

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АНТИРАБІЧНОЇ ВАКЦИНИ

Корисна модель відноситься до ветеринарної вірусології і може бути використана в промисловому виробництві високоімуногенних антирабічних вакцин проти сказу тварин.

За найближчий аналог обраний спосіб одержання антирабічної вакцини проти сказу тварин, який включає приготування посівного матеріалу в культурі клітин ВНК-21 зі штаму вірусу "Щелково – 51", інфікування посівним матеріалом культури перещеплюваних клітин ВНК-21, культивування вірусу сказу, збір вірусутримуючої рідини, інактивацію вірусу з наступним виготовленням готового продукту. (Патент Росії №2 191 600, надрук. 27.10. 2002).

Недоліком цього способу є висока вартість інактивуючих матеріалів, а також недостатньо високий процент з'єму вірусу з клітинного матеріалу.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу одержання антирабічної вакцини проти сказу тварин, у якому, шляхом введення при виробництві вакцини нових компонентів і підтримку оптимальних режимів виготовлення, досягається збільшення виходу вірусу з клітинного матеріалу, в наслідок чого підвищується якість вакцини і одночасно скорочуються матеріальні витрати на її одержання.

Поставленне завдання досягається тим, що в способі одержання антирабічної вакцини, включаючим приготування посівного матеріалу зі штаму вірусу, інфікування посівним матеріалом культури перещеплюваних клітин ВНК –21, культивування вірусу, збір вірусутримуючої рідини, інактивацію вірусу з якого в наслідку готують суцільний продукт в рідинній або ліофілізованій формі, згідно винаходу, посівний матеріал готують зі штаму "Щелково –51 С", а для інфікування посівним матеріалом використовують також культуру перещеплюваних клітин ВНК –21/13, або НС (нирка сайги), при цьому вірусутримуючу рідину інактивують фенолом, а захисне середовище готують на основі сахарози 10 %, пептону 10 % і желатину 4 % з додаванням солей калія фосфорно-кислого двозаміщеного 0,44 %, калію фосфо-

рно -кислого однозаміщеного 0, 99 %. Вірусутримуючу рідину можуть ін-активувати 0,75 % фенолом при 20° С на протязі 48 годин , або при 37° С на протязі 24 годин.

Використання нового штаму “Щелково - 51 С” спільно з використан-ням у якості посівного матеріалу ВНК- 21/13 або НС дозволить одержати більш високий процент накопичення вірусу у клітинному матеріалі, що під-вищує якість вакцини .

Використання всіх істотних ознак, включаючи відмінні, дозволить отримати вакцину з високим виходом вірусу з одиниці клітинного матеріалу, високої якості і одночасно малими матеріальними витратами.

Приклад.

Для виготовлення вакцини в якості посівного матеріалу використовують го-ловний мозок овець (10% суспензію), який отримано в результаті зараження тварин культуральним вірусом “Щелково –51 С”. Для зараження овець вико-ристовують стерильну вірусутримуючу рідину з титром інфекційності не ни-жче $5,0 \lg \text{ЛД}_{50/0,03 \text{ см}^3}$. Овець заражають у мозок культуральною вірусутри-муючою рідиною в дозі 0, 6 мл, титр вірусу не нижче $6, 5 \lg \text{ЛД}_{50/ \text{см}^3}$, що розведена 1: 10 розчином Хенкса. Головний мозок кожної вівці поміщують окремо в скляні герметично закриті банки и ставлять на зберігання при тем-пературі (40 -50)° С. Стерильний мозок овець, який пройшов тест специфіч-ності, з титром не менше $6, 5 \lg \text{ЛД}_{50/ \text{см}^3}$ в 10% суспензії використовують в якості посівного вірусу. Суспензію клітин ВНК-21, або ВНК 21 /13, або НС інфікують 10% вірусутримуючої суспензією , що виготовлена з суміші з трьох зразків мозку при кількості зараження $0,1 \lg \text{ЛД}_{50}$ на клітину. В 5 літ-рові бутлі, що містять 800-900 см росткового поживного середовища , вно-сять інфіковані клітини в кількості 70-80 млн на бутиль. В якості росткового поживного середовища використовують середовище на основі середовища 199, середовища ДМЕМ і 10% натівної сироватки великої рогатої худоби у співвідношенні 45:45:10. Культивування проводять при 37° С в ройлерних апаратах при швидкості обертання бутлів 8-12 об/год. Через 96 годин прово-дять збір культуральної вірусутримуючої рідини . З кожної ємності відбира-

ють висіви на бактеріальні середовища МПА і МПІБ (Кітт-Тароцці). Відібрані зразки і збори вірусу зберігають при $(40 - 50)^{\circ} \text{C}$ до використання. Далі зразки вірусу досліджують на інфекційну активність. Вірус-містку рідину з інфекційною активністю не нижче $6, 4-6,5 \lg \text{ЛД}_{50} / \text{cm}^3$ зливають в реактор для інактивації. Інактивують цю рідину фенолом 0,75% при 20°C ^{при 20-22} ~~на протязі~~ 48 годин , або при 37°C ~~на протязі~~ 24 годин. Після цього в цілях стабілізації вірусного антигену до інактивованої вірусутримуючої культуральної рідини додають захисне середовище в відношенні 1 частина середовища на 2 частини інактивованої вірусутримуючої рідини . Захисне середовище готують на основі сахарози, пептону і желатину в співвідношенні 10%-10%-4% на 10л. вірусу з додаванням солей: калій фосфорно-кислий двозаміщений 3х водний 0, 44 %; калій фосфорно-кислий однозаміщений 3х водний 0,99%.

Контроль імуногенності проводять на білих мишах об'ємним методом по методиці національних інститутів охорони здоров'я. Імуногенна активність вакцини не менше 1.

Використання запропонованого способу одержання антирабічної вакцини проти сказу тварин у зрівнянні з відомими дозволяє: збільшити вихід вірусу з клітинного матеріалу, підвищити якість вакцини, скоротити матеріальні витрати на її одержання.