

Винахід, що передбачається, відноситься до ветеринарної медицини, а саме до визначення ефективності вакцинації та імунітету проти класичної чуми свиней (КЧС).

Розробка способів визначення ефективності вакцинації та напруженості імунітету проти класичної чуми свиней (КЧС) є однією з важливих задач, що має наукове та практичне значення.

Існує спосіб визначення імуногенності противочумних вакцин (SU 1818348 от 29.10.1990, кл. C12Q1/00). За цим способом виключена можливість роботи з вірулентним штамом чумного мікробу.

Для профілактики КЧС застосовують вірус вакцини (ЛК-М, АСВ) разом з загальними протиепізоотичними заходами. Вакцинують тільки клінічно здорових тварин. Якість вакцинації контролюють дослідженням сироваток крові свиней, культивуванням перещеплюваної культури клітин нирки порося (РК-15), підтримкою лабораторного авірулентного вірусу КЧС, визначенням його інфекційної активності. Дослідженню підлягають 10-20 проб від кожної статевікової групи ("Методические указания по определению эффективности вакцинации и иммунитета против классической чумы свиней", утв. ГУВ МСВ РФ 04.08.1992г.) - це рішення може бути прототипом, але недоліком його є те, що в ньому використовується російський штам.

Ефективність вакцинації та напруженість імунітету проти класичної чуми свиней (КЧС) визначають шляхом серологічного дослідження свиноголовія на підставі результатів виявлення та визначення рівня (титру) віруснейтралізуючих антитіл КЧС у реакції нейтралізації флуоресціюючих мікробляшок (РНФБ), незалежно від типу вакцини, що використовують, віку тварин та схеми вакцинації.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб визначення ефективності вакцинації та напруженості імунітету проти КЧС, що складається з відбору сироватки крові, культивування перещеплюваної культури клітин нирки порося (РК-15), підтримки лабораторного авірулентного вірусу КЧС, визначення його інфекційної активності шляхом постановки реакції нейтралізації з використанням вірусу UA та оцінки рівня віруснейтралізуючих антитіл, щоб забезпечити визначення ефективності вакцинації та напруженості імунітету проти КЧС.

Спосіб виконують наступними етапами:

Відбір проб крові, одержання сироваток та їх транспортування (у разі транспортування у сироватки додають антибіотики), культивування перещеплюваних клітин нирки порося. Підтримка вакцинного вірусу КЧС штаму в культурі клітин РК-15, визначення інфекційної активності вірусу, визначення та титрування віруснейтралізуючих антитіл КЧС в реакції нейтралізуючих флуоресціюючих мікробляшок.

Аналіз технічних рішень в галузі вірусології дозволяє зробити висновок, що заявляемый спосіб визначення ефективності вакцинації та напруженості імунітету проти класичної чуми свиней (КЧС) відповідає критерію "новизна".

Приклад 1.

Культивування перещеплюваної культури клітин нирки порося (РК-15). Роботу проводили з культурою клітин в ізольованому стерильному приміщенні. Суспензію клітин готували на мінімальному середовищі Ігла.

З сироваткою ВРХ (великої рогатої худоби) - ростове середовище. Концентрація клітин становила  $10^{5,0}$  мл. Суспензію клітин висівали у три 100мл матраси по 15мл в кожному. Моношар клітин формувався на 2-3 добу, культивуванням при  $37^{\circ}\text{C}$ , що обумовлює кількість пересівів. Для пересіву ростове середовище вилучали із матрасів, вносили суміш розчинів версену (0,02%) з трипсином (0,25%) в співвідношенні 9:1, що підігрівали до  $36^{\circ}\text{C}$  та розмішували у термостаті на 5-10 хвилин при  $37^{\circ}\text{C}$ . Суспензію клітин ретельно змішували та підраховували концентрацію клітин в камері Горяєва. До необхідної концентрації ( $10^{5,0}$ мл) суспензію клітин розводили ростовим середовищем.

Приклад 2.

Визначення інфекційної активності вірусу. Культуральну рідину, що містить вірус, титрували від  $10^{-1}$  до  $10^{-6}$  на середовищах "Ерла" або "Хенкса", вносили в об'єм 0,5мл у пробірки з культурою клітин РК-15, при цьому ростове середовище попередньо вилучали. На кожне розведення матеріалу брали по 4 пробірки з повним моношаром.

Після 2-годинного контакту при  $37^{\circ}\text{C}$ , вміст пробірки вилучали та вносили по 2 мл підтримуючого середовища та інкубували 3 доби при  $37^{\circ}\text{C}$ . За титр вірусу КЧС визначали найбільше його розведення, в якому спостерігали наявність флуоресціюючих мікробляшок. Розраховують титр по методу "Ріда-Менча".

Приклад 3.

Облік результатів серологічного обстеження.

На підставі результатів перевірки сироваток проб крові свиней, що були відібрані по схемі, визначали відсоток стійких тварин до зараження польовим вірусом КЧС за віковими групами. Тварини, що мали титр віруснейтралізуючих антитіл у сироватці крові 1:16 та нижче враховували як чутливі до зараження.

При наявності рівня віруснейтралізуючих антитіл 1:32-1:512 у 80% та вище тварин, що досліджували, вакцинацію обліковували як позитивну, а вікову групу тварин, яка має напружений імунітет.

При рівні віруснейтралізуючих антитіл 1:32-1:512 у 50-79% тварин, що досліджували, ефективність вакцинації враховували як незадовільну, а ця вікова група має відносно напружений груповий імунітет.

У разі, коли встановлений рівень віруснейтралізуючих антитіл 1:32-1:512 у 49% (і нижче) досліджених тварин ефективність вакцинації вважали незадовільною, а цю вікову групу чутливою до зараження польовим вірусом КЧС.

Цей спосіб є чутливим та якісним при визначенні ефективності вакцинації та напруженості імунітету проти класичної чуми свиней.