18. Kuzmin, I.V., Orciari, L.A., Arai, Y.T., Smith, J.S., Hanlon, C.A., & Kameoka, Y. (2003). Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Research*, *97,* 65-79.

19. Kuzmin, I.V, Anne E. Mayer, & Niezgoda Michael. (2010). Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. *Virus Research*, *149,* 197-210.

20. Kuzmin I.V, Wu X.F., Tordo N., & Rupprecht C.E. (2008). Complete genomes of Aravan, Khujand, Irktu and West Caucasion bat viruses, with special attention to the polymerase gene and non-coding regions. *Virus Research*, *136,* 81-90.

21. Rabies-Bulletin-Europe. Information Surveillance Report. Retrieved from http://www.who-rabies-bulletin.org/Queries/Dynamic.aspx

22. Selimov, M.A., Smekhov, A.M., & Antonova, L.A. (1991). New strain of rabies-reletad viruses isolated from bats in the Ukraine. *Acta Virologica*, *35,* 226-231.

УДК 636:578.824.11:57.083

МАЗУР Н.В.*, e-mail: nata_chalapchii@mail.ru
НЕДОСЄКОВ В.В., д-р. вет. наук, проф., e-mail: nedosekov1@rambler.ru
Національний університет біоресурсів та природокористування України
НИЧИК С.А., д-р. вет. наук, проф., e-mail: vet@ivm.kiev.ua
ПОЛУПАН І.М., канд. вет. наук, e-mail: vetmedic@ukr.net
Інститут ветеринарної медицини НААН

РОЗРОБКА СПОСОБУ ОТРИМАННЯ АНТИРАБІЧНОЇ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ ВІД КРОЛІВ

У статті наведені результати застосування розробленої схеми антирабічної гіперімунізації кролів. Схема передбачає чотирьохкратне комбіноване (внутрішньом'язове та внутрішньошкірне) введення культурального антигену концентрованого ПЕГ та імуностимулюючого препарату «Фоспреніл», що в комплексі дало змогу отримати гіперімунну сироватку крові з високим титром антирабічних антитіл (185±9,2 МО/см^3 в РН і 212±10,4 МО/см^3 в ТФ-ІФА). Застосована схема є ефективним способом одержання гіперімунної антирабічної сироватки крові з меншою кількістю введення (всього 27 точок,) меншого об'єму антигену (4 см^3) за 63 доби, порівняно з аналогами.

***Ключові слова**: сказ, гіперімунізація, антирабічні антитіла, сироватка крові, ІФА, РН.*

Вступ. Сказ є основним зоонозом, для якого діагностичні методи були стандартизовані на міжнародному рівні [1]. Нині, реакція прямої імунофлуоресценції (РПІФ), в основі якої використано метод флуоресціюючих антитіл (МФА), є базовою, найбільш швидкою і доступною в діагностиці сказу [2–4].

В Україні МФА є основним методом діагностики сказу. Щорічно в лабораторіях ветеринарної медицини проводиться більше десяти тисяч діагностичних досліджень, та у 94,5 % випадків встановлюється остаточний діагноз за допомогою реакції прямої імунофлуоресценції [5].

* Аспірант, наук. керівник – д-р вет. наук, проф. **Недосєков В.В.**

Оскільки достовірність діагнозу на сказ, поставленого за допомогою цього методу, напряму залежить від якості кон'югату використаного в реакції, то пошук нових схем гіперімунізації є, безумовно, однією з основних складових отримання високоактивної антирабічної сироватки крові, з якої виділяють фракцію імуноглобулінів для мічення флуоресцеїн ізотіоціанатом (ФІТЦ).

Для отримання високоактивних антирабічних сироваток крові необхідно розробити раціональну схему гіперімунізації тварин, що включає підбір тварин-продуцентів (морські свинки, білі миші, вівці, кролі, сірійські хом'яки, коні, вислюки, велика рогата худоба (ВРХ)), антигену, його дози, способу, інтервалу та кратності введення, загальної тривалості циклу імунізації, застосування ад'ювантів й імуностимуляторів [6].

Дослідники відзначають, що застосування в схемах антирабічної імунізації антигену на основі інактивованого фіксованого вірусу сказу, отриманого з мозкової тканини, провокує накопичення в сироватці крові антитіл-нейротоксинів [7]. Щоб цього не допустити рекомендують, в якості антирабічного антигену, застосовувати фіксований вірус сказу, вирощений у перещеплюваній культурі клітин (культура клітин нирок сірійського хом'яка, нирки собаки, нирки сайги, курячих фібробластів, клітини ниркового епітелію зеленої мартишки (Vero) [8].

Рівень імунної відповіді організму залежить від дози антигену, який буде введений, оскільки занадто велика доза може викликати імунне виснаження організму, а замала – недостатнє імунне подразнення. Результати вивчення залежності антитілоутворення від кратності введення антигену показали, що кількість імунізацій підбирають емпіричним шляхом залежно від виду тварин-продуцентів, антигену, а також ад'ювантів та імуностимулюючих препаратів, які застосовуються для гіперімунізації [7].

Як відомо, активність антирабічних сироваток багато в чому визначається контактом рабічного антигену з великою мережею нервових закінчень, що визначає використання антигену, тому простежується залежність між способом введення антигену та рівнем антитіл у сироватці крові. В проведених нами пошукових наукових дослідженнях встановлено, що в разі внутрішньошкірної імунізації у тварин титр антирабічних антитіл складав 1:800, за внутрішньом'язової – 1:200 – 400, а за підшкірного введення антигену – 1:100. Також нами доведено, що комбіноване внутрішньошкірне і внутрішньом'язове введення антигену тваринам-продуцентам забезпечує кращий ефект при отриманні гіперімунної антирабічної сироватки, ніж застосування одного з них [9].

Внутрішньошкірне введення антигенного препарату значно зменшує об'єм використаного імуногену та скорочує термін гіперімунізації [10, 11]. Так, Морогова В.М. зі співавт. (1983) встановили, що за внутрішньошкірного введення кролям антирабічної вакцини на 7-му і 14-ту добу титр антирабічних антитіл був вищим, ніж за внутрішньом'язового, в той же час на 45-ту добу титр був вищим у разі внутрішньом'язового введення [12].

Встановлено, що окрім шляху введення та підбору ад'ювантів, застосування різноманітних імуномодулюючих препаратів забезпечує підвищення біологічної активності антигену та імунного статусу тварин-продуцентів гіперімунних сироваток крові [13]. Дослідники успішно використовували у своїй роботі імуностимулюючі препарати, одним з яких був колоїдний розчин поліпренілфосфату із хвої ялиці («Фоспреніл»). Ними встановлено, що останній разом з антирабічною вакциною підвищує природну резистентність організму, стимулює продукцію інтерферону, інтерлейкінів (ІЛ–1, ІЛ–2), фактору некрозу пухлин (ФНП), активність природних кіллерів і фагоцитоз [14, 15].

Ряд авторів займалися пошуком способів отримання гіперімунних сироваток крові, які можуть застосовуватись для виробництва флуоресціюючого антирабічного імуноглобуліну [9, 16, 17].

Мета роботи. Отримання високоактивної гіперімунної антирабічної сироватки крові кролів, із застосуванням концентрованого культурального антигену та імуностимулюючого препарату «Фоспреніл».

Матеріали і методи. На основі вивчених умов вирощування й отримання вірусу сказу з високою інфекційною активністю, ми підбирали оптимальні умови його концентрування. Для цього добовий моношар культури клітин ВНК-21/13 інфікували вакцинним вірусом сказу штаму «Щолково-51 К» із множинністю зараження 0,1 $МЛД_{50}$/кл. Матраци розташовували в CO_2-інкубаторі (за t = 37 ± 0,5 °С з 5% CO_2).

Культуру клітин інфіковану вірусом сказу культивували 8 діб. Вірусовмісний матеріал отримували у дві стадії – на 5-ту добу, коли замінювали середовище, і на 8-му – після закінчення культивування. Видалення клітинного детриту проводили низькошвидкісним ценрифугуванням (1000 об/хв) впродовж 10 хв за температури 4°С.

Для концентрування вірусу сказу підбирали різні концентрації поліетиленгліколю з молекулярною масою 6000 (1, 2, 4, 6 і 8% в кінцевій концентрації).

Отриману культуральну суспензію вірусу сказу інактивували β-пропіолактоном (Serva, Німеччина) в концентрації 1:10000, за температури 4°С впродовж 24 год.

У схемі гіперімунізації використовували 7 дорослих кролів, масою 2,4–2,7 кг. Інактивований концентрований антиген вводили комбіновано: 0,5 см³ внутрішньом'язово в одну точку і по 0,1 см³ внутрішньошкірно в п'ять точок. Імуностимулятор «Фоспреніл» у дозі 4 мкг/кг вводили внутрішньом'язово перед і на 21-шу і 49-ту добу імунізації.

Грундімунізацію проводили на 0-у та 21-у добу досліду. На 28-у добу досліду відбирали кров для визначення рівня антирабічних антитіл методом твердофазного імуноферментного аналізу (ТФ-ІФА). За результатами дослідження для подальшої імунізації відбирали кролів з титрами антирабічних антитіл у сироватці крові вище 20 МО/$см^3$ (Міжнародних одиниць).

Третю і четверту імунізації за схемою здійснювали на 35-ту і 49-ту добу відповідно, відбір крові та отримання специфічної сироватки – на 63-тю добу.

Отриманий цифровий матеріал оброблений статистично [18].

Результати досліджень та їх обговорення. Після апробації розробленої схеми гіперімунізації (табл. 1) визначали титри антирабічних антитіл двічі: на 28-му добу досліду методом ІФА після грундімунізації кролів і по закінченню гіперімунізації методом ІФА і РН (реакцією нейтралізації) на білих мишах (табл. 2).

Таблиця 1

Схема отримання антирабічної гіперімунної сироватки крові на кролях, n=7

Доба введення	Спосіб імунізації (об'єм/кількість введень)		Фоспреніл, см³
	Підшкірно, см³	Внутрішньом'язово, см³	
0	0,5/5	0,5/1	0,125
21	0,5/5	0,5/1	0,125
35	0,5/5	0,5/1	-
49	0,5/5	0,5/1	0,125
63 (Відбір крові)	–	–	–

При дослідженні проб сироваток крові методом ІФА на 28-у добу досліду після грундімунізації кролів встановлено, що сироватка крові № 2 володіла низькою активністю до вірусу сказу із титром 8,0 МО/см^3, що можна пояснити зниженою реактивністю тварини на введення антигену вірусу сказу. Тому для подальшої імунізації цю тварину не використовували. Решта досліджених сироваток крові були з титрами антитіл до вірусу сказу вище 20 МО/см^3.

Таблиця 2

Визначення титру антирабічних антитіл методом ІФА та РН, n=3

№ сироватки	Титр антитіл, МО/см^3	
	ІФА	РН
1	194±12,3	183±15,6
3	246±8,9	262±22,5
4	235±14,5	214±18,4
5	218±7,8	185±10,8
6	182±5,5	167±12,6
7	219±9,0	210±9,7
Об'єднана проба	212±10,4	185±9,2

Після отримання результатів титрування кожної сироватки крові провели дослідження об'єднаної проби, антирабічна активність якої становила 185±9,2 МО/см^3 в РН і 212±10,4 МО/см^3 в ІФА.

Таким чином, застосування в схемі гіперімунізації імуностимулюючого препарату «Фоспреніл» у комплексі з культуральним антигеном концентрованим ПЕГ дало змогу отримати гіперімунну сироватку крові з високим титром антитіл до вірусу сказу.

Розроблений спосіб придатний для отримання діагностичного антирабічного імуноглобуліну, так як схема розрахована на короткий період часу (63 доби), адже тривале застосування імуностимулюючих препаратів та антигенне навантаження виснажують організм тварин-продуцентів.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Застосування в схемі гіперімунізації імуностимулюючого препарату «Фоспреніл», у комплексі з культуральним антигеном концентрованим ПЕГ, забезпечує отримання гіперімунної сироватки крові з високим титром антитіл до вірусу сказу (185±9,2 МО/см^3 в РН і 212±10,4 МО/см^3 в ТФ-ІФА).

2. Запропонований нами спосіб одержання гіперімунної антирабічної сироватки крові з невеликою множинністю введення (всього 27 точок) культурального антигену (всього 4 см^3) за 63 доби є ефективним та може використовуватись для отримання діагностичного антирабічного імуноглобуліну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hanlon A. Laboratory diagnosis of rabies. The National Working Group on Rabies Prevention and Control / A. Hanlon, J. Smith, G. Anderson // Am. Vet. Med. Assoc. – 1999. – № 215. – P. 1444.

2. Expert Consultation on Rabies. Technical Report Series 982 // WHO. – 2013. – P. 27.

3. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електронний ресурс] // OIE. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.13_RABIES.pdf.

4. Dean D. J. The fluorescent antibody test / D. J. Dean, M. K. Abelseth, P. Atanasiu // Laboratory techniques in rabies. Fourth edition. – WHO. – 1996. – P. 88 – 95.

5. Mazur N. The role of FAT in laboratory diagnosis of rabies / N. Mazur, V. Nedosekov, I. Polupan. // Ветеринарна біотехнологія. – 2015. – № 26. – С. 232 – 236.

6. Новіцька О. В. Розробка тест–системи на основі імуноферментного аналізу для визначення антитіл проти вірусу сказу у сироватці крові тварин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. : спец. 16.00.03 "ветеринарна мікробіологія та вірусологія" / О. В. Новіцька – Київ, 2004. – 25 с.

7. Опыт получения иммунных сывороток для производства диагностических препаратов / Е.В. Алиева, И.С. Тюменцева, Е.Н. Афанасьев и др. // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2008. – № 1. – С. 11 – 15.

8. Клеточные культуры в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина / С.В. Генералов, Е.Г. Абрамова, А.К. Никифоров, Ж.В. Матвеева // Проблемы особо опасных инфекций. – 2011. – №110. – С. 76–79.

9. Пат. 2196607 Российская федерация, МПК A61K39/205, A61K39/42, G01N33/569. Способ получения гипериммунной антирабической сыворотки / В.В. Недосеков, И.А. Сливко В.В. Куриннов – № 2001108407/13, заявл. 30.03.2001, публ. 20.01.2003.

10. Cellular immune response following pre-exposure and postexposure rabies vaccination by intradermal and intramuscular routes / M. V. Manjunatha, N. M. Shampur, S. S. Sampada et al. // Clinical experimental vaccine research. – 2015. – № 4. – С. 68 – 74.

11. Johnson N. The immune response to rabies virus infection and vaccination / N. Johnson, A. F. Cunningham, A. R. Fooks. // Vaccine. – 2010. – P. 3896 – 3901.

12. Изучение сокращенных схем введения антирабической вакцины / В. Морогова, А. Кравченко, Р. Магазов // Имунобиологические препараты. – Уфа. – 1983. – С. 62 – 64.

13. Застосування імуностимулюючих препаратів за антирабічної вакцинації / Н.В. Мазур, М.В. Мазур, І.М. Полупан, В.В. Недосєков // Ветеринарна біотехнологія. – 2015. – №27. – С. 198 – 202.

14. Адъювантное действие Фоспренила на иммуногенность антирабической вакцины / С.В. Ожерелков, А.М. Аржаев, Т.Н. Кожевникова и др. // Ветеринарная клиника. – 2004. – № 8. – С. 9–10.

15. Полипренилфосфаты как адъюванты, поляризующие иммунный ответ в сторону Th1 / А.В. Пронин, С.В. Ожерелков, А.В. Деева и др. // Инфекция и иммунитет. – 2012. – № 3. – С. 645 – 650.

16. Пат. 48158 Україна, МПК A61K 39/205. Спосіб одержання антирабічної гіперімунної сироватки / В.В. Недосєков, І.М. Полупан, М.Ю. Іванов. – №200909138 ; заявл. 4.09.2009 ; опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5, 2010 р.

17. Пат. 19403 Україна, МПК A61K 39/205. Спосіб отримання антирабічної гіперімунної сироватки / М.В. Бабкін, Б.Т. Стегній, С.А. Ничик та ін. – № 200606787 ; заявл. 19.06.2006; опубл. 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

18. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин – Высшая школа. – 1990. –351 с.

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ АНТИРАБИЧЕСКОЙ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА КРОЛИКАХ / Мазур Н.В., Недосеков В.В., Нычик С.А., Полупан И.Н.

В статье представлены результаты применения разработанной схемы антирабической гипериммунизации кроликов. Схема предусматривает четырехкратное комбинированное (внутримышечное и внутрикожное) введение культурального антигена концентрированного ПЭГ и иммуностимулирующего препарата «Фоспренил», что в комплексе позволило получить гипериммунную сыворотку крови с высоким титром антирабических антител (185 ± 9,2 МЕ/см^3 в реакции нейтрализации (РН) и 212 ± 10,4 МЕ/см^3 в твердофазном варианте иммуноферментного анализа (ТФ-ИФА)). Разработанная схема является эффективным способом получения гипериммунной антирабической сыворотки крови с уменьшенной множественностью ввода (всего 27 точек) меньшего объема антигена (4 см^3) на протяжении 63-х суток, по сравнению с аналогами.

***Ключевые слова**: бешенство, гиперимунизация, антирабические антитела, сыворотка крови, ТФ-ИФА, РН.*

A METHOD FOR PRODUCING HYPERIMMUNE ANTIRABIES SERUM OF RABBITS ORIGIN / Mazur N.V., Nedosekov V.V, Nychyk S.A., Polupan I.M.

***Introdaction.** Since the reliability of the diagnosis of rabies (FAT) depends on the quality of the conjugate used in the reaction, the search for new hyperimmunization schemes is certainly one of the main components of the receiving highly active anti rabies serum, from which isolated a fraction of immunoglobulin for fluorescein isothiocyanate labeling.*

***The goal of the work.** Receiving of highly potency hyperimmune rabies serum using concentrated culture antigen and immunostimulatory drug "Fosprenil."*

***Materials and methods.** In the hyperimmunization scheme we used 7 adult rabbits, weighing 2.4–2.7 kg. Concentrated inactivated antigen was administered by 0.5 ml intramuscularly in one point and 0.1 ml intradermally in five different points. Immunostimulant "Fosprenil" at a dose of 4 mg/kg administered intramuscularly at 0, 21 and 49 day of immunization.*

***Results of research and discussion.** After using the developed hyperimmunization scheme we determined rabies antibody titers twice: on 28 days by ELISA and at the end of experiment by ELISA and MIT (mouse neutralization test).*

Study of serum samples by ELISA on day 28 revealed that serum number 2 had low potency to the rabies virus (8 IU/ml). This is due to reduced sensitivity of animal to inoculation of rabies virus antigen. For further immunization selected rabbits that had titers above 20 UI /ml. After

receiving the results of titration for each serum we conducted a study of combined sample. Rabies activity of combined sample was 185 ± 9.2 IU/ml by MIT and 212 ± 10.4 IU/ml by ELISA.

Conclusions and prospects for further research. *Thus, the application in the hyperimmunization scheme of immunostimulatory drug "Fosrenil" in combination with culture concentrated antigen, helped receive hyperimmune serum with high antibody titer to rabies virus (185 ± 9.2 IU/ml by MIT and 212 ± 10.4 IU/ml by ELISA.)*

Keywords*: rabies, hiperimunisation, antirabies antibody, serum of blood, ELISA, MNT.*

REFERENCES

1. Hanlon, A., Smith, J. & Anderson, G. (1999). Laboratory diagnosis of rabies. The National Working Group on Rabies Prevention and Control. *Am. Vet. Med. Assoc., 215,* 1444.

2. WHO Expert Consultation on Rabies (2013). *Technical Report Series 982*. Geneva: World Health Organization.

3. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, (2013). Retrieved from http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.13_RABIES.pdf.

4. Dean, D.J., Abelseth, M.K., & Atanasiu, P. (1996). Laboratory techniques in rabies (The fluorescent antibody test). *Geneva, (3d ed.),* 88-95.

5. Mazur, N., Nedosekov, V., & Polupan, I. (2015). The role of FAT in laboratory diagnosis of rabies. *Veterynarna biotehnologija – Veterinary biotechnology*, *26*, 232–236.

6. Novic'ka, O. V. (2004). Rozrobka test–systemy na osnovi imunofermentnogo analizu dlja vyznachennja antytil proty virusu skazu u syrovatci krovi tvaryn [Development of test-system on a basis enzyme-linked immunosorbent assay for determination antibody against rabies virus of animal]: *Extended abstract of candidate's thesis.* Kyi'v [in Ukrainian].

7. Alieva, E.V., Tjumenceva, I.S., & Afanas'ev, E.N. (2008). Opyt poluchenija immunnyh syvorotok dlja proizvodstva diagnosticheskih preparatov [The experience of obtaining immune sera for the manufacture of diagnostic products]. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e" – Kursk scientific and practical Bulletin "People & Health"*, *1*, 11–15 [in Russian].

8. Generalov, S.V., Abramova, E.G., & Nykyforov, A.K. (2011). Kletochnye kul'tury v proizvodstve geterologichnogo antirabicheskogo immunoglobulina [Cell Structures in Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin Production]. *Problemy osobo opasnyh infekcij – Problems of especially hazardous infections, 110,* 76–79 [in Russian].

9. Nedosekov, V.V., Slivko, I.A., & Kurinnov, V.V. Patent 2196607, MPK A61K39/205, A61K39/42, G01N33/569 (20.01.2003). Sposob poluchenija giperimmunnoj antirabicheskoj syvorotki [A method of producing hyperimmune rabies serum] [in Russian].

10. Manjunatha, M.V., Shampur, N.M., & Sampada, S.S. (2015). Cellular immune response following pre-exposure and postexposure rabies vaccination by intradermal and intramuscular routes. *Clinical experimental vaccine research*, *4*, 68–74.

11. Johnson, N., Cunningham, A., & Fooks, A. (2010). The immune response to rabies virus infection and vaccination, *Vaccin*e, 3896–3901.

12. Morogova, V., Kravchenko, A., Magazov, R., Shafeeva, R., & Krutilina D. (1983). Izuchenie sokrashhennyh shem vvedenija antirabicheskoj vakciny [The study of abbreviated forms of the vaccine inoculation]. *Imunobiologicheskie preparaty. – Immunobiologycal drugs*, 62-64 [in Russian].

13. Mazur, N.V., Mazur, M.V., Polupan, I.M., & Nedosjekov, V.V. (2015). Zastosuvannja imunostymuljujuchyh preparativ za antyrabichnoi' vakcynacii' [effect of immunostimulants at rabies vaccination]. *Veterynarna biotehnologija – Veterinary biotechnology, 27*, 198–202 [in Ukrainian].

14. Ozherelkov, S.V., Arzhaev, A.M., & Kozhevnikova, T.N. (2004). Adjuvantnoe dejstvie Fosprenila na immunogennost' antirabicheskoj vakciny [Fosprenil adjuvant effect on the immunogenicity of rabies vaccine]. *Veterinarnaja klinika – Veterinary clinic*, *8*, 9–10 [in Russian].

15. Pronin, A.V., Ozherelkov, S.V., & Deeva, A.V. (2012). Poliprenilfosfaty kak adjuvanty, poljarizujushhie immunnyj otvet v storonu Th1 [Polyprenyl phosphates as adjuvants, polarizing the immune response to th1]. *Infekcija i immunitet – Infection and immunity*, *3*, 645–650 [in Russian].

16. Nedosjekov, V.V., Polupan, I.M., & Ivanov, M.Ju. Patent 48158 Ukraine, MPK A61K 39/205 (10.03.2010). Sposib oderzhannja antyrabichnoi' giperimunnoi' syrovatky [A method of producing hyperimmune rabies serum] [in Ukrainian].

17. Babkin, M.V., Stegnij, B.T., & Nychyk, S.A. Patent 19403 Ukraine, MPK A61K 39/205 (15.12.2006) Sposib otrymannja antyrabichnoi' giperimunnoi' syrovatky [A method of producing hyperimmune rabies serum] [in Ukrainian].

18. Lakin, G.F. (1990). *Biometrija [Biometry]*. Vysshaja shkola [in Russian].

УДК 576.316: 636.96:611.018

МАЗУРКЕВИЧ А.Й., д-р. вет. наук, проф., e-mail: amaz@nauu.kiev.ua
КОВПАК В.В. канд. вет. наук, e-mail: vitkovpak@mail.ru
КОВПАК О.С., e-mail: alex88-87@yandex.ru
Національний університет біоресурсів і природокористування України
ГУДЗЬ Н.В., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: gudznataly@gmail.com
Інститут ветеринарної медицини НААН

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЩУРІВ НА РІЗНИХ ПАСАЖАХ

Наведені результати цитогенетичного аналізу мезенхімальних стовбурових клітин щурів під час їх культивування in vitro. Дослідження стабільності каріотипу культури клітин проводились з першого по шостий пасаж. Виявлено зміни у генетичному апараті клітин, що проявлялись у вигляді анеуплоїдій, поліплоїдій, а також мікроядер, кількість яких змінювався залежно від пасажу. Кількість клітин з анеуплоїдним набором хромосом становила від 8,9 до 18,9 %, поліплоїдним набором – від 1,1 до 4,4%. Кількість клітин з мікроядрами знаходилась у межах від 0,2 до 1,9 %. Однак, мінливість каріотипу зазначених клітин не перевищувала спонтанного рівня мутацій, характерного для даного виду тварин.

Ключові слова: *цитогенетичний аналіз, мікроядерний тест, мезенхімальні стовбурові клітини, пасаж, мутації.*

Вступ. Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), відомі також, як стромальні клітини кісткового мозку, є плюрипотентною популяцією стовбурових клітин дорослого організму. Здатність МСК до диференціювання у різноманітні тканинні популяції (остеобласти, хондроцити, адипоцити, міобласти тощо), значно розширює можливості їх використання у регенеративній медицині [1,2]. Окрім того вони мають ряд позитивних якостей: легко виділяються з організму; виділяють широкий спектр біоактивних макромолекул [3]; здатні мігрувати до місця ураження [4] володіють високою проліферативною активністю, що дає змогу збільшувати клітинну масу *in vitro* [5] та гіпоімуногенними властивостями, завдяки чому можуть використовуватися для алогенної трансплантації [3, 6].

Отримані результати доклінічних та клінічних випробувань, свідчать про високу ефективність МСК за використання в якості замісної терапії, у порівнянні з іншими методами лікування. Проте, для клінічного використання