршилтаар бүгд 8 дахь цаг дээрээ бүрэн идэвхгүйжэв (зураг.2).

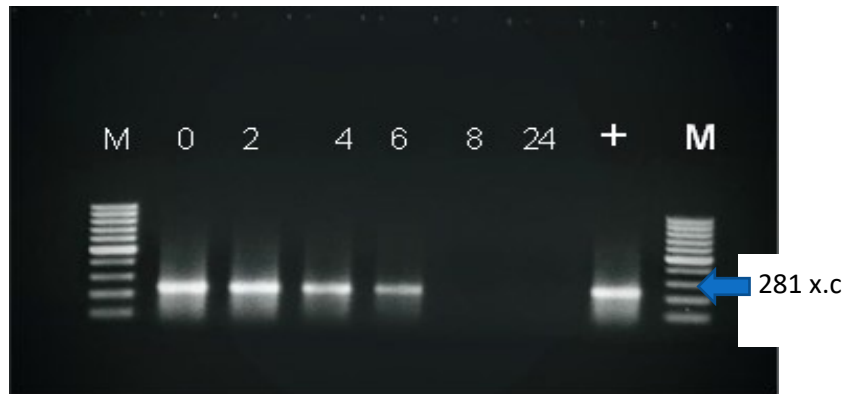


Figure 2. RT-PCR result of inactivated virus after inoculation into the cell culture (0, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 hours after inoculation)
+ Positive control, M- 100bp size marker

Вакцины загвар бэлтгэсэн дүн:

Вакцины загвар бэлтгэхэдээ бүрэн идэвхгүйжсэн вируст шингэнийг MONTANIDE ISA 206 адьювант (хүчлүүр) бодистой 1:1 харьцаатай хольж вакцины загварыг бэлтгэсэн. Вакцины загварыг нүдээр харахад цайвар ягаан өнгөтэй, ямар нэгэн хольцгүй харагдаж байсан.

Вакцины загварын тодорхой үзүүлэлтүүдийг шалгасан дүн:

Вакцины загварын ариун чанар, тогтвортой байдал, зуурамтгай байдал, хоруу чанар, идэвхит чанарыг шалган үзсэн. Эдгээр үзүүлэлтүүдийг шалгахад вакцинд тавигдах шаардлагад нийцэж байна.

Вакцины ариун байдлыг шалгасан дүн:

Вакцины загварыг мах пептоны шөл болон агарт суулгаж ариун байдлыг нь шалгасан. 7-14 хоног ажиглахад ямар нэгэн нян, мөөгөнцөр, бактерийн ургалт илрэхгүй.

Вакцины загварын тогтвортой байдлыг галгасан дүн:

Вакцины загвараас 3000 грм эргэлтэнд 15 минут центрифугдэхэд тос, ус ялгарч ямар нэгэн давхрага үүсэхгүй байгаа нь тогтвортой байгааг харуулж байна.

Вакцины загварын урсамтгай байдлыг шалгасан дүн:

1 мл-ийн пепитикээр 1 мл-ийг соруулж өөрөөр нь доош гоожуулж 0,4 мл болтол урсан гарах хугацааг харна. Вакцины тавигдах шаардлага нь 15 сек-ээс доош бол шингэн, 15-30 сек өтгөн, 30 сек-ээс дээш бол хэт өтгөн болно. Бидний бэлтгэсэн вакцины загвар нь 19 секундэд гоожсон ба хэт шингэн биш, хэт өтгөн биш шаардлагад нийцэж байна.

Вакцины загварын уусамтгай байдлыг шалгасан дүн: соруулан авч петрийн аягатай хүйтэн ус руу хийж үзэхэд үүл мэт жигд тархаж байсан (зураг 3)



Figure 3. Vaccine model viscosity

Вакцины хорон чанарыг шалгасан дүн:

Нийт 5 толгой 31-33 гр жинтэй лабораторийн цагаан хулгана авч 3 хулганад вакцины загвараас 0,2 мл-ээр хэвлийн хөндийн арьсан дор, 2 хулганыг 0,2 мл PBS хэвлийн хөндийн арьсан дор тариад 7 хоног ажигласан. Энэхүү хугацаанд

ямар нэгэн эмнэл зүйн шинж тэмдэг илрээгүй, тарьсан газар эмзэглэл, улайлт илрээгүй. Биеийн халуун сөрөг хяналтын хулганатай харьцуулахад 0,5-0,8⁰C-ээр нэмэгдэж, үхэл хорогдол байгаагүй (Зураг 4).

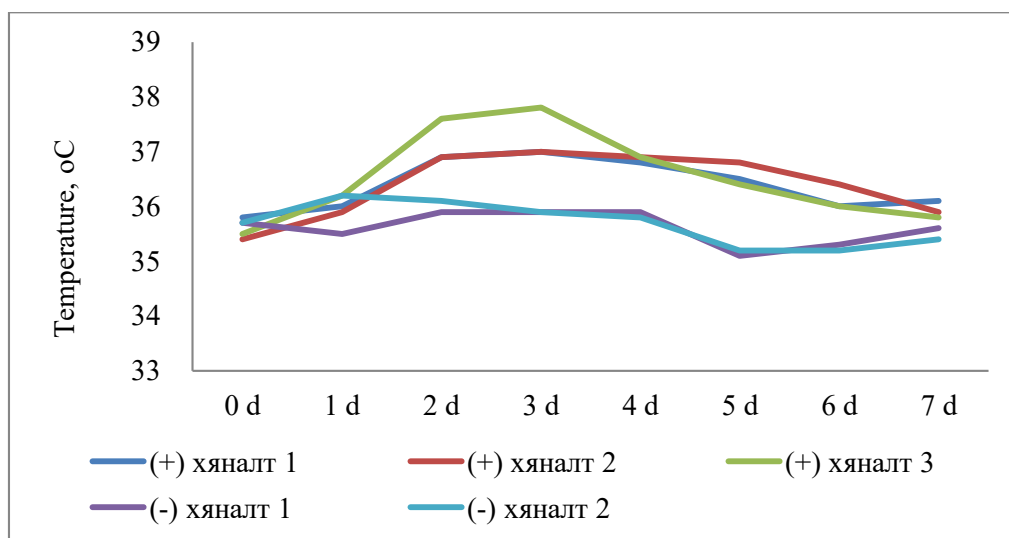


Figure 4. Vaccine model toxicity. Vaccine model was injected into experimental group mice and body temperature has been compared with mock infected group mice. All mice of the experimental group were survived but body temperature has been increased 0.8-1.2C.

Вакцины загварын идэвхийг шалгасан дүн:

Вакцины идэвхийг шалгахад 3 адуунд вакцины загвараас тарьж, 2 адуунд худалдааны вакцин (Bioequi) 5 мл-ээр тус тус тарьсан бөгөөд адуу бүрээс тарихын өмнө болон тарьсны дараа сар бүр цус авч цусанд үүссэн эсрэгбиеийг ЦНСУ-аар шинжилсэн (хүснэгт 2). Хэрэв урвалын таныц

1:16 -аас доошгүй бол вакцин идэвхтэйд тооцно. Туршилтын дүнгээс үзвэл вакцин таригдсан адуу нь анхны тарилтын дараа 30 хоногтоо 1.64-1:128 таныцтай дархлаа тогтсон бөгөөд 60 дахь 1:128-1:256 таныцтай болж хадгалагдан тэр нь аажмаар буурч 180 хоногтоо 1:16-1:32 таныцтай болсон.

Table 3

Results of HA

Вакциндсан адуу	0 сар	1 сар	2 сар	3 сар	4 сар	5 сар	6 сар
№1 Вакцин (+)	1:4	1:64	1:128	1:64	1:64	1:32	1:16
№2 Вакцин (+)	1:4	1:128	1:128	1:64	1:32	1:132	1:16
№3 Вакцин (+)	1:4	1:64	1:128	1:128	1:64	1:32	1:16
№4 Bioequi (+)	1:4	1:64	1:128	1:64	1:64	1:32	1:16
№5 Bioequi (+)	1:8	1:128	1:256	1:256	1:128	1:64	1:32

Шүүн хэлэлцэхүй

Томуугийн вирусын үүсгэгчийн эсрэгтөрөгчийн хувьсамтгай байдалтай холбоотой аль ч улс оронд хүн мал амьтны томуу өвчний судалгааг тасралтгүй, өөр хоорондоо нягт холбоотой явуулж гарсан үр дүнгээ харилцан солилцож,

нэгдсэн дүгнэлт гаргаж, дараагийн шинэ эпизоот хаана, хэзээ гарч болох, түүний тархалтын хүрээ хязгаар нь ямар байх, яаж урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээ авч хэрэгжүүлэх зэрэг асуудлыг боловсруулахад орон бүрт явуулж байгаа энэ

талын судалгааны ажил чухал ач холбогдолтой байдаг [11]. Энэ талаас нь авч үзвэл бидний энэ удаагийн судалгааны ажил өөрийн оронд төдийгүй томуу судлалын асуудалд бага ч гэсэн нэмэр болно гэж үзэж байна.

Томуугийн шинэ эпизоот бүрийн дараа бололцоотой бол оношлох, сэргийлэх бэлдмэлийн технологид эпизоот омог оруулж байх нь чухал байдаг [12]. Үүний нэг жишээ нь 1992 онд Гонконгод болсон олон улсын морин уралдааны бооцоот тэмцээний үед томуугийн шинэ дэгдэлт гарсан боловч Европын голдуу морьд томуугийн А хэв шинжийн хоёр үүсгэгчээр бэлдсэн вакцин таригдсан боловч бүгд өвчилсөн. Энэ үүсгэгч нь хэдий H7N7 боловч эсрэгтөрөгчийн хувьсамж нь стандарт омгоосоо эрс өөр байсныг харуулж байна [13]. Манай оронд хэрэглэж байгаа вакцин нь томуугийн үүсгэгчийг үр хөврөлт өндгөнд өсгөвөрлөж, усан суурьт хүчлүүр ашигласан байдаг. Вакцины технологийг олон улсын шаардлага, өвчний гаралт тархалт, үүсгэгчийн онцлог, үйлдвэрлэлийн ажиллагаа зэрэгт үндэслэн байнга шинэчлэн боловсруулж байх шаардлагатай.

Дүгнэлт

Бидний бэлтгэсэн вакцины загвар нь мэдрэмтгий адуунд тарихад богино хугацаанд шимэгддэг, хорон чанаргүй, дархлаа төрүүлэх идэвхтэй,

Талархал:

Энэхүү судалгааны ажил нь ШУТТ-ын ШУУЗ-2007/13 гэрээт төслийн хүрээнд хийгдсэн бөгөөд уг судалгааны ажлыг санхүүжүүлсэн БШУЯ болон ШУТС-д зохиогчдын зүгээс гүнээ талархаж байна. Мөн энэхүү судалгааны ажлыг

Ашигласан бүтээлийн жагсаалт:

- [1] Yerbol Burashev, Vitaliy Stochkov, Kulyaisan Sultankulova, Mukhit Orynbayev, Abylay Sansyzybay, Nurlan Sandybayev, Sergazy Nurabayev, Irina Savitskaya, Daniel L.Rock, Edan R. Tulman 2018. Complete Genome Sequencing of Two Equine Influenza A(H3N8) Virus Strains Isolated in Kazakhstan. *Genome Announc* 6:e00574-18.
- [2] Ж:Бэх-Очир, Б.Пүрэвцэрэн” Адууны томууг оношлох, сэргийлэх бэлдмэлийн технологийг боловсронгуй болгох нь”

Иймээс бид энэ удаагийн судалгааны ажлаар вакцины стандарт омог болон одоо эргэлдэж байгаа омгуудыг эсрэгтөрөгчийн шинжийг нь судалж шинэ омог оруулан, вакцины технологийн загварыг өөрчилж хийсэн. Монгол орны 5 аймгийн адуун сүрэгт томуугийн вирусын хөдлөл зүй, удамшил хувьсал, өөрчлөлтийг судалж адууны томуугийн H3N8 вирус эргэлдэж байгааг тогтоолоо. Бидний хийсэн судалгааны үр дүнгээс харахад дээрх 5 аймгаас гадна улсын баяр наадмын үеэр олон газраас цугласан морьдоос өвчний сэжигтэй 161 адуунаас арчдас цуглуулж шинжлэхэд 15 (9.3%) дээж эерэг гарч байгаа нь адууны томуу өвчин нь Монгол оронд халдварлалт байгааг харуулж байна.

Адууны томуугийн вакцин таригдсан адуунаас тарихын өмнө болон дараа 30, 60, 90, 120, 150, 180 дахь хоногт цус авч ийлдсийг ялган вакцин тарихын өмнөх адуунд байж болох томуугийн эсрэг дархлаа болон тарьсны дараа хэд хоногоос дархлаа тогтож буй, уг дархлаа хэдий хэр хугацаагаар хадгалагдаж байгааг болон худалдааны вакцинтай харьцуулан ЦНСУ-аар шалгав. Туршилтын дүнгээс үзвэл вакцин загвар нь 6 сарын дараа 1:16-1:32 таньцтай байгаа нь вакцин идэвхитэй байгааг харуулж байна.


дархлааны үргэлжлэх хугацаа урт, шинж чанараа тогтвортой хадгалж байгаа нь вакцинд тавигдах шаардлагад нийцэж байна.

гүйцэтгэхэд зааж чиглүүлж өгсөн Вирус судлалын лабораторийн эрхлэгч Б.Болдбаатар болон хамтран гүйцэтгэсэн лабораторийн хамт олондоо талархал илэрхийлье.

- сэдэвт ажлын 2000 онд гүйцэтгэсэн ШУТТ-ын төслийн тайлан
- [3] Myagmarsukh Yondon, Gary L. Heil, John P. Burks, Batsukh Zayat, Thomas B. Waltzek, Bekh-Ochir Jamiyan, Pamela P. McKenzie, Whitney S. Krueger, John A. Friary, Gregory C. Gray 2013. Isolation and characterization of H3N8 equine influenza A virus associated with the 2011 epizootic in Mongolia. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 7(5), 659-665.

- [4] Б.Балжидмаа., 2019. “Нүүдлийн шувуудын томуугийн вирусын судалгаа” магистрийн зэрэг горилсон бүтээл
- [5] Ж.Бэх-Очир, Т.Буяннэмэх “Мал амьтны томуу ба шувууны ньюкастлийн өвчин” 2007
- [6] Ц.Базарцэрэн, Б.Пүрэвцэрэн, З.Галмандах, Э.Уянга, Д.Эрдэнэчимэг “Мал амьтны вируст өвчин” 2008. х 12-34
- [7] Sarachai C. et al “Avian influenza virus (H5N1) inactivation by binary ethylenimine” 6/ Thai. j. Vet. Med. 40(1):41-46
- [8] Ё.Мягмарсүх., 2016. “адууны томуу өвчний тандан судалгаа, үүсгэгчийг ялган авч тодорхойлсон нь” магистрийн зэрэг горилсон бүтээл
- [9] Ё.Энхмандах. 2012., “тахианы Ньюкастль өвчний идэьхгүйжүүлсэн вакцины загвар бэлтгэн туршсан дүн” магистрийн зэрэг горилсон бүтээл
- [10] Manabu Nemoto, Takashi Yamanaka, Hiroshi Bannai, Koji Tsujimura, Hiroshi Virus Strain Used as Vaccine Strains in Japan. Genome Announc 6:e00172-18.
- [11] OIE Terrestrial Manual 2016, Chapter 2.5.7
- [12] Alfonso Clavijo, Dina B, Tresnan, Rica Jolie, En-Min Zhou 2002. Comparison of embryonated chicken eggs with MDCK cell culture for the isolation of swine influenza virus, 66(2):117-121
- [13] Chatchai Sarachai, Jiroj Sasipreeyajan, Niwat Chansiripornchai, 2010. Avian influenza virus (H5N1) inactivation by binary ethylenimine. Thai J.Vet.Med. 40(1):41-46
- [14] Alfonso Clavijo, Dina B, Tresnan, Rica Jolie, En-Min Zhou 2002. Comparison of embryonated chicken eggs with MDCK cell culture for the isolation of swine influenza virus, 66(2):117-121

Cell culture model vaccine trial against equine influenza

Enkhmandakh Yondonjamts¹, Erdenechimeg Dashzevge¹, Batmagnai Enkhbaatar¹, Ariunbold Gantulga¹, Odonchimeg Myagmarsuren¹, Numsuren Tsend-Ayuush², Usukhgerel Sukhbaatar², Boldbaatar Bazartseren^{1*} 

¹Laboratory of Virology, Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences, Zaisan 17024, Ulaanbaatar, Mongolia

²State Veterinary Drug Quality Control Laboratory, 210131, Ulaanbaatar, Mongolia

*Corresponding author: boldoomglvet@gmail.com

 - <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>

Received: 02.10.2020

Revised: 05.01.2021

Accepted: 10.02.2021

Abstract

The main goal of our study was to develop a cell culture based vaccine model for equine influenza virus and within the purpose, a total of 161 equine nasal swabs were collected to detect the equine influenza virus and 15 (9.3%) samples were tested as positive with haemagglutination test (HA assay). From these positive swabs, equine influenza virus (EIV) was inoculated in Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) cell line. The infected cell-culture fluid was inactivated with 2-Bromoethylamine Hydrobromide and mixed with MONTANIDE ISA 206 oil-based adjuvant (acid) at ratio 1: 1. The purity, toxicity, viscosity, stability, and activity of the newly prepared vaccine model was analyzed. According to our experimental results, the vaccinated horse developed an antibody titer against equine influenza 1:64-1: 128 at 30 days after the first injection, and the titer was increased at 1: 128-1: 256 at 60 days after the first injection and gradually decreased to 1: 16-1:32 at 180 days. These results showed that the vaccine model is active for 6 months.

Key words: Influenza virus, MDCK cell, vaccine