



УКРАЇНА

(19) UA (11) 23820 (13) C2

(51) 6 A61K39/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ШТАМ ВІРУСУ ХВОРОБИ ГАМБОРО РОДИНИ BIRNAVIRIDAE ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИНИ ПРОТИ ХВОРОБИ ГАМБОРО

(21) 97031499

(22) 31.03.1997

(24) 15.03.2001

(46) 15.03.2001, Бюл. № 2, 2001 р.

(72) Герман Вячеслав Валентинович, Ольховик Лідія Андріївна, Герман Євген Вячеславович

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

(56) Вирусные вакцины: инфекционный бурсит (болезнь Гамборо), В.А. Сергеев, 1993, с. 328.

(57) Штам вірусу хвороби Гамборо родини Birnaviridae № 16/93 (колекція IEKBM) для виробництва вакцини проти хвороби Гамборо.

Изобретение относится к ветеринарной вирусологии и биотехнологии и может быть использовано при производстве вакцин против инфекционной бурсальной болезни птиц.

Важным средством борьбы против инфекционной бурсальной болезни, причиняющей значительный экономический ущерб, является вакцинопрофилактика. Вакцинные штаммы вируса инфекционной бурсальной болезни должны иметь слабую реактогенность, быть безвредными, высокоиммуногенными, не обладать реверсильностью при последовательных пассажах через организм прививаемых птиц и антигенно родственными с эпизоотическими штаммами.

Известны штаммы, применяемые для живых вирус-вакцин против инфекционной бурсальной болезни птиц: Lucert, ВНИВИП, Д-78, PBG 98,228 E, GP, S 706 и др. /Winterfield R.W., Thocker H.L., Immune response and pathogenicity of different strains of infections bursal disease virus applied as vaccines. Av. Dis., 1978. 22,4, p. 721–731.

Известен штамм "ВНИВИП", депонированный в государственной коллекции вирусов (Россия) под № 2200, который является авирулентным, генетически однородным штаммом вируса инфекционной бурсальной болезни, легко культивируется в культуре клеток куриных фибробластов с биологической активностью 10^{-5} – 10^{-6} ТЦД₅₀/мл (Алиев А.С. "Штамм вируса болезни Гамборо для производства вакцин". С 12 № 7/00. А 61 К 39/12; SU 1668392).

Известен штамм 228 Е, представляющий аттенуированный вирус инфекционной бурсальной болезни, прошедший 62 пассажа на СГФ-эмбрионах кур (Intervet International B.Y., P.O. box 31, 5830, A.A. Boxmeer, the Netherlands).

Однако недостатком вышеуказанных вакцинных штаммов является различная степень ан-

тигенного родства с эпизоотическими штаммами, циркулирующими в различных регионах и опасность контаминирования в процессе культивирования на куриных эмбрионах или культуре клеток куриного зародыша при отсутствии СГФ стад кур.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому объекту является штамм Д-78. Штамм Д-78 (Intervet, Голландия) – это клон полевого изолята вируса инфекционной бурсальной болезни, репродуцирующийся в культуре клеток куриного эмбриона (В.А. Сергеев. Вирусные вакцины: инфекционный бурсит (болезнь Гамборо): 1993, с. 328; Palya W. Manual for the production of Marek's disease, Gumboro disease and inactivated Newcastle disease vaccines. F.A.O. Rome, 1991, p. 47.

В отечественной ветеринарной практике нет штамма, пригодного для приготовления вакцины против инфекционной бурсальной болезни, что затрудняет разработку средств специфической профилактики против такого экономически значимого заболевания как инфекционная бурсальная болезнь.

Задача изобретения – новый штамм вируса инфекционной бурсальной болезни, характеризующийся высокой иммуногенностью и высокой репродуктивной активностью в культуре клеток эмбриональной почки овцы, соответствующий по антигенной структуре эпизоотическим штаммам, циркулирующим в птицеводствах Украины.

Поставленная задача решается использованием штамма вируса инфекционной бурсальной болезни "УМ-93" № 16/93, культивируемого на чувствительной биосистеме – культуре клеток почки эмбриона овцы, в отличие от широко распространенного использования культуры фибробластов куриного эмбриона с сохранением иммуногенности для цыплят.

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод, что заявляемый штамм от-

(19) UA (11) 23820 (13) C2

личается от известного вакцинного штамма Д-78, широко применяемого для специфической вакцинопрофилактики инфекционной бурсальной болезни, новым свойством – близким антигенным родством с эпизоотическими штаммами, циркулирующими в различных регионах Украины, а также способностью к репродукции в культуре клеток эмбриональной почки овцы, что соответствует критерию "новизна". Это свойство не обнаружено при анализе других известных штаммов, входящих в состав живых вирус-вакцин (СТ, SAL и др.), что позволяет сделать вывод о соответствии предлагаемого изобретения критерию "изобретательский уровень".

Штамм вируса "УМ-93" № 16/93 выделен от клинически больных цыплят при вспышке заболевания, типирован по данным РН, РНГА, РДП со специфическими антисыворотками, депонирован в коллекции микроорганизмов Института экспериментальной и клинической ветеринарной медицины под номером 16/93.

Штамм вируса "УМ-93" № 16/93 характеризуется следующими свойствами: вирус относится к семейству Birnaviridae, лишен оболочки, его геном состоит из двухцепочечной РНК. Репликация и сборка вируса происходит в цитоплазме, выход вирусных частиц осуществляется при разрушении клеток. Вирус устойчив к воздействию эфира и хлороформа, кислотоустойчив, термолабилен (3 час при 56 град. С). Не обладает гемагглютинирующей и гемадсорбирующей активностью.

Штамм активно репродуцируется в цитоплазме клеток эмбриональной почки овцы с проявлением цитопатического действия вируса через 72 часа после заражения, которое характеризуется округлением клеток, проявлением грануляций вокруг клеточного ядра, нарушением целостности монослоя. Титр вируса при этом составляет $10^{6.0}$ ТЦД₅₀/мл.

Введение цыплятам различного возраста штамма "УМ-93" № 16/93 в дозе $10^{3.5}$ ТЦД₅₀/мл

создает напряженный иммунитет, который обеспечивает защиту у 80 и более процентов цыплят от заражения вирулентным штаммом вируса инфекционной бурсальной болезни; штамм не реверсибелен после 3-х последовательных пассажей через восприимчивых цыплят.

Формирование невосприимчивости вакцинированной птицы при контрольном заражении вирулентным штаммом связано с выработкой вируснейтрализующих, вируспреципитирующих и других антител.

В лиофилизированном состоянии штамм вируса "УМ-93" № 16/93 сохраняет иммунобиологические свойства при хранении в условиях холодильника в течение 12 месяцев.

Способность штамма "УМ-93" № 16/93 вируса инфекционной бурсальной болезни продуцировать антиген, отличающийся степенью родства от антигенов известных вакцинных и эпизоотических штаммов вируса, циркулирующих в птицеводствах Украины, подтверждена в опытах по изучению антигенного родства в прямых и перекрестных серологических реакциях (РНГА и др.) между различными антигенами и антисыворотками. Эритроцитарные антигены и специфические сыворотки готовят в соответствии с требованиями действующих ТУ У (1995). Прямую и перекрестные РНГА ставят по общепринятой в вирусологии методике.

Результаты опыта представлены в таблице.

Таким образом, использование штамма "УМ-93" № 16/93 вируса инфекционной бурсальной болезни в качестве вакцинного штамма, антигенно родственного эпизоотическим штаммам возбудителя данного заболевания, позволяет повысить эффективность вакцинопрофилактики против инфекционной бурсальной болезни и снизить себестоимость целевого продукта за счет использования доступной гетерологичной биосистемы – культуры клеток эмбриональной почки овцы.

Оценка антигенного родства различных штаммов вируса инфекционной бурсальной болезни по данным РНГА

Сыворотки	Антигены						
	М-93**	УМ-93**	Бер-93**	ВГ-93**	Д-78*	SAL*	СТ*
М-93	1						
УМ-93	0,25	1					
Бер-93	0,18	0,71	1				
ВГ-93	0,13	0,5	0,25	1			
Д-78	0,13	0,25	0,25	0,71	1		
SAL	0,35	1	0,71	0,25	0,4	1	
СТ	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	0,71	1

Примечание: * – вакцинные штаммы;

** – эпизоотические штаммы;

показатели: 1 и 0,5 – близкое антигенное родство;

показатели ниже 0,5 – отдаленное антигенное родство.

Тираж 50 экз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03