



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58734 (13) U
(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ ДО ВІРУСІВ ТВАРИН І РОСЛИН

1

2

(21) u201011151

(22) 17.09.2010

(24) 26.04.2011

(46) 26.04.2011, Бюл.№ 8, 2011 р.

(72) ВОЛКОВА ІЗАБЕЛА В'ЯЧЕСЛАВНА, БОВА
ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ДЕРЕВ'ЯНКО СТАНІСЛАВ
ВАСИЛЬОВИЧ(73) ІНСТИТУТ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб одержання гіперімунної сироватки крові до вірусів тварин і рослин, що включає приготу-

вання концентрованого вірусного антигену, змішування його частини з ад'ювантом, проведення імунізації кролів та відбір крові, який **відрізняється** тим, що імунізацію кролів проводять шляхом п'ятиразового введення концентрованого вірусного антигену почергово підшкірно з ад'ювантом Montanide ISA 25 у кількості 1 мг білка/2 см³ і внутрішньошкірно без ад'юванту вздовж хребта у 8-10 точок у кількості 1 мг білка/1 см³ з інтервалом між кожним введенням 7, 3, 4, 3 доби відповідно.

Корисна модель належить до імунології, вірусології, біотехнології, зокрема до способів одержання сироваток крові тварин, які можуть бути використаними для лабораторної діагностики вірусних хвороб тварин і рослин.

Відомий спосіб гіперімунізації кролів з використанням концентрованих антигенів тешовірусів свиней та масляного ад'юванту Montanide ISA 25, який включає п'ятиразове введення кролям концентрованого антигену почергово підшкірно з ад'ювантом і внутрішньовенно без ад'юванту зростаючими дозами з інтервалом 7 діб [Бова Т. О. Розробка імуноферментних тест-систем для виявлення антигену тешовірусу свиней першого серотипу та специфічних Ig G: дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.00.06 : захищена 21.05.2008: затверджена 08.10.2008 / Бова Тетяна Олександрівна. К., 2008. - 149с].

Основний недолік цього способу полягає в тому, що схема імунізації супроводжується високими

витратами робочого часу на проведення маніпуляцій з кролями.

В основу корисної моделі поставлено завдання розробити спосіб одержання гіперімунних сироваток з використанням концентрованих культуральних вірусних антигенів та ад'юванту.

Завдання досягається шляхом проведення наступних маніпуляцій. Початковим етапом реалізації способу є приготування вірусного антигену. Для цього культуральну вірусовмісну суспензію очищують хлороформом, концентрують сульфатом амонію та діалізують проти 0,15 М розчину NaCl. До частини приготованого антигену, яку використовують для підшкірного введення, додають ад'ювант Montanide ISA 25 (виробництва фірми „SEPPIC”, Франція) у рекомендованому співвідношенні. Імунізацію кролів проводять за схемою, представленою в таблиці.

Таблиця

Схема імунізації кролів

№ п/п	Спосіб введення	Наявність ад'юванту	Загальна кількість імуногену
1.	Підшкірно	+	1 мг білка/2 см ³
2.	Внутрішньошкірно вздовж хребта у 8-10 точок (через 7 діб)	-	1 мг білка/1 см ³
3.	Підшкірно (через 3 доби)	+	1 мг білка/2 см

(13) U
(11) 58734
(19) UA

Продовження таблиці

Схема імунізації кролів

№ п/п	Спосіб введення	Наявність ад'юванту	Загальна кількість імуногену
4.	Внутрішньошкірно вздовж хребта у 8-10 точок (через 4 доби)	-	1 мг білка/1 см ³
5.	Підшкірно (через 3 доби)	+	1 мг білка/2 см ³

Відбір крові проводять через 7 - 14 діб після останнього введення імуногену.

Запропонована схема забезпечує інтенсивне локальне антитілоутворення за короткий проміжок часу, що значно підвищує титр вірусоспецифічних антитіл у сироватках крові кролів.

Можливість здійснення корисної моделі ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1. Використовують культуральну вірусну суспензію штаму "Дніпровський-34" тешові-рису свиней 1-го серотипу з початковим титром 7,5-8,5 lg ТЦД₅₀/см³.

Групу кролів вагою не менше 2-2,5 кг (n=18) імунізували запропонованим способом. Активність

і специфічність одержаних сироваток крові перевіряли в реакції нейтралізації (РН) в культурі клітин нирки ембріону свині (СНЕМ) та твердофазному імуноферментному аналізі (ТІФА). У РН титр одержаних сироваток становив 1:1024-1:4096, у ТІФА - 1:3200-1:12800.

Приклад 2. Культуральну вірусну суспензію штаму "Седнівський" вірусу скручування листя картоплі з титром 7,5-8,5 lg ТЦД₅₀/см³ готують за способом, указаним вище.

Групу кролів вагою не менше 2-2,5 кг (n=9) імунізували запропонованим способом. У РН титр одержаних сироваток становив 1:512-1:2048, у ТІФА-1:1600-1:6400.