



УКРАЇНА

(19) UA (11) 19403 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 39/205МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ГІПЕРІМУННОЇ АНТИРАБІЧНОЇ СИРОВАТКИ

1

2

(21) u200606787

(22) 19.06.2006

(24) 15.12.2006

(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

(72) Бабкін Михайло Валерійович, Стегній Борис Тимофійович, Ничик Сергій Анатолійович, Прохортова Олена Валентинівна, Кучерявенко Роман Олексійович, Годовський Олексій В'ячеславович

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"

(57) Спосіб отримання гіперімунної антирабічної сироватки, що включає 5 разову імунізацію овець антигеном вірусу сказу - інактивованим 7 % тканинним (шт. CVS), який **відрізняється** тим, що використовують додатково інактивованій очищений культуральний штам "Щелково-51С", імунізують в 5-4-5 точки тіла тварини з інтервалом введення 14 діб внутрішньошкірно та внутрішньом'язово, використовують ад'юванти та аеросил.

Корисна модель відноситься до ветеринарної вірусології та біотехнології, використовується для виготовлення діагностичного антирабічного люмінесцентного імуноглобуліну.

Лабораторна діагностика сказу базується на виявленні антигену вірусу сказу в мозку загинувших тварин за допомогою реакції імунофлуоресценції, вірогідність результатів якої залежить від активності та специфічності люмінесцентного антирабічного антигену. Антигенспецифічне зв'язування люмінесцентного глобуліну корелює з його преципітуючою активністю, тому загальноприйнятим методом оцінки специфічної сироватки, з якої одержують люмінесцентний глобулін, є реакція преципітації [G. Gonson, 1991. Antibodies. A Practical approach. V II. - p.270]

Крім цього, велике значення має спосіб введення антигену. Встановлено, що найбільш виражений імунітет спостерігають при імунізації тварин внутрішньошкірно і в меншій мірі проявляється при введенні внутрішньом'язово та ще менше при підшкірній імунізації [Іванов В.С., Самуйленко А.Я., Титеричев В.И., Іванов И.В. Проявление иммунной потенции антирабической вакцины из штамма "Щелково-51" в зависимости от места введения // Тезисы конф. Щелково. - 2000, с.33-36].

Прототипом рішення, що заявляється, є спосіб отримання гіперімунної антирабічної сироватки [Патент России №2196607, кл. А61К 39/205." Спосіб получения гипериммунной антирабической сироватки." Заявлено 2001.03.30]. Принцип способу полягає в 5 разовій імунізації овець з інтерва-

лом введення 14 діб 5% тканинного інактивованого вірусу сказу (шт. CVS) з ад'ювантами (повний, неповний ад'ювант Фрейнда, гідрооксид алюмінію) в 3-4-2 точки тіла тварини внутрішньошкірно та внутрішньом'язово, що дозволяє отримати антирабічну сироватку з титрами преципітуючих анти-тіл 1:16-1:3 2.Недоліком цього рішення є неможливість отримання специфічної активної антирабічної сироватки для використання при одержуванні діагностичного люмінесцентного імуноглобуліну.

В основу корисної моделі поставлено задачу - розробити спосіб отримання гіперімунної антирабічної сироватки, що включає 5 разову імунізацію овець антигеном вірусу сказу-інактивованим 7% тканинним (шт-CVS) шляхом використання додатково інактивованого очищеного культурального штаму "Щелково-51С", імунізації в 5-4-5 точку тіла тварини з інтервалом введення 14 діб внутрішньошкірно та внутрішньом'язово, використання ад'ювантів та аеросилу, щоб забезпечити одержання специфічної та активної антирабічної сироватки для використання її у діагностичних тестах.

Спосіб здійснюється шляхом 5-разової імунізації овець двома антигенами вірусу сказу - інактивованим 7% тканинним (шт. CVS) та інактивованим, очищеним культуральним штамом "Щелково-51 С". Імунізацію проводять в 5-4-5 точок тіла тварини з інтервалом 14 діб внутрішньошкірно та внутрішньом'язово з використанням ад'ювантів та аеросилу. Спосіб дозволяє одержати антирабічну сироватку крові овець з високим титром преципі-

(13) U
19403
(11)
UA (19)

туючих антитіл 1:32 і більше.

Порівняльний аналіз з прототипом дозволяє зробити висновок про відсутність ознак, що схожі із суттєвими відмінними ознаками способу, що відповідає критерію "новизна"

Приклад 1. Імунізацію овець проводили комбінацією тканинного та культурального антигенів вірусу сказу. Тканинний антиген вірусу сказу представляє 7% суспензію мозку вівці, яка інфікована вірусом сказу, референс-штамом CVS, який інактивований бета-пропіолактоном. Інактивацію вірусу здійснювали при кінцевій концентрації бета-пропіолактону 0,02-0,03% протягом 2 годин при температурі 4°C.

Культуральний антиген вірусу сказу представляє вірусно-культуральну біомасу, яка одержана культивуванням вірусу сказу (шт.. "Щелково-51С") в перещеплюваній культурі клітин ВНК 21 Clone 13/04 концентрований, очищений та інактивований бета-пропіолактоном. Антиген, який використовували для внутришньошкірного введення, емульгі-

рували в рівному співвідношенні з повним ад'ювантом Фрейнда в подальшому з неповним ад'ювантом Фрейнда. Для внутришньом'язового введення використовували культуральний антиген вірусу сказу, який емульгірували з 0,25% аеросілу протягом 18 годин при 4°C. Схема імунізації представлена в таблиці.

Приклад 2. Через 14 діб після кожної імунізації відбирали кров у овець і досліджували в реакції дифузійної преципітації. Тварини, які не давали імунної відповіді через 14 діб після першої імунізації виключались з циклу імунізації. Після завершення імунізації сироватку крові вівців досліджували в реакції дифузної преципітації. Як донорів використовували тих тварин, у яких титр преципітуючих антитіл був 1:32 і вище.

Використання способу дає можливість отримати специфічну, активну антирабічну сироватку, яку можливо використовувати для одержування діагностичного люмінесцентного імуноглобуліну.

Таблиця

Схема імунізації вівців тканинним і культуральним вірусом сказу

День імунізації	Спосіб імунізації (об'єм, см ³ /кількість введення)	
	Внутришньошкірний, тканинний антиген	Внутришньом'язово, культуральний антиген
0	1/5	1/1
14	3/15	3/3
28	5/25	5/5
42	7/35	8/8
56	9/45	10/10
70	Відбір крові	