



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **104825** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
C12N 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 06841	(72) Винахідник(и): Стегній Борис Тимофійович (UA), Музика Денис Васильович (UA), Стегній Антон Борисович (UA), Рула Олександр Миколайович (UA), Кошелєв Василь Вікторович (UA)
(22) Дата подання заявки: 10.07.2015	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.02.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.02.2016, Бюл.№ 4	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)

(54) ШТАМ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОЇ БУРСАЛЬНОЇ ХВОРОБИ KHARKIV'12

(57) Реферат:

Штам вірусу інфекційної бурсальної хвороби - Kharkiv'12, виділений з біологічного матеріалу від хворого курчати, для виготовлення інактивованих вакцин та діагностичних тест-систем.

UA 104825 U

Корисна модель належить до ветеринарної вірусології та біотехнології і може використовуватися як виробничий штам для виготовлення інактивованих вакцин для специфічної профілактики інфекційної бурсальної хвороби, а також для виготовлення специфічних антигенів тест-систем для серологічної діагностики інфекційної бурсальної хвороби у відповідності до міжнародних стандартів. Крім того зазначений вірус може бути використаний для проведення наукових досліджень як модельний вірус.

Інфекційна бурсальна хвороба - вірусна висококонтагіозна хвороба птиці, переважно 2-15-тижневого віку, що супроводжується переважно діареєю, ураженням фабрицієвої сумки, значно менше - ураженням інших лімфоїдних органів, наявністю крововиливів в грудних м'язах, в м'язах крил, стегон та на слизовій оболонці на межі залозистого та м'язового шлунків.

Вірус IBX проникає в організм птиці пероральним шляхом, протягом декількох годин після зараження виявляють у макрофагах та лімфоїдних клітинах шлунково-кишкового тракту, включаючи сліпу, дванадцятипалу та тонку кишку, а також печінку. Незабаром після цього, вірус входить в першу фазу віремії, що дозволяє йому досягти цільового органа - фабрицієвої сумки, де і відбувається реплікація. Дана реплікація відповідає за різні морфологічні зміни органа, макроскопічні та мікроскопічні пошкодження, що призводять до масової загибелі В-лімфоцитів, пояснюючи виснаження лімфоїдних фолікулів фабрицієвої сумки. Важливим стало те, що вірус Гамборо дуже мінливий у своїй патогенності, вірулентності та у своїх антигенних властивостях, тому не можна відносити один тип вірусу до однієї певної клінічної форми.

На даний час для приготування вакцинних препаратів та діагностиків використовують штами Д-78, "Винтерфильд" - 2512, S-706, 228Е, але вони не є епізоотично актуальними для України, препарати виготовлені на основі цих штамів не відповідають у повному обсязі сучасним вимогам для нашого регіону.

В основу корисної моделі поставлено задачу одержати штам вірусу інфекційної бурсальної хвороби Kharkiv'12 шляхом виділення низькопатогенного ізоляту, відібраного від хворого курчати з птахофабрики Харківської області.

Штам Kharkiv'12 виділено шляхом клонування та проведення дев'яти послідовних пасажів на курячих ембріонах 9 добового віку.

При вивченні його біологічних (здатності культивуватися в курячих ембріонах, патогенності, рецепторної специфічності, здатності викликати імунну відповідь) та морфологічних властивостей встановлено, що цей штам є вірусом інфекційної бурсальної хвороби та може бути використаний як виробничий вірус для виготовлення вакцин та діагностичних тест-систем відповідно до міжнародних рекомендацій та стандартів.

Штам вірусу інфекційної бурсальної хвороби птиці зареєстрований та зберігається у колекції мікроорганізмів відділу вивчення хвороб птиці Національного наукового центру "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини", м. Харків, вул. Пушкінська, 83, Україна, під № 3-07: родина Avibirnavirus, рід Birnavirus, вид Infectious Bursal Disease.

Штам характеризується наступними властивостями:

Морфологічні властивості: молекулярна маса віріону складає 55×10^6 Д, розмір близько 58-60 нм в діаметрі, коефіцієнт седиментації 460 S в градієнті сахарози, плавуча щільність повних віріонів в градієнті хлористого цезію - 1,33 г/см. Складові віріону: зовнішньої ліпоротеїдної оболонки немає, капсид ікосаедричний, складається приблизно з 132 білкових морфологічних субодиниць, включає п'ять поліпептидів: VP1, VP2, VP3, VP4 та VP5. РНК складає 9-10 % від ваги вірусної частинки. Розміри сегментів - 3129 (сегмент А) і 2795 (сегмент В) пар нуклеотидів.

Стійкість до дії зовнішніх чинників та хімічних речовин: вірус досить термостабільний і не інактивується при 60 °С протягом 30 хв, при 25 °С зберігає активність протягом 21 дня; стійкий в діапазоні рН від 3 до 9; стійкий до хлороформу, не змінює інфекційних властивостей при впливі 0,5 % розчину формаліну протягом 6 годин. Інфекційна активність інактивується формальдегідом, β-пропіолактоном. Стабілізується у ліофілізованому вигляді та при низьких температурах.

Культуральні ознаки: вірус культивується в курячих ембріонах 9-11-добового віку, протягом 120-146 годин інкубування біологічна активність вірусу складає до $8,37 \lg \text{EID}_{50/0,2 \text{ см}^3}$.

Підтримання штаму проводять шляхом зберігання у ліофілізованому вигляді за температури мінус 20 °С, а також у рідкому стані за температури від мінус 70 °С до мінус 80 °С

Стабільність біологічних властивостей зберігає впродовж 5 пасажів від матриці (період спостереження).

Патогенність штаму. Вірус патогенний, належить до вірусів інфекційної бурсальної хвороби, через 48-72 години починає викликати загибель інфікованих курячих ембріонів у розведеннях від 10^{-1} до 10^{-4} . Через 4 доби після інфікування 25-добових курчат інтраокулярним методом у

дозі 10^3 ЕЛД_{50/0,2см³} у кількості 0,2 см³ зафіксували клінічні прояви захворювання, через 5 діб спостерігали летальні прояви.

Антигенні властивості. Одноразове введення інактивованого препарату вірусу у суміші з масляним ад'ювантом викликає напрацювання специфічних антитіл у сироватці крові курей в титрі $425,87 \pm 4,32$ та вище через 30 діб.

Таким чином, при вивченні біологічних властивостей вірусу були отримані результати, які свідчили про те, що цей вірус є патогенним, за морфологічними та культуральними властивостями повністю відповідає вірусу інфекційної бурсальної хвороби, має високу біологічну активність та хорошими антигенними властивостями, здатен викликати напрацювання специфічних антитіл у імунізованій птиці в високих титрах та може бути використаний як виробничий штам вірусу для виготовлення діагностичних тест-систем та інактивованих вакцин проти інфекційної бурсальної хвороби відповідно до міжнародних рекомендацій та стандартів.

15 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Штам вірусу інфекційної бурсальної хвороби, виділений з біологічного матеріалу від хворого курчати, для виготовлення інактивованих вакцин та діагностичних тест-систем.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601