

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY 100284

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 07.12.76 (P. 194208)

Pierwszeństwo: _____

Int. Cl.².

C12K 5/00

Zgłoszenie ogłoszono: 10.10.77

Opis patentowy opublikowano: 30.06.1979

Twórca wynalazku: Stanisława Woyciechowska

Uprawniony z patentu: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Akademia Rolnicza,
Warszawa (Polska)

Sposób otrzymywania szczepionki przeciw zakaźnemu, wirusowemu ronieniu klaczy (rhinopneumonitis equorum)

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania szczepionki przeciw zakaźnemu, wirusowemu ronieniu klaczy (rhinopneumonitis equorum).

Dotychczas nie znano sposobu otrzymywania szczepionki przeciw zakaźnemu, wirusowemu ronieniu klaczy.

Stwierdzono, że w przeważającej liczbie przypadków przyczyną ronień jest wirus rhinopneumonitis equorum, który może również u źrebiąt powodować schorzenia dróg oddechowych. Straty, spowodowane przez ten wirus, są wśród koni bardzo duże. Brak odpowiedniej szczepionki uniemożliwiał opanowanie chorobotwórczego działania wirusa. Do przygotowania szczepionki konieczne jest wyizolowanie właściwego szczepu immunogennego oraz w przypadku szczepionek żywych, stosowanych w wirusologii, atenuowanie ich do utraty zjadliwości.

Celem wynalazku jest opracowanie sposobu otrzymywania szczepionki nieszkodliwej dla koni, a skutecznej w zapobieganiu zakaźnemu, wirusowemu ronieniu klaczy i schorzeń dróg oddechowych źrebiąt.

W sposobie według wynalazku część korową nerki zwierzęcej traktuje się trypsyną, otrzymując zawiesinę komórek. W celu namnożenia komórek odwirowaną zawiesinę przenosi się do płynu odżywczego NEM z surowicą krwi cielęcej i poddaje inkubacji. Komórki namnażając się pokrywają jednolitą warstwą ścianki naczynia szklanego. Po namnożeniu hodowli komórek płyn namnażający wymienia się na płyn utrzymujący bez surowicy. Hodowlę komórek zakaża się zawiesiną wirusa Rhinopneumonitis equorum RAC-H, adaptowanego do zwierząt laboratoryjnych, który został uprzednio atenuowany przez wielokrotne pasażowanie w hodowli komórek nerki zwierzęcej. Atenuowany wirus namnaża się w hodowli. Występujące zmiany cytopatyczne w komórkach nerki zwierzęcej stanowią wskaźnik namnożenia wirusa w hodowli. Po wystąpieniu zmian cytopatycznych następuje odklejanie komórek od ścianek naczynia. Płyn, zawierający atenuowany wirus, przenosi się do jałowych naczyń, oznacza się miano wirusa Rhinopneumonitis equorum RAC-H i następnie zamraża lub liofilizuje.

Szczepionka, otrzymana sposobem według wynalazku, ma określone miano wirusa, jest wolna od bakterii i ubocznych zanieczyszczeń i nie jest szkodliwa dla zwierząt laboratoryjnych.

Wynalazek jest bliżej przedstawiony w przykładzie wykonania.

Przykład. Na część korową nerki zwierzęcej działa się trypsyną, otrzymując zawiesinę komórek, którą się wiruje. 2 ml odwirowanej zawiesiny komórek przenosi się do 150 ml płynu odżywczego MEM z 10% surowicy krwi cielęcej i poddaje się 48 godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C. Komórki namnażając się pokrywają jednolitą warstwą ściankę naczynia. Namnażający płyn wymienia się w warunkach jałowych na płyn utrzymujący, nie zawierający surowicy krwi cielęcej i zakaża się 5 ml zawiesiny uprzednio atenuowanego wirusa Rhinopneumonitis equorum RAC-H. Po 48 godzinach, gdy wystąpią zmiany cytopatyczne i odklejanie się komórek od ścianek naczynia, zbiera się płyn do jałowych naczynek, oznacza miano wirusa i poddaje liofilizacji w ampułkach.

Skład płynu odżywczego MEM w mg/l

CaCl ₂	200	KCl	400
MgSO ₄ · 7H ₂ O	200	NaCl	6800
NaHCO ₃	2200	NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	140
glukoza	1000	pirogonian sodu	110
L – arginina	126	– alanina	9
L – asparagina	13	– cystyna	24
L – fenyloalanina	32	glicyna	8
L – glutamina	292	L – histydyna · HCl · H ₂ O	42
L – izoleucyna	52	kw. L – asparaginowy	43
kw. L – glutaminowy · HCl	18	L – leucyna	52
L – lizyna · HCl	73	L – metionina	15
L – prolina	12	L – seryna	11
L – treonina	48	L – tryptofan	10
L – tyrozyna	36	L – walina	46
chlorek choliny	1	i – inozytol	2
kw. foliowy	1	amid kwasu nikotynowego	1
ryboflawina	0,1	pirydoksal HCl	1
czerwień fenolowa	20	woda redestylowana	1000
tiamina · HCl	1		

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania szczepionki przeciw zakaźnemu, wirusowemu ronieniu klaczy (rhinopneumonitis equorum), z n a m i e n n y t y m, że część korową nerki zwierzęcej traktuje się trypsyną, a otrzymaną zawiesinę komórek odwirowuje się i przenosi do znanego odżywczego płynu MEM z surowicą krwi cielęcej, spełniającej rolę płynu namnażającego komórki, następnie płyn namnażający wymienia się na płyn utrzymujący bez surowicy i zakaża się atenuowanym wirusem Rhinopneumonitis equorum RAC-H, adaptowanym do zwierząt laboratoryjnych, który namnaża się w hodowli komórek, po czym płyn, zawierający namnożony wirus, zamraża się lub liofilizuje.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że stosuje się wirus atenuowany przez wielokrotne pasażowanie w hodowli komórek nerki zwierzęcej.

3. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że namnażanie atenuowanego wirusa prowadzi się do momentu powstania zmian cytopatycznych w hodowanych komórkach nerki zwierzęcej.