

Корисна модель відноситься до медицини, а саме імунології та вірусології, і може бути використана у виробництві препаратів для лікування і профілактики захворювань, що викликаються вірусом кліщового енцефаліту.

Відсутність вітчизняних, а також висока вартість та недостатня ефективність імпортованих виробничих імуноглобулінів проти вірусу кліщового енцефаліту (КЕ), зумовлюють необхідність розробки препарату, який задовольняв би потреби практичних установ охорони здоров'я України.

Відомі способи одержання імуноглобуліну проти вірусу кліщового енцефаліту базуються на імунізації коней або здорових донорів відповідними комерційними вакцинами [1,2,3], після чого через певний проміжок часу у них береться кров, і з плазми або сироватки цієї крові виготовляють кінцевий продукт. Ці способи характеризуються складністю, тривалістю і дороговизною через утримання тварин і використання комерційних імпортованих вакцин, наявністю можливих алергічних реакцій організму після застосування імуноглобуліну та низькою його ефективністю, оскільки вказані вакцинні препарати виготовляються із штамів вірусів, антигенне відмінних від тих, що циркулюють і викликають захворювання в Україні, через що не забезпечують в достатній мірі їх нейтралізацію.

З огляду на вищесказане, метою корисної моделі є розробка способу отримання імуноглобуліну проти вірусу кліщового енцефаліту, технологічний процес якого характеризувався б простотою і доступністю отримання сировини, меншою собівартістю та високою специфічністю по відношенню до циркулюючих в Україні штамів збудника, а отже і значною ефективністю при застосуванні.

Вирішення цього завдання досягається шляхом виділення плазми або сироватки з крові людей, одержанням з неї риваноло-етаноловим методом цільового продукту, і згідно корисної моделі включає цілеспрямований відбір в активних природних вогнищах кліщового енцефаліту осіб, перехворілих на цю інфекцію з вмістом у них в крові специфічних антитіл у титрах не нижче 1:40, визначених в реакції зв'язування комплементу (РЗК) за допомогою діагностичного, виготовленого із штаму №2288 вірусу кліщового енцефаліту, що циркулює в Україні.

Пропонований спосіб здійснювали наступним чином.

Отримання сировини для імуноглобуліну проводили шляхом скринінгових обстежень населення у активних природних вогнищах захворювання на кліщовий енцефаліт у Волинській області. Від осіб, що перехворіли на цю інфекцію і містили специфічні антитіла в титрах не нижче 1:40 в РЗК, проводився забір крові, з якої загальною вживаним методом виділяли плазму або сироватку. Фракціонування білків крові на альбуміни, альфа- і бета-глобуліни здійснювали шляхом осадження риванолом з 4, подальшим очищенням отриманого розчину гама-глобуліну від риванолу та осадженням його етанолом [4]. Вміст гама-глобуліну в пробах коливався в межах 90-92%.

Титри антитіл до вірусу КЕ в препаратах імуноглобуліну визначали в реакціях зв'язування комплементу, гальмування гемаглютинації, гальмування непрямої гемаглютинації [5], в яких використовували діагностичні ми, виготовлені із штаму №2288 вірусу кліщового енцефаліту, що циркулює в Україні [6]. Результати досліджень показали високу специфічність по відношенню до згаданих антигенів, відсутність неспецифічних реакцій в контролях і зростання титру не менше ніж у 4-8 разів у порівнянні і вихідним матеріалом.

Визначення специфічної активності імуноглобулінів проти вірусу кліщового енцефаліту проводили в реакції нейтралізації, з допомогою якої визначали 50% віруснейтралізуючий ефект імуноглобулінів та індекс нейтралізації [5]. За тест-систему слугувала культура клітин СНЕВ у вигляді одно-дводенного моношару. Для розведення суспензій вірусу та імуноглобуліну використовували середовище Ігла з 5% розчином глутаміну.

Дози імуноглобуліну проти вірусу кліщового енцефаліту, то захищає 50% клітин від цитопатичної дії вірусу, становили $10^{-2.7}-10^{-3.0}$, що відповідає розведенню 1:500-1:1000. Індекс нейтралізації імуноглобуліну становив 4,3-4,5lg, а в антилогарифмах - 19953-31623. Оскільки індекс нейтралізації понад 50 вважається позитивним, то отримані результати свідчать про високу віруснейтралізуючу активність препаратів імуноглобуліну.

Розроблений спосіб ілюструється наступними прикладами:

Приклад 1. Хвора В.Г.Л., 47 р., жителька Ратнівського району Волинської області. На підставі даних епідеміантезу, клінічних проявів та результатів дослідження парних сироваток крові діагностовано кліщовий енцефаліт. Після проведеного лікування стан хворої покращився, виписана під амбулаторне спостереження. Контрольне дослідження сироватки крові на наявність антитіл до вірусу кліщового енцефаліту проведено через 3 місяці. Титр антитіл до штаму №2288 в реакції зв'язування комплементу - 1:80, реакції гальмування гемаглютинації - 1:160, реакції гальмування непрямої гемаглютинації - 1:160. Після огляду лікаря, за згодою пацієнтки було відібрано 200мл крові, з плазми якої риваноло-етаноловим методом виготовлено 17мл імуноглобуліну. Його титр у вищевказаних реакціях відповідно становив: 1:640; 1:1280; 1:640, а індекс нейтралізації складав 4,3 lg.

Приклад 2. Хворий П.О.П., 39 р., житель Ківерцівського району Волинської області. Пройшов курс лікування від кліщового енцефаліту в 2001 році. Через рік відібрано сироватку крові для дослідження на наявність АТ. Титр антитіл до вірусу кліщового енцефаліту (штаму №2288) в реакції зв'язування комплементу - 1:40, реакції гальмування гемаглютинації 1:80, реакції гальмування непрямої гемаглютинації - 1:160. Відібрано 200мл крові, з плазми якої риваноло-етаноловим методом виготовлено 19мл імуно-глобуліну, титр якого у вищевказаних реакціях становив: 1:320; 1:640; 1:640 відповідно. Індекс нейтралізації імуноглобуліну складав 4,5 lg.

Таким чином, запропонований спосіб отримання імуноглобуліну проти вірусу кліщового енцефаліту є більш доступнішим, безпечнішим і економічно виправданим у порівнянні з тими, які включають штучну імунізацію людей чи тварин комерційними вакцинами, і дозволяє отримати активний препарат з високим вмістом антитіл до циркулюючих в Україні штамів збудника, а отже, є значно ефективнішим при застосуванні, ніж його аналоги імпортованого виробництва.

Джерела інформації

1. Получение в производственных условиях сухого донорского иммуноглобулина против клещевого энцефалита // В.М.Минаева, И.И.Райхер, М.С. Слуцкая и др.// Сборник трудов. Лечебные сывороточные препараты. - Москва. - 1976.-С. 86-91.

2. Изучение зависимости специфической активности иммуноглобулина против клещевого энцефалита от степени его фрагментации. / В.Ю.Гавриленкова, Т.М.Гаргина, Т.Д.Шаламберидзе и др.// -ЖМЭИ. -1987. -№ 1. -С. 64-66.

3. Специфические иммуноглобулины как эффективные препараты для лечения вирусных инфекций: современное состояние и насущные задачи для Украины/ Н.С.Дяченко, К.В.Курищук, Л.С.Рядская и др. // Микробиологический журнал. - 2002. - Т. 64, № 1. - С. 3-Ю.

4. Губенко Т.Л. Риванол-спиртовой метод получения гамма-глобулина из плацентарной сыворотки. Сообщение II. // Труды Одесского научно-исследовательского института эпидемиологии, микробиологии и гигиены. - Одесса. -1960.-№4.-С. 35-39.

5. Арбовирусы (методы лабораторных и полевых исследований). Под ред. С.Я.Гайдамович. - М.: Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР,- 1986.-180 с.

6. Пат. 63096 А України, МПК С12N 7/00. Штам вірусу кліщового енцефаліту *Flavivirus encephalitidem ixodicum* № 2288 для виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів /І.М.Лозинський, Г.В.Білецька, М.М.Козловський, Є.Г.Рогочий// - Опуб. 15.01.2004. Бюл. № 1.