



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16963 (13) U
(51) МПК (2006)
C12N 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ШТАМ ВІРУСУ ЗАХІДНОГО НІЛУ (VIRUS NILI OCCIDENTALIS) № 3266 ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ СПЕЦИФІЧНИХ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

1

2

(21) u200511875

(22) 12.12.2005

(24) 15.09.2006

(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

(72) Лозинський Ігор Миколайович, Білецька Галина Вацлавівна, Козловський Михайло Михайлович, Рогочий Євген Георгійович, Семенишин Оксана Богданівна, Федорук Володимир Ілліч, Друль Оксана Стефанівна, Шоломей Михайло Володимирович

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ГІГІЄНИ МОЗ УКРАЇНИ, Лозинський Ігор Миколайович

(57) Штам вірусу Західного Нілу (Virus Nili Occidentalis) №3266, що відноситься до родини Flaviviridae, роду Flavivirus, комплексу японського енцефаліту, ізолюваний з крові грака, відстреленого в Чорноморському державному заповіднику "Ягорлицький кут" Херсонської області в 1980 році, депонований за № 54 від 01.01.2002 року в колекції арбовірусів Львівського НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України і є кандидатом для виготовлення специфічного діагностикуму та вакцини.

Корисна модель відноситься до медичної вірусології, а саме до лабораторної діагностики і профілактики захворювань, що викликаються вірусом Західного Нілу.

На сьогодні відомі кілька штамів вірусу Західного Нілу, які використовуються для виготовлення діагностичних та лікувально-профілактичних препаратів, серед яких найбільш широко вживаним для цих цілей в Україні є еталонний штам Eg-101 [1].

В Україні природних вогнищах Західного Нілу циркулюють відмінні від вищезгаданих штамів збудники цієї інфекції, що спричиняють захворювання серед людей [2, 3]. Однак промислове виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів із місцевих штамів до цього часу не налагоджено. Недоліком штаму Eg-101 є його нижча авідність та специфічність у порівнянні із місцевими штамми, що негативно відображується на антигенній активності та профілактичній ефективності виготовлених із них препаратів при застосуванні їх в Україні.

Завданням корисної моделі є новий оригінальний штам вірусу Західного Нілу, що є етіологічним чинником захворювань людей в Україні і потенційним кандидатом для виготовлення імунобіологічних препаратів для діагностики та профілактики даної інфекції.

Вирішити це завдання можливо шляхом використання штаму №3266 вірусу Західного Нілу, ізолюваного у Львівському НДІ епідеміології та гігієни з крові грака, відстреленого в Чорноморському державному заповіднику "Ягорлицький кут" Херсонської області в 1980 році. Даний штам депонований за №54 від 01.01.2002 року колекції арбовірусів Львівського НДІ епідеміології та гігієни, яка згідно Постанови Кабінету Міністрів України №1709 від 19.12.2001р. віднесена до наукових об'єктів, що становлять національне надбання України.

Штам 3266 відноситься до родини Flaviviridae, роду Flavivirus, комплексу японського енцефаліту і характеризується наступними ознаками. Він високпатогенний для лінійних і безпородних дорослих та новонароджених білих мишей. При зараженні викликає типову картину експериментального енцефаліту з інкубаційним періодом при внутрішньомозковому шляху зараження 3-5 днів (титр 8,0 Ig LD₅₀/0,1мл), при внутрішньоочеревинному шляху зараження - 4-7 днів, (максимальний титр 7,0 Ig LD₅₀/0,01мл). Індекс інвазивності - 1,0.

Переглянувши дані наведені в таблиці 1, можна зробити висновок, що штам №3266 відноситься до високовірулентних штамів даної групи вірусів.

(19) UA (11) 16963 (13) U

Таблиця 1

Характеристика штаму №3266 вірусу Західного Нілу за ступенем вірулентності для білих мишей

Штам	Вірулентність для білих безпородних мишей Ig LD ₅₀						
	нбм	3-тижневі			дорослі		
	іс	іс	ір	ІІ	іс	ір	ІІ
3266	9,6	8,0	7,0	1,0	7,5	6,5	1,0

Примітки:

1. іс - внутрішньомозкове інфікування.
2. ір - підшкірне інфікування.
- 3.11 - індекс інвазивності.
4. нбм - новонароджені білі миші.

Штам №3266 добре розмножується в перещеплюванні культурі клітин СНЕВ, викликаючи чітку деструкцію клітин на 3-4 добу (середньостатистичний титр вірусу в культуральній рідині становить 6,04 Ig LD₅₀ в 0,1мл з вираженням цитопатогенним ефектом), високопатогенний для лінійних і безпородних дорослих та новонароджених білих мишей. При зараженні викликає типову картину експериментального енцефаліту з інкубаційним періодом при внутрішньомозковому шляху зараження 3-5 днів, при внутрішньоочеревинному шляху зараження - 4-7 днів.

Гемаглютинуюча активність пропонованого штаму при репродукції в мозку мишей становить 1:320 в зонах рН6,0-6,4. Оптимальне значення рН - 6,0.

Антигенні властивості штаму №3266 вивчені в реакції зв'язування комплементу (РЗК). Антиген 3266 в реакції з гомологічною імунною сироваткою дав титр 1:160, з імунною сироваткою Eg-101 - 1:10. Спостерігається спорідненість штаму 3266 з іншими штамами вірусу Західного Нілу, що циркулюють на території України.

Отже, штам 3266 можна пропонувати для виготовлення імунобіологічних та діагностичних препаратів для РЗК, а також НРІФ, та РГГА.

Накопичення біомаси штаму №3266 вірусу Західного Нілу здійснюється класичним способом шляхом пасажування вірусмісного матеріалу в живих чутливих системах, в тому числі в організмі лабораторних мишей. Безпородних білих мишей вагою 6-8 грамів заражають у мозок по 0,03мл вірусною суспензією штаму №3266. При появі виражених паралічів на 4-5 добу мишей забивають за правилами евтаназії, асептично добувають мозок і шляхом розтирання мозку у фарфоровій ступці із додаванням фізіологічного розчину готують 10% зависину мозкової тканини. Отриману зависину

центрифугують при 1000-1500об/хв. протягом 10хв. Рідину, що утворилась над осадом використовують для зараження наступної партії мишей. Після проведення 2-3 пасажів інфікований мозок мишей використовується для приготування діагностичному [4].

Таким чином, штам №3266 вірусу Західного Нілу, спричиняє захворювання людей в Україні, проявляє спорідненість з іншими циркулюючими в Україні такого ж роду збудниками, має суттєві відмінності по ряду біологічних, проявляючи при цьому високу специфічність, антигенну, імуногенну та репродуктивну активність і відповідає регламентованим параметрам відбору штамів-кандидатів для виробництва імунобіологічних препаратів [5].

Використання цього штаму для виготовлення специфічного діагностичного та культуральної вакцини дозволить суттєво підвищити достовірність діагностики та ефективність профілактики захворювань лихоманкою Західного Нілу в Україні, та суміжних країнах де циркулюють споріднені збудники.

Джерела інформації:

1. Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. //Арбовирусы и арбовирусные инфекции. -М.: Медицина, -1989. -335с.
2. Виноград И.А. Арбовирусы в Украинской ССР и их медико-биологическое значение: Дис. д-ра мед. наук. -Львов, 1983. -505с.
3. Лозинський І.М., Виноград І.А. Арбовіруси та арбовірусні інфекції у лісостеповій зоні України //Мікробіол. журнал. -1998. -т.60, №2. -С.49-60.
4. Арбовирусы. Сборник научных трудов. - Москва, 1986 -180с.
5. Верета Л.А., Воробьева М.С. Природная гетерогенность и целенаправленный отбор штаммов вируса клещевого энцефалита //Москва.: Медицина- 1990. -123с.