



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16439 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 39/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ІЗОЛЯТ R-1 ЯК ПРОДУЦЕНТ АНТИГЕНУ РЕОВІРУСУ ПТАХІВ

1

2

(21) u200600695

(22) 26.01.2006

(24) 15.08.2006

(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.

(72) Пархоменко Людмила Іванівна, Пашенко Ольга Олексіївна

(73) ЛУГАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

(57) Ізолят R-1 як продуцент антигену реовірусу птахів, що зберігається в лабораторії вірусології науково-виробничого центру ветеринарної медицини птахівництва ЛНАУ, м.Луганськ.

Корисна модель, що передбачається, відноситься до ветеринарної вірусології, епізоотології та біотехнології, може використовуватись для приготування антигенів для діагностики авіреовірусної інфекції.

Реовірусна інфекція є економічно важливим захворюванням птахів як в світі, так і в Україні. Проте питання діагностики цієї інфекції на цей час залишаються недостатньо вирішеними.

Відомі штами авіреовірусів S1133 та UM 1203, які використовують на території України у якості вакцинних. [Guambrone J.J. Variety of clinical sings, lesions make reoviruses complex challenge // Poultry dig., 1990. - v. 49. - №9. - p. 15-18].

Відомі штами, ізольовані у США: 2177, 2035, 1733, які мають антигенну спорідненість між собою, проте розрізняються за рівнем патогенності для добових курчат та курячих зародків. Високопатогенним виявився штам 1733, який був реізольований із тимусу, бурси Фабріціуса [Roessler D.E., Rosenberger J.K. In vivo and in vitro characterization of avian reoviruses. 3. Host factors affecting virulence and persistence. // Avian Dis., 1989. - v. 33. - №3. - p. 555-565].

Відомий високопатогенний штам 58-132, ізольований в Японії. [Takase K., Nishikawa H., Matsuo K., Yamamoto M. Immunological studies on highly virulent avian reovirus strain 58-132. // J. Japan Veter. Med. Assn., 1989. - v. 42. - 2. - p. 108-111.]

Проте в кожній країні визначається свій антигенний пейзаж серед вірусів, що населяють ту чи іншу популяцію тварин. Це відноситься й до реовірусів птахів. Виникає необхідність визначення антигенних властивостей реовірусів, ізольованих на території України, для подальшого виготовлення

засобів специфічної профілактики проти реовірусної інфекції.

Ізолят реовірусу птахів R-1 може бути використаний для накопичення вірусної біомаси, з метою виготовлення антигену для серологічних реакцій (реакції непрямой гемаглютинації (РНГА), реакції дифузної преципітації (РДП)), для імунізації тварин-донорів та одержання позитивних сироваток, з антитілами до реовірусу птахів. Може бути використаний у якості антигену для виготовлення вакцини проти авіреовірусної інфекції.

Ізолят R-1 реовірусу птахів було виділено від діагностичне забитої птиці, віком 150 діб. Клінічні ознаки, що реєструвалися при огляді хворої птиці: відставання в рості та розвитку, кульгавість, ураження гомілковостопного суглобу. Серологічні дослідження виявили наявність антитіл до реовірусу птахів в сироватці крові хворої птиці у високих титрах.

Індикацію ізоляту R-1 проведено з використанням курячих зародків 9-денної інкубації, гусячих зародків 11-денної інкубації та перещеплюваної культури клітин нирки зеленої макаки -VERO шляхом послідовних пасажів суспензії патологічного матеріалу. Ідентифікацію проведено на основі цитопатичної дії вірусу в культурі клітин, визначення електрофоретичного профілю вірусних білків у поліакріламідному гелі та серологічних досліджень.

Ізолят зберігається у морозильних шафах при температурі -20°C у вірусологічній лабораторії науково-виробничого центру птахівництва Луганського національного аграрного університету. Вірусний ізолят R-1 відноситься до родини Reoviridae, роду Reovirus.

(19) UA (11) 16439 (13) U

Біологічні властивості ізоляту наведено нижче.

Прикладі. Культивування ізоляту R-1 у курячих зародках супроводжувалося набряком ХАО (100%, 80% - відповідно пасажу), затримкою в рості та розвитку (20%, 40%), застійними явищами у внутрішніх органах (100%, 100%), збільшенням нирок (60-80%). У першому пасажі спостерігалися вогнища некрозу на ХАО (20%), а некрози у печінці зародку реєстрували на 2 пасажі (20%). Загибель зародків склала 20 та 40%, відповідно пасажу.

Культивування ізоляту у гусячих зародках виявило схожі зміни, що і при ізоляції R-1 у курячих зародках. Так, набряк ХАО спостерігали впродовж двох пасажів. Порівняно із курячими зародками, затримку в рості та розвитку гусячих зародків спостерігали частіше. Ізолят R-1 - у першому пасажі викликав вищевказані зміни у 40% та 60% випадків

(відповідно пасажу), у другому пасажі - 60 та 40%.

Репродукція ізоляту у гусячих зародках не супроводжувалася застійними явищами у внутрішніх органах зародків.

Загибель гусячих зародків спостерігалася при культивуванні ізоляту R-1 у другому пасажі (20% випадків).

Приклад 2. Визначення інфекційної активності реовірусу, ізолюваного у вищевказаному випадку, проводили при інфікуванні 5-добових курчат.

Біопроба на курчатах показала наступні результати (таблиця 1). Клінічні ознаки реєстрували вже на 2 добу після інфікування, які характеризувалися появою проносу білуватого кольору та пригніченим станом заражених курчат, порівняно з контрольними.

Таблиця 1.

Результати біопроб на курчатах ізоляту реовірусу R-1.

Дослідні курчата		Серологічні дослідження в РНГА, титр антитіл щодо реовірусу			Маса тіла курчат на 7 добу п/з, г	Прояв клінічних ознак
		На 10 добу п/з	Через 2 тижні п/з **	Через 3 тижні п/з **		
Інфіковані	1	1:8	-	1:8	80±5,12	-
	2	1:4	1:4	-		+
	3	1:32	-	1:16		+
	4	1:16	***	-		+
	5	1:16	1:8	-		+
	6	1:32	-	1:64		+
К*		-	-	1:2	100±5,12	-

К* - контрольні курчата (n=5)

** - діагностичний забій, *** - загинув на 12 добу після зараження

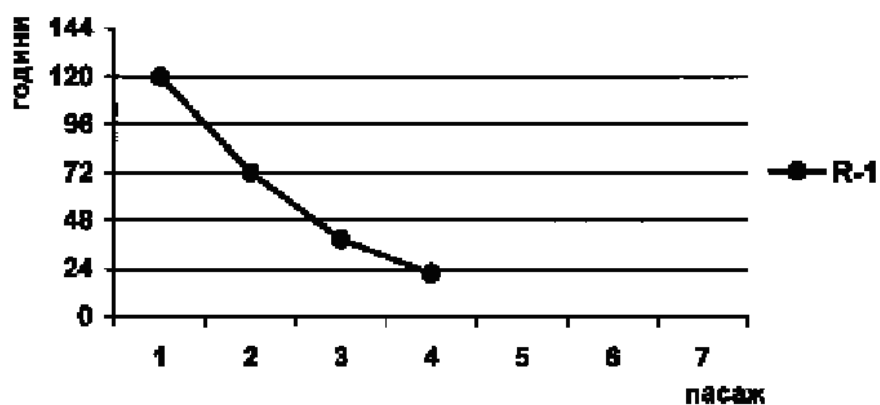
Надалі ці ознаки посилювалися, а також відмічали відставання в рості, опущення крилів, нерівномірне оперення, збільшення гомілкових суглобів, слабкість кінцівок, деякі особини не утримувалися на кінцівках. Необхідно відзначити швидке погіршення клінічного стану дослідної птиці. Через тиждень після інфікування, захворюваність склала 67%, через два тижні - 80%. Серологічні дослідження сироваток крові виявили наявність антитіл щодо реовірусу птахів у діагностичних титрах. Через тиждень після інфікування було відмічено значну різницю в масі інфікованих та інтактних курчат.

Приклад 3. При культивуванні у перещеплюваній культурі клітин VERO, ізолят R-1, викликав цитопатичну дію (ЦПД) вже у першому пасажі. Зі збільшення кількості пасажів термін проявлення ЦПД скорочувався. Так, у 2 пасажі округлення клі-

тин, утворення синцитію та ділянок дегенерації клітин спостерігалася через 72 години, у 3 пасажі - через 38,4 години, а у 4 - через 21,6 год. Інфекційна активність ізоляту склала $6,5 \log_{10} \text{ TCID}_{50}/\text{см}^3$ (після 4^{го} пасажу).

Вірусний ізолят R-1 реовірусу птахів має високі репродуктивні властивості і може бути використаний для накопичення вірусної біомаси, її концентрування та очистки для виробництва діагностичних антигенів, отримання гіперімуних сироваток до авіреовірусу та виготовлення вакцини.

Приклад 4. При проведенні електрофорезу вірусних білків ізоляту R-1 у поліакриламідному гелі, виявлено основний білок серцевини реовірусу -λ1, на основі цього R-1 можна віднести до родини Reoviridae, роду Reovirus.



Фіг.