

ОТРИМАННЯ СПЕЦИФІЧНИХ ІМУННИХ СИРОВАТОК ДО ТЕШО– ТА ЕНТЕРОВІРУСІВ СВИНЕЙ НА КРОЛЯХ

Л. М. МУЗИКІНА, кандидат ветеринарних наук, заступник завідувача лабораторії «Науково-дослідний навчальний центр діагностики хвороб тварин»,

<http://orcid.org/0000-0003-4611-5615>

І. В. ГАЛКА, кандидат ветеринарних наук, завідувач лабораторією «Науково-дослідний навчальний центр діагностики хвороб тварин»,
<http://orcid.org/0000-0001-8701-3506>

С. С. МАНДИГРА, молодший науковий співробітник лабораторії «Науково-дослідний навчальний центр діагностики хвороб тварин»,
<http://orcid.org/0000-0002-3559-9258>

А. І. ЧЕХУН, науковий співробітник лабораторії «Науково-дослідний навчальний центр діагностики хвороб тварин»,
<https://orcid.org/0000-0001-8597-4565>

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна

І. М. ДЕРКАЧ, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри фармакології та токсикології,
<https://orcid.org/0000-0002-0149-7923>

Національний університет біоресурсів і природокористування України
E-mail: Irina1215@ukr.net

Анотація. Ідентифікація тешо- та ентеровірусів свиней та вивчення їх антигенних властивостей потребує наявності якісних специфічних імунних сироваток. Метою наших досліджень було отримання специфічних імунних сироваток до тешо- та ентеровірусів свиней за короткими схемами імунізації кролів з двома ад'ювантами для порівняння. Як антигени використано п'ять референтних штамів тешовірусів та ентеровірусів свиней (Березнянський-652, Talfan, T-80, F 7 та K 9). Застосовано три скорочені схеми імунізації кролів, що передбачали дво-, три- та чотирикратну кількість ін'єкцій за тридобового інтервалу між ними. Для зменшення виникнення ускладнень у тварин використано ад'ювант MONTANIDE ISA-25 (Seppic, Франція) порівняно з ланолін-вазеліновою сумішшю. Найвищі титри вірусонейтралізуючих антитіл у специфічних імунних сироватках $10,33 \pm 0,21$ – $11,33 \pm 0,21 \log_2$ отримані нами за чотириразового введення антигену з тридобовим інтервалом із застосуванням ад'юванту MONTANIDE ISA-25. Використання ад'юванту MONTANIDE ISA-25 полегшує введення суміші антигенів, не викликає ускладнень та сприяє зростанню активності імунних сироваток. Нова запропонована

схема імунізації кролів, яка передбачає чотирикратне введення антигену з триденним інтервалом, забезпечує отримання специфічних антитіл у високих титрах.

Ключові слова: специфічні імунні сироватки, тешовіруси, ентеровіруси, схема імунізації

Актуальність

Сьогодні ентеровірусні інфекції та ензоотичний енцефаломієліт (хвороба Тешена) свиней поширені як в Україні, так і у світі. Водночас виявляються нові серотипи та поліантигенні штами, які мають важливе значення під час діагностики цих хвороб свиней (Romanenko, 2001; Melnychenko, 2002; Derevianko, 2010; Golovko, 2011; Derevianko, 2018).

Для типування виділених ізолятів тешо- та ентеровірусів застосовують імунні сироватки, що містять типоспецифічні антитіла до певного серотипу вірусу (Volkova, 2011). З метою отримання специфічних сироваток використовують різні види тварин і схеми їх імунізації, кратність та способи введення антигенів, а також гібридоми, що дозволяють отримати моноклональні антитіла (Witte et al., 1994; Adams et al., 2015).

Аналіз останніх досліджень та публікацій

Основними вимогами до специфічних імунних сироваток є високоспецифічність та чутливість. Існуючі схеми імунізації відрізняються між собою за видом тварин, кількістю та кратністю ін'єкцій, методами введення й ад'ювантами.

Ад'юванти можуть діяти за допомогою комбінації різних механізмів, включаючи утворення депо, індукцію

цитокінів та хемокінів, накопичення імунних клітин, посилення проникнення антигену та сприяння транспортування антигену до лімфатичних вузлів. Ад'юванти активують вроджену імунну реакцію для створення локального імунокомпетентного середовища на місці ін'єкції. Залежно від типу активованої вродженої відповіді, ад'юванти можуть змінювати якість та кількість адаптивних імунних відповідей (Awate et al., 2013).

Одним із найвідоміших є повний ад'ювант Фрейнда (Complete Freund's adjuvant – CFA) – це водна емульсія в олії, яка містить вбиті мікобактерії, і є класичним «золотим стандартом» групи емульсійних ад'ювантів (Leonard, 2017; Samelko, 2019). У медицині, CFA використовується для оцінки імуногенності антигенів у мишей та індукції аутоімунних захворювань, таких як увеїт та експериментальний аутоімунний енцефаломієліт. Однією з головних проблем застосування CFA є індукція вираженого тривалого локального запалення, яке може бути болючим для тварини, що часто призводить до виразки в місці ін'єкції (Billiau et al., 2001).

Неповний ад'ювант Фрейнда (Incomplete Freund's adjuvant – ІФА) також є водною емульсією в олії, але без мікобактерій. Його ад'ювантна активність є результатом постійного вивільнення антигену з олійної емульсії, збільшення тривалості дії антигену та стимуляції місцевого імунітету,

оскільки він посилює фагоцитоз, інфільтрацію лейкоцитів та вироблення цитокінів (Apostólico et al., 2016).

Для отримання специфічних імунних сироваток до вірусу хвороби Тешена у рекомендаціях МЕБ зазначено, що кролів імунізують внутрішньовенно, використовуючи вірусну суспензію або підшкірно чи внутрішньочеревно, застосовуючи вірусну суспензію з 10 % олійного ад'юванта. Позитивні результати отримані за введення трьох доз по 2 см³ вірусної суспензії з 0,2 см³ масляного ад'юванта, з інтервалом у 2 тижні. У кроликів відбір крові проводять через 10 діб після останньої імунізації (OIE Terrestrial Manual, 2008).

Отримання специфічних сироваток до ентеровірусів передбачає чотирікратне введення антигену кролям спочатку підшкірно з масляним ад'ювантом, а потім внутрішньовенно – без ад'юванту, з інтервалами між введеннями 10, 30 і за 7 діб до знекровлення (Kopovalova et al., 1967). Описане двократне введення антигену: на 1 добу – внутрішньом'язово 10 см³ антигену з ад'ювантом, а на 22 добу – 10 см³ вірусу внутрішньовенно. Знекровлення проводили через 29 діб після останньої імунізації (Graevskaja et al., 1965).

Було розроблено схему імунізації кролів, яка передбачала п'ятикратне введення антигену з інтервалом сім днів. За першого та третього введення антиген вводили внутрішньом'язово з масляною емульсією в кількості 5 і 10 см³. Друге, четверте та п'яте введення вірусної культуральної рідини відповідно в об'ємі 5 – 5 – 7 см³ здійснювали внутрішньовенно в крайову вушну вену. В якості ад'юванту була використана масляна суміш, що складалася з 9 частин вазелінової олії й 1 частини ланоліну, яку стерилизували автоклавуванням за 1,5 атм протягом 30 хв. Спів-

відношення антигену до ад'юванту становило 1,5:1. Кров відбирали через 14 діб після останнього введення антигену (Romanenko et al., 1998).

Дослідження О. Лукашева (2006) щодо вивчення циркулюючих штамів ентеровірусів людей показали, що рекомбінація є звичайним і надзвичайно широко поширеним явищем у ентеровірусів і, що обмін фрагментами геному може розглядатися в загальному плані як спосіб існування генетичної інформації у всієї цієї групи вірусів.

Мета дослідження – отримання специфічних імунних сироваток до тешо- та ентеровірусів свиней за короткими схемами імунізації кролів з двома ад'ювантами.

Матеріали та методи дослідження

У дослідженнях щодо удосконалення схем імунізації кролів в якості антигенів нами були використані п'ять референтних штамів тешовірусів та ентеровірусів свиней (Безнянський-652, *Talfan*, *T-80*, *F 7* та *K 9*), інфекційна активність яких представлена в табл. 1.

Очищення вірусного матеріалу від бактерій, мікоплазм, сторонніх білків та вірусів з ліпоутримуючими оболонками проводили згідно загальноприйнятої методики (Bögel and Maug, 1961), пристосованої нами до вірусних матеріалів.

До вірусовмісного матеріалу додавали у співвідношенні 1:1 хлороформ, струшували впродовж 1 год за кімнатної температури, потім залишали на 14–16 год за температури 4 °С. Після цього суміш центрифугували за 3000 об/хв впродовж 30 хв. Надосадову рідину відбирали в стерильні флакони, додавали антибіотики (пеніциліну 1000 ОД, стреп-

томіцину 500 мкг на 1 см³ суспензії) і залишали за кімнатної температури на 1 год у захищеному від світла місці.

Очищені таким чином вірусомісні суспензії ще раз пасажували в культурі клітин СНЕВ, після чого центрифугували за 3000 обертів упродовж 30 хв з метою звільнення від вмісту клітинного детриту.

Інфекційна активність в культурі клітин СНЕВ антигенів референтних штамів тешовірусів та ентеровірусів свиней встановлена в межах $9,33 \pm 0,08 - 9,92 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50} / \text{см}^3$, що задовольняло вимоги експерименту.

З метою зменшення виникнення ускладнень у тварин ми використовували ад'ювант фірми «SEPPIC» MONTANIDE ISA-25 (Франція) порівняно з ланолін-вазелиновою сумішшю (ЛВС).

Масляний ад'ювант, що складався із ланоліну і вазелинової олії у співвідношенні 1:9, стерилізували автоклавуванням 30 хв за 1,5 атм. За використання внутрішньом'язового введення ад'ювант змішували з вірусним антигеном у співвідношенні 1:1,5.

Для приготування емульсії «олія у воді» готовий ад'ювант MONTANIDE ISA-25 змішували з вірусним антигеном у співвідношенні 25:75, відповідно до рекомендацій виробника.

З метою отримання імунних сироваток до п'яти референтних штамів

тешо- та ентеровірусів свиней ми використали дво-, три- та чотирикратну кількість ін'єкцій за тридобового інтервалу між ними. Для кожного штамів використовували по два кролі. Всі маніпуляції на тваринах проводили з суворим дотриманням положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих на першому Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) та міжнародних вимог згідно до «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями».

Використані скорочені схеми імунізації кролів наведені в таблиці 2.

Знекровлення кролів проводили через 10 діб після останнього введення. Отримані сироватки обробляли антибіотиками та заморожували, з наступним визначенням інфекційного титру.

Титр вірусонейтралізуючих антигелів в отриманих імунних сироватках кролів визначали в реакції нейтралізації за двократних розведень сироваток. Для постановки реакції нейтралізації використовували робоче розведення вірусу, що відповідало $100 \text{ТЦД}_{50} / 0,1 \text{см}^3$.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили, використовуючи загальноприйняті статистичні методи у вірусологічних дослідженнях із визначенням критерію Стюдента за

1. Інфекційна активність антигенів референтних штамів тешо- та ентеровірусів свиней у культурі клітин СНЕВ ($M \pm m$, $n = 3$)

№ п/п	Референтний штам вірусу	Інфекційний титр, $\lg \text{ТЦД}_{50} / \text{см}^3$
1	Березнянський-652	$9,42 \pm 0,08$
2	Konratice	$9,92 \pm 0,08$
3	T-80	$9,83 \pm 0,08$
4	F 7	$9,5 \pm 0,14$
5	K 9	$9,33 \pm 0,08$

2. Скорочені схеми імунізації кролів

Кількість ін'єкцій	Ад'ювант ЛВС	Ад'ювант MONTANIDE ISA-25
2	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену
3	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом
4	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену	в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену в/м – 5 см ³ антигену з ад'ювантом в/в – 5 см ³ антигену

допомогою програми Microsoft Excel. Водночас визначали середні арифметичні величини, достовірність різниці між середніми величинами. Досліди проводили з числом повторюваності (> 3), що забезпечувало отримання достовірних результатів.

Результати досліджень та їх обговорення

Антиген у суміші з ад'ювантом MONTANIDE ISA-25 легко вводився, не викликаючи ускладнень у кролів, у порівнянні з ЛСВ, де реєстрували випадки утворення абсцесів на місці внутрішньом'язового введення.

Результати визначення активності імунних сироваток кролів до референтних штамів тешовірусів та ентеровірусів свиней за дворазових, триразових та чотириразових ін'єкцій представлені в табл. 3.

Згідно отриманих результатів, специфічні імунні сироватки, одержані до референтних штамів тешо- та ентеровірусів свиней, за дворазового введення і використання ад'юванту ЛВС, мали титри вірусонейтралізуючих антитіл у межах $5,33 \pm 0,21 - 7,67 \pm 0,21 \log_2$, а під час використання MONTANIDE ISA-25 титри вірусонейтралізуючих антитіл становили $6,33 \pm 0,21 - 8,67 \pm 0,21 \log_2$. Отримані результати свідчать про зростання ти-

3. Активність імунних сироваток кролів, одержаних до референтних штамів тешо- та ентеровірусів свиней (2–4 ін'єкції) ($M \pm m$, $n = 6$)

Штам вірусу, до якого одержана імунна сироватка	Титри вірусонейтралізуючих антитіл, $\log_2$					
	дві ін'єкції		три ін'єкції		чотири ін'єкції	
	ЛВС	ISA-25	ЛВС	ISA-25	ЛВС	ISA-25
Березнянський-652	$5,33 \pm 0,21^*$	$6,5 \pm 0,22^*$	$6,67 \pm 0,21^{**}$	$8,5 \pm 0,22^{**}$	$9,0 \pm 0,26^{***}$	$11,3 \pm 0,21^{***}$
Talfan	$6,5 \pm 0,22^*$	$7,67 \pm 0,21^*$	$7,33 \pm 0,21^{**}$	$8,67 \pm 0,21^{**}$	$8,83 \pm 0,17^{***}$	$10,5 \pm 0,22^{***}$
T-80	$7,67 \pm 0,21^*$	$8,67 \pm 0,21^*$	$8,5 \pm 0,22^{**}$	$9,83 \pm 0,17^{**}$	$8,5 \pm 0,22^{***}$	$10,3 \pm 0,21^{***}$
F 7	$6,33 \pm 0,21^*$	$7,5 \pm 0,22^*$	$7,33 \pm 0,21^{**}$	$8,67 \pm 0,21^{**}$	$9,67 \pm 0,21^{***}$	$11,7 \pm 0,21^{***}$
K 9	$5,5 \pm 0,22^*$	$6,33 \pm 0,21^*$	$6,33 \pm 0,21^{**}$	$7,67 \pm 0,21^{**}$	$8,33 \pm 0,21^{***}$	$10,7 \pm 0,21^{***}$

Примітка: * $P < 0,05$, ** $P < 0,05$, *** $P < 0,05$.

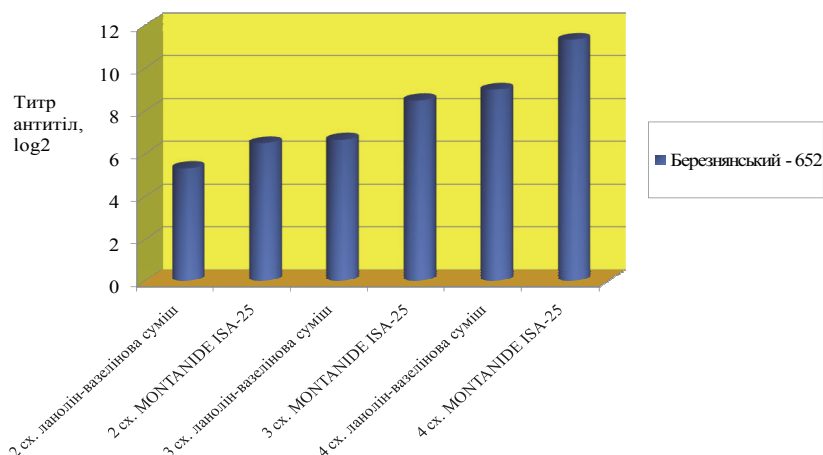


Рис 1. Порівняльний аналіз активності сироваток до референтного штаму тешовірусів Березнянський-652 за короткими схемами імунізації

трів за триразового введення антигенів із MONTANIDE ISA-25, порівняно з ЛВС, в межах $1,34\text{--}1,83 \log_2$.

За триразового введення ЛВС титри вірусонейтралізуючих антитіл в імунних сироватках становили $6,67 \pm 0,21\text{--}8,5 \pm 0,22 \log_2$, а за використання ад'юванту MONTANIDE ISA-25 відповідали значенням $7,67 \pm 0,21\text{--}9,83 \pm 0,17 \log_2$. У цьому разі різниця між титрами імунних сироваток до референтних штабів тешо- та ентеровірусів свиней, отриманих під час використання MONTANIDE ISA-25 в ролі ад'юванту, була вищою в середньому на $1,44 \log_2$.

Імунні сироватки до референтних штабів тешо- та ентеровірусів свиней, одержані за чотириразових ін'єкцій мали вірусонейтралізуючі антитіла в титрах $8,33 \pm 0,17\text{--}9,67 \pm 0,21 \log_2$ за використання в ролі ад'юванту ЛВС, а під час використання MONTANIDE ISA-25 титри вірусонейтралізуючих антитіл становили $10,33 \pm 0,21\text{--}11,33 \pm 0,21 \log_2$. Активність отриманих імунних сироваток за використання MONTANIDE ISA-25 зросла в середньому на $2,0 \log_2$ порівняно з ЛВС.

Достовірність даних отриманих результатів у межах $P < 0,05$.

На рис 1. представлено порівняльний аналіз активності імунних сироваток до референтного штаму тешовірусів I серотипу Березнянський-652, отриманих за короткими схемами імунізації кролів.

Активність отриманої сироватки до референтного штаму тешовірусу «Березнянський-652» за дворазового введення і використання ад'юванту ЛВС становила $5,33 \pm 0,21 \log_2$, а під час використання MONTANIDE ISA-25 титри вірусонейтралізуючих антитіл зросли до $6,5 \pm 0,22 \log_2$; за триразового введення відповідно становили $6,67 \pm 0,21 \log_2$ та $8,5 \pm 0,22 \log_2$; за чотириразового введення антигена та ад'юванта ЛВС титр вірусонейтралізуючих антитіл відповідав $9,0 \pm 0,26 \log_2$, а під час використання MONTANIDE ISA-25 становив $11,3 \pm 0,21 \log_2$.

Висновки і перспективи

Аналізуючи результати трьох схем імунізації кролів, під час збільшення кратності ін'єкцій отримано стабільне зростання титрів вірусонейтралізую-

чих антитіл. Використання ад'юванту MONTANIDE ISA-25 сприяло зростанню активності імунних сироваток, отриманих до референтних штамів тешо- та ентеровірусів свиней.

Найвищі титри вірусонейтралізуючих антитіл у специфічних імунних сироватках отримані під час чотириразового введення антигену з триденним інтервалом із застосуванням ад'юванту MONTANIDE ISA-25 ($10,33 \pm 0,21 - 11,33 \pm 0,21 \log_2$).

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу нових ад'ювантів на отримання специфічних імунних сироваток з високими титрами до тешо- та ентеровірусів свиней.

References

- Romanenko, V. P. (2001). Khvoroba Teshena (enzootychnyi entsefalomielit svynei) [Teschén's disease (swine enzootic encephalomyelitis)]. Kyiv, 64. (in Ukrainian)
- Melnychenko, O. M. (2002). Vychennia enterovirusnykh khvorob svynei klasychnym metodom [The study of porcine enterovirus diseases by the classical method]. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 1:64–66. (in Ukrainian)
- Derevianko, S. V., Soroka, V. I., Bova, T. O., Bokun, A. O. (2010). Imunolohichna reaktyvnist orhanizmu svynei na eksperymentalne vvedennia shtamiv tesho-, enterovirusiv svynei [Immunological reactivity of porcine organism to experimental introduction of porcine teschovirus and enterovirus]. *Biolohiia tvaryn*, 12 (2) : 398–402. (in Ukrainian)
- Golovko, A. M., Katzymon, V. V., Derevianko, S. V. (2011). Molekuliarno-henetychna identyfikatsiia teshovirusiv ta enterovirusiv svynei A i V [Molecular-genetic identification of porcine teschoviruses and enteroviruses A and B]. *Visnyk ahrarnoi nauky*, 11 : 33–37. (in Ukrainian)
- Derevianko, S. V., Reshotko, L. M., Dmytruk, O. O., Golovko, A. M., Katzymon, V. V. (2018). Udoskonalennia systemy diahnostryky ta spetsyficnoi profilaktyky teshovirusnoho entsefalomiielitu svynei (Khvoroby teshe-na) [Improvement of system diagnostic and specific prophylax of teschovirus encephalomyelitis (Teschén disease)]. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 32 (1) : 330–335. (in Ukrainian)
- Volkova, I. V., Bova, T. O., Derevianko, S. V. (2011). Pat. 58734 Ukrainy, MPK G01N 33/53 (2006.01) Sposib oderzhannya hiperimunnoyi syrovatky krovi do virusiv tvaryn i roslyn [A method for obtaining hyperine blood serum for animal and plant viruses]. *Byul. № 8*. (in Ukrainian)
- Awate, S., Babiuk, L., Mutwiri, G. (2013). Mechanisms of Action of Adjuvants. *Front. Immunol.*, (4):114. doi:10.3389/fimmu.2013.00114
- Leonard, J. D., Gilmore, D. C., Dileepan, T., Nawrocka, W. I., Chao, J. L., Schoenbach, M. H., Jenkins, M. K., Adams, E. J., Savage, P. A. (2017). Identification of natural regulatory t cell epitopes reveals convergence on a dominant autoantigen. *Immunity*, 47 (1): 107–117.
- Samelko, L., Caicedo, M. S., Jacobs, J., Hallab, N. J. (2019). Transition from metal-DTH resistance to susceptibility is facilitated by NLRP3 inflammasome signaling induced Th17 reactivity: Implications for orthopedic implants. *PLoS One*, 14 (1): 210–336.
- Billiau, A., Matthys, P. (2001). Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *Journal of Leukocyte Biology*, 70 (6): 849–860.
- Apostólico, J. de S., Lunardelli, V. A. S., Coirada, F. C., Boscardin, S. B., Rosa, D. S. (2016). Adjuvants: Classification, Modus Operandi, and Licensing. *Journal of Immunology Research*, (16):12. doi.org/10.1155/2016/1459394.
- Witte, K., Auerbach, J., Loss, K. (1994). Typisierung von 17 porzinen Enterovirusisolate aus Polioenzephalomyelitis-fällen der Jahre 1983–1991. *Deutsche-Tierärztliche-Wochenschrift*, 101 (12):482–484.
- Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M. (2015). Ratification vote on taxonomic pro-

- posals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology. (160):1837–1850.
- OIE Terrestrial Manual (2008). Teschovirus encephalomyelitis (previously enterovirus encephalomyelitis or Teschen/Talfan disease), 2 (8)10:1146–1152.
- Konovalova, O. M., Zubova, Z. F., Smirnova, V. N. (1967). Jenterovirusnye infekcii [Enterovirus infections]. Materialy nauchnoj konferencii. Sverdlovsk, 102–104. (in Russian)
- Graevskaja, N. A., Romanova, L. N., Nepomnjashnij, Ju. Z. (1965). Diagnostika bakteriálnyh kishhechnyh infekcij i jenterovirusy (preparaty i metody) [Diagnosis of bacterial intestinal infections and enteroviruses (drugs and methods)]. Materialy tret'ej Mezhdunarodnoj konferencii institutov vakcin i syvorotok socialisticheskikh stran. Moskva, 101–103. (in Russian)
- Romanenko, V. P., Polevyk, O. I. (1998). Patent na vynakhid UA 25055 C1 Nabir diahno-tykumiv enterovirusnoho hastroenterytu svynei [Patent for the invention UA 25055 C1. Diagnostic set of pigs enterovirus gastroenteritis]. Biuletén, (6)18. (in Ukrainian)
- Lukashev, A. N. (2006). Rol' rekombinacii v evolyucii nepoliomielitnyh enterovirusov [The role of recombination in the evolution of non-polio enteroviruses]: avtoref. dis. na soiskanie uch. stepeni d-ra med. nauk: spec. 03.00.06 «Virusologiya» (elektronnyj resurs). Moskva. <http://www.dissercat.com/content/rol-rekombinatsii-v-evolyutsii-nepoliomielitnykh-enterovirusov> (in Russian)
- Bögel, K., Mayr, A. (1961). Untersuchungen über die Chloroformresistenz der Enteroviren des Rindes und des Schweines. Zentralblatt für Veterinärmedizin, 8 (9): 908–922.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe (1986). Strasbourg, 52.

Muzykina, L. M., Halka, I. V., Mandyhra, S. S., Chekhun, A. I., Derkach, I. M. (2019). OBTAINMENT SPECIFIC IMMUNE SERA TO TESH- AND ENTEROVIRUS OF PIGS ON RABBITS. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences, 10(4): 6–13, <https://doi.org/10.31548/ujvs2019.04.001>

Abstract. The identification of porcine Tesho- and Enteroviruses and the study of their antigenic properties requires the presence of high quality specific immune sera. The aim of our studies was to obtain specific immune sera for porcine Tesho- and Enteroviruses by short scheme of the immunization of rabbit with two adjuvants for comparison. Five reference strains of porcine Tesho- and Enteroviruses were used as antigens (Bereznyansky, Talfan, T-80, F 7 and K 9). Three reduced regimens of the immunization of the rabbits have been applied. They provided two, three, and four times the number of injections with a three-day interval between them. The adjuvant MONTANIDE ISA-25 (Seppic, France) was used to reduce the occurrence of complications in the organism of the animal compared to the lanolin-petrolatum mixture. The highest titers of virus neutralizing antibodies in the specific immune sera $10.33 \pm 0.21 - 11.33 \pm 0.21 \log_2$ were received by us with four antigen administration at three-day intervals with the adjuvant MONTANIDE ISA-25. The use of the adjuvant of MONTANIDE ISA-25 facilitates the introduction of antigen blends, does not cause complications and promotes the activity of immune sera. The new rabbit immunization scheme, which provides four times the antigen injection at three-day intervals, provides specific antibodies in high titers.

Keywords: specific immune sera, teshoviruses, enteroviruses, immunization scheme

Подано до друку 14 вересня 2019 року