

Изобретение относится к медицине, а именно к медицинской вирусологии, и может быть использовано в научных исследованиях для повышения биологической активности вирусов гриппа и изучения коррелирующих с ней признаков, а также в научно-практической работе для получения высокорепродуктивных вакцинных штаммов.

Известен способ повышения инфекционной активности вируса гриппа путем внесения в среду культивирования вируса (культура ткани) протеолитического фермента трипсина [1]. Однако этот способ не позволяет повышать иммуногенную активность вирусов. Введение трипсина создает дополнительную антигенную нагрузку на организм, его парентеральное введение может вызывать аллергические реакции, повышение температуры и противопоказано при ряде заболеваний. В работе В.И.Вотякова с соавт. [2] показана возможность получения ремантадинзависимых вариантов вируса гриппа в культуре ткани, что не может иметь практического значения.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования штаммов вируса гриппа (предназначенных для иммунизации животных и получения вакцинных штаммов), у которых путем предварительного пассирования в присутствии сублетальной дозы противовирусного химиопрепарата обеспечивается повышение инфекционных титров и увеличение их иммуногенной активности; за счет этого проявляется возможность повышения эффективности вакцин и получения высокотитражных иммунных сывороток.

Поставленная задача решается тем, что штаммы вируса гриппа, пассируемые в биологическом материале в присутствии противовирусного препарата, согласно изобретению 2-3-кратно пассируются в куриных эмбрионах в присутствии ремантадина в дозе 2 мг на эмбрион (для вирусов гриппа А) или адапромина в дозе 5 мг на эмбрион (для вирусов гриппа В).

Способ осуществляется следующим образом.

В куриные эмбрионы 10-дневного возраста вводят ремантадин или адапромин из расчета 200 мкг/мл (2 мг на эмбрион) ремантадина для вирусов гриппа А или 500 мкг/мл (5 мг на эмбрион) адапромина для вирусов гриппа В. Эмбрионы после этого выдерживают в термостате в течение 1,5-2 ч, затем вводят вирусы гриппа и инкубируют в термостате в течение 48-72 ч в зависимости от типа вируса. Проводят 2 пассажа с интервалом 3 дня. Инфекционный титр определяют методом предельных разведений и выражают в Ig ЭИД₅₀.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Для повышения биологической активности вируса гриппа в куриный эмбрион вводится ремантадин для вируса гриппа типа А или адапромин для вируса гриппа типа В, через 1,5-2 ч проводят заражение эмбрионов вирусами - по 0,2 мл десятикратных разведений вирусосодержащей жидкости. Инкубацию проводят в течение 48 ч при температуре 35,5° для вирусов гриппа типа А и 72 ч при температуре 33° для вирусов гриппа типа В. Полученную вирусосодержащую жидкость титруют на куриных эмбрионах методом предельных разведений и определяют инфекционный титр в Ig ЭИД₅₀. Параллельно проводится титрование вирусов, пассированных без добавления химиопрепаратов. Средние данные, полученные после 3 опытов, представлены в таблице. Кроме эталонных вирусов, исследовались экспериментально полученные варианты с различной иммуногенной активностью (4/II - Хабаровск, 5/II - Виктория, 5/II-В/Ленинград).

После 2 пассажей в присутствии химиопрепаратов (ремантадина или адапромина) инфекционные титры всех изученных вирусов типа А (H1N1 и H3N2) и типа В возрастают от 1,5 до 4,0 Ig ЭИД₅₀.

Пример 2. Полученными после 2 пассажей в присутствии химиопрепаратов вирусами, а также исходными штаммами проводят внутрибрюшинную иммунизацию белых мышей. Животных иммунизируют под эфирным наркозом по 0,3 мл вирусами с одинаковым гемагглютинирующим титром 1:64. Титры антигеммагглютининов в сыворотках крови животных исследуют через 21 день после иммунизации. У вирусов, прошедших 2 пассажа в присутствии химиопрепаратов, иммуногенная активность превышает иммуногенность исходных штаммов в 1,89-3,12 раза.

Таким образом, пассирование вирусов гриппа в присутствии химиопрепаратов можно применять для получения высокоиммунных сывороток лабораторных животных, используемых при проведении научных исследований, а также при подготовке вакцинных штаммов для повышения их инфекционной и иммуногенной активности.

Влияние культивирования вирусов в присутствии химиопрепаратов на их инфекционность

Вирусы гриппа	Инфекционные титры в Ig ЭИД ₅₀		
	Пассирование без химиопрепарата	Пассирование с химиопрепаратом (2 пассажа)	p
А/Прага/1/84(H1N1)	6,23 ± 0,45	8,00 ± 0,49	< 0,02
А/Хабар./74/77(H1N1)	5,23 ± 0,48	7,77 ± 0,49	< 0,001
4/1-Хабар. (H1N1)	4,00 ± 0,45	8,00 ± 0,45	< 0,001
А/Викт./35/72(H3N2)	6,00 ± 0,36	7,33 ± 0,48	< 0,02
5/П-Викт. (H3N2)	5,77 ± 0,36	7,50 ± 0,32	< 0,001
А/Филип. /2/82/(H3N2)	5,50 ± 0,41	7,50 ± 0,32	< 0,001
В/Ленинград /17/86	4,77 ± 0,45	7,00 ± 0,48	< 0,001
5/1-В/ Ленингр. /17/86	5,33 ± 0,45	7,00 ± 0,36	< 0,001