



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1035061 A

3(5D) С 12 N 7/00

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

Р774 А

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3228215/28-13

(22) 24.11.80

(46) 15.08.83. Бюл. № 30

(72) Г.С.Скрипченко, И.М.Безброж,
А.Г.Власова и Т.М.Рыбакова

(71) Одесский научно-исследовательский институт вирусологии и эпидемиологии им. И.И.Мечникова

(53) Д 616-07(088.8)

(56) 1. Такачи Дж., Барб К. Новый метод выбора штамма вируса гриппа. - В кн.: Эпидемиология и профилактика гриппа в социалистических странах, стр. 140-145, 1975 (прототип).

(54)(57) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕННОЙ НОВИЗНЫ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА путем обработки суспензий исследуемых вирусов антителами с последующим инкубированием полученной смеси и определением специфического связывания антител, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа, суспензии вирусов обрабатывают плацентарным гамма-глобулином, после инкубирования отделяют образовавшийся комплекс вирус-антитела и антигенную новизну вируса гриппа определяют по степени репродукции связанного с антителами вируса.

(19) SU (11) 1035061 A

Изобретение относится к вирусологии и касается определения антигенной новизны и эпидемичности вируса гриппа.

Известен способ определения антигенной новизны штаммов вируса гриппа путем обработки суспензий исследуемых вирусов антителами ко всем исследуемым вирусам с последующим инкубированием полученной смеси и определением специфического связывания антител [1].

Однако известный способ является трудоемким.

Цель изобретения - упрощение способа.

Поставленная цель достигается тем, что согласно способу определения антигенной новизны штаммов вируса гриппа, включающему обработку суспензий исследуемых вирусов антителами с последующим инкубированием полученной смеси и определением специфического связывания антител, суспензии вирусов обрабатывают плацентарным гамма-глобулином, после инкубирования отделяют образовавшийся комплекс вирус-антитела и антигенную новизну вируса гриппа определяют по степени репродукции связанного с антителами вируса.

Способ осуществляют следующим образом.

Аллантоисную жидкость, содержащую вирус, соединяют в равных количествах с пулами гамма-глобулина разных лет, смеси инкубируют при 4°C 24 ч, центрифугируют при $4 \times 10^4 \text{ г}$ 2 ч. Осадки ресуспендируют в мединал-вероналовом буфере pH 8,6 в объеме, равном половине объема смеси. Надосадочной жидкостью и ресуспендированным осадком в разведениях 10^{-1} - 10^{-6} заражают культуру клеток, инкубируют при $35,5^{\circ}\text{C}$ 48 ч и наличие вируса определяют в реакции гемагглютинации с 1%-ной взвесью куриных эритроцитов. Если в надосадочной жидкости установлено отсутствие вируса, то вирус не характеризуется антигенной новизной. Если вирус не прочно связывается с антителами одних лет и прочно с антителами последующих лет и не обнаруживается в надосадочной жидкости, то он является антигенно более новым по сравнению с первым, но не перспективным для отбора, так как хорошо связывается антителами последующих лет. Последовательно проводя эту процедуру со всеми вирусами, определяют какой вирус обладает наибольшей антигенной новизной.

Пример 1. Аллантоисную жидкость, содержащую вирус А (Гонконг) 1/68, соединяют в равных количествах с пулами гамма-глобулина 1973-1979 годов производства (пул каждого года готовят отдельно). Смеси инкубируют при 4°C 24 ч. Затем центрифугируют при $4 \times 10^4 \text{ г}$ 2 ч. Осадки ресуспендируют в мединал-вероналовом буфере pH 8,6 в объеме, равном половине объема смеси. Полученной после центрифугирования надосадочной жидкостью и ресуспендированным осадком в разведениях 10^{-1} - 10^{-6} заражают фрагменты ХАО (фрагменты хорионаллантоисных оболочек куриного эмбриона). Инкубацию проводят при $35,5^{\circ}\text{C}$ 48 ч, наличие вируса определяют в реакции гемагглютинации с 1%-ной взвесью куриных эритроцитов. В надосадочной жидкости установлено отсутствие вируса. Вирус перешел в осадок вместе с антителами и находится с ними в прочной связи, которая не разрушается при разведении комплекса. Вирус прочно связывается и полностью нейтрализуется антителами, находящимися в плацентарном гамма-глобулине 1973-1979 годов производства и, следовательно, не обладает антигенной новизной.

Пример 2. Применяя методику, описанную в примере 1, определяют антигенную новизну штаммов вируса гриппа А (Виктория) 35/72, штамма вируса гриппа А (Виктория) 3/75, штамма вируса гриппа А (Техас) 1/77, штамма вируса гриппа А (Одесса) 3/79.

В таблице представлены данные о прочности комплекса штаммов вируса гриппа с антителами плацентарного гамма-глобулина различных лет получения.

Антигенную специфичность испытуемых вирусов определяют на основании предварительного типирования их в РТГА с коммерческими диагностическими сыворотками.

Специфичность антител оценивают по наличию антигемагглютининов к испытуемым вирусам в плацентарном гамма-глобулине.

Использование изобретения позволяет просто и быстро проводить определение эпидемической актуальности вновь выделенных вирусов гриппа, отбор штаммов для производства вакцин и диагностических препаратов.

Вирус	Инфекцион- ный титр вируса (исходный)	Годы по- лучения гамма- глобули- на	Инфекцион- ный титр вируса из комплекса	T	p
А (Гонконг) 1/68	6,50	1973	0	20,31	< 0,001
		1974	0	20,31	< 0,001
		1975	0	20,31	< 0,001
		1976	0	20,31	< 0,001
		1977	0	20,31	< 0,001
		1978	0	20,31	< 0,001
		1979	0	20,31	< 0,001
А (Виктория) 35/72	6,50	1973	2,50	7,69	< 0,001
		1974	1,67	11,23	< 0,001
		1975	1,67	11,23	< 0,001
		1976	0	20,31	< 0,001
		1977	0	20,31	< 0,001
		1978	0	20,31	< 0,001
		1979	0	20,31	< 0,001
А (Виктория) 3/75	6,00	1973	2,77	4,54	0,001
		1974	0	14,28	0,001
		1975	2,23	5,22	0,001
		1976	1,33	6,71	0,001
		1977	0	14,28	0,001
		1978	0	14,28	0,001
		1979	0	14,28	0,001
А (Техас) 1/77	5,77	1973	2,67	5,16	< 0,001
		1974	5,50	0,42	> 0,1
		1975	5,23	0,78	> 0,1
		1976	5,50	0,46	> 0,1
		1977	4,77	1,47	> 0,1
		1978	4,50	2,19	> 0,05
		1979	2,50	5,19	< 0,001

Продолжение таблицы

Вирус	Инфекцион- ный титр вируса (исходный)	Годы по- лучения гамма- глобу- лина	Инфекцион- ный титр вируса из комплекса	T	P
А (Одесса) 3/79	5,00	1973	2,00	4,76	<0,001
		1974	3,77	1,86	>0,1
		1975	3,50	2,45	< 0,05
		1976	2,00	4,34	> 0,001
		1977	4,00	1,82	> 0,05
		1978	3,77	1,86	> 0,05
		1979	0	15,62	0,001

П р и м е ч а н и е. Достоверность отличий определялась по разнице инфекционного титра вируса в исходном материале и осажденном комплексе (статистическая обработка проводилась по методу Рида и Менча в Модификации О.В.Давыдова, Г.С.Давыдовой)

1. Значения $p < 0,05$ свидетельствуют о достоверности прочной связи вируса в комплексе с антителами.

2. Значения $p > 0,05$ свидетельствуют о непрочной связи вируса с антителами и реактивации вируса из комплекса.

Составитель А.Маныкин
 Редактор А.Авраменко Техред М.Костик Корректор В. Бутяга

Заказ 5759/23 Тираж 523 Подписное
 ВНИИПИ Государственного комитета СССР
 по делам изобретений и открытий
 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4