



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115005** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C12N 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 11266	(72) Винахідник(и): Корнейков Олександр Миколайович (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA), Прохорятова Олена Валентинівна (UA), Вовк Сергій Іванович (UA), Стегній Марина Юріївна (UA), Олешко Андрій Юрійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 07.11.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.03.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.03.2017, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)

(54) ШТАМ BOVINAЕ HERPESVIRUS-1 "МОЛДАВСЬКИЙ" ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИНИ

(57) Реферат:

Штам Bovinae herpesvirus-1 "Молдавський" для виробництва вакцин, виділений від теляти з клінічними ознаками ринотрахеїту та задепонований в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів за № 591 від 02.12.2013 р. Родина Herpesviridae, рід Varicelloviridae, вид Herpesvirus bovis 1.

UA 115005 U

Корисна модель належить до ветеринарної вірусології та біотехнології і може використовуватись для виготовлення інактивованих вакцин проти інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби (IPT ВРХ).

Збудник інфекційного ринотрахеїту ВРХ викликає гостру, контагіозну хворобу в рогатій худоби, яка характеризується респіраторним синдромом, тому що герпесвірус 1 серотипу викликає катарально-некротичні ураження респіраторного тракту, що супроводжується загальним пригніченням, лихоманкою, кон'юнктивітами, запаленням слизових всього респіраторного тракту з кашлем, рясним слизовим витіканням з носу та утворенням піноподібної слини.

Інфекційний ринотрахеїт ВРХ наносить скотарству значні економічні збитки, які складаються зі зниження продуктивних показників у корів до 60 %, народження молодняку з ослабленою імунною системою, що призводить до високої захворюваності новонароджених телят пневмоентеритами, як наслідок - відставання телят у рості, збільшення конверсії корму та/або зростання загибелі. Вакцинопрофілактика має важливу роль в комплексі протиепізоотичних заходів щодо боротьби з цією інфекцією. Для профілактики IPT ВРХ використовують, як живі, так і інактивовані вакцинні препарати. Живі вакцини виготовляються з атенуованих (ослаблених) штамів вірусу IPT, але ці штами викликають пригнічення імунних клітин та знижують гуморальний імунітет у тварин. Вакцинні штами цього вірусу спроможні рекомбінувати генами з польовими штамами вірусу, за таких умов вони спроможні змінювати свої патогенні властивості та викликати активування інфекції в стаді.

Найбільш близьким є вірулентний штам інфекційного ринотрахеїту "ТК-А/К", який використовується для виготовлення інактивованої вакцини [Пат. РФ № 2279474, А61К 39/265, С12N 7/00, 10. 07. 2006]. Цей вірус культивується в перещеплюваній лінії культурі клітин МДВК з інкубацією за температури від 36,0 до 37,0 °С від 48 годин до 7 діб з максимальним накопиченням від 7,0 до 7,75 ІгТЦД_{50/0,1см³}.

Недоліком даного штаму є недостатньо високий рівень накопичення вірусу в культуральній системі. Ця властивість не дозволяє отримувати необхідну кількість вірусного антигену в імунізуючій дозі з метою забезпечення належного захисту тварин від епізоотичних штамів вірусу IPT ВРХ.

В основу корисної моделі поставлено задачу отримати штам герпесвірусу-1 "Молдавський" великої рогатої худоби, який має високу біологічну, антигенну активність і зберігає свої антигенні властивості після інактивації та придатного для виробництва високоімуногенних вакцинних препаратів (з неконцентрованого вірусу), та забезпечує захист поголів'я ВРХ від епізоотичного збудника IPT ВРХ.

Технічний результат від використання корисної моделі складається в поширенні арсеналу безпечних штамів вірусів IPT ВРХ, які володіють високою біологічною, антигенною та імуногенною активністю та зберігають свої імунобіологічні властивості після інактивування та придатних для виготовлення інактивованих високоефективних вакцинних препаратів.

Цей технічний результат досягнуто отриманням штаму інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби "Молдавський", що був виділений від теляти з клінічними ознаками ринотрахеїту (слизові витікання з носу, кон'юнктивіт, сухий хворобливий кашель) у неблагополучному господарстві Харківської області. Вірусний ізолят був адаптований до перещеплюваних ліній культур клітин НТ (нирка теляти), НВ (нирка вівці), КСТ (коронарних судин теляти), МДБК (нирка теляти), ТТр (трахея теляти), ЛЕК (легені ембріона корови). Штам належить до родини Herpesviridae, рід Varicelloviridae, вид Herpesvirus bovis 1.

Штам вірусу IPT ВРХ був задепонований у Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (Україна, м. Київ, вул. Донецька, 30) за № 591 від 02.12.2013 р., та зберігається в депозитарії Національного наукового центру "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини" (Україна, м. Харків, вул. Пушкінська, 83) за інвентарним номером 43.

Штам інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби "Молдавський" відрізняється від прототипу більш високою біологічною, антигенною та імуногенною активністю. Експериментально підтверджено можливість його використання для інактивованих засобів профілактики IPT ВРХ. Штам характеризується наступними ознаками та властивостями.

Культурально-морфологічні ознаки. Морфологія вірусу, його форма та розмір є типовим для родини герпесвірусів. Віріони округлої форми, діаметр їх 120-180 мкм, усіяні протеїновими капсомерами, які знаходяться в мембрані навколо нуклеїнової кислоти. Нуклеїнова кислота - ДНК двонитчаста, мол. М. 92-102 кД.

В серологічних реакціях - РН, ІФА, РНГА та ін. виявляються антигени загальні для усіх штамів герпесвірусу ВРХ.

Вірус культивується в перещеплюваних культурах клітин нирки теляти, нирки вівці, трахеї теляти, легенів ембріону корови, коронарних судин телят. Максимальна інфекційна активність вірусу IPT отримана в культурі клітин HT за умов культивування за температури від 37,0 до 38,0 °C протягом 24-36 годин (7,8-8,4) $\text{lg TCID}_{50/0,1\text{cm}^3}$.

5 Чутливий до жиркових розчинників - хлороформу, ефіру, ацетону і спирту. Значно знижує інфекційну активність та поступово інактивується за температури 56 °C через 20 хв, за температури 37 °C через 4-10 діб, за умов кімнатної температури (20,0-22,0)°C за 50 діб, за температури 4 °C за 7 діб. Найкраща температура для тривалого зберігання вірусу IPT штаму "Молдавський" від мінус 12 °C та нижче.

10 Патогенні властивості. Широко розповсюджений у всіх географічних районах земної кулі, зараження відбувається горизонтальним шляхом (аерогенним, аліментарним, контактним, половим) та вертикальним (внутрішньоутробним) шляхом.

Біологічні властивості. Стабільні.

15 Серологічні властивості. Вірус має гемаглютинуючі властивості, які обумовлені наявністю гемаглютинінів, глікопротеїну g97 на поверхні шипиків віріонів. Аглютинація вірусу проходить з еритроцитами мишей. Головні нейтралізуючі епітопи розташовані на гемаглютиніні.

Антигенні властивості. В організмі теляти утворює віруснейтралізуючі, комплементз'вязуючі, преципітуючі та гемаглютинуючі антитіла.

20 Імуногенні властивості. Парентеральне введення вірусу стимулює вироблення віруснейтралізуючих антитіл, що забезпечує захист тварин при експериментальному зараженні.

Біотехнологічні властивості. Стандартні для первинних та перещеплюваних клітинних культур.

Основні умови зберігання. Заморожування за температури нижче 20 °C, ліофілізація.

Підтримання штаму проводять шляхом репродукції на чутливих культурах клітин.

25 Штам проявляє характерні ознаки збудника інфекційного ринотрахеїту. Вірус нешкідливий в інактивованій вакцині. Штам інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби "Молдавський" володіє більш високою біологічною, антигенною та імуногенною активністю.

Таким чином, стабільність властивостей штаму дозволяє використовувати його при виробництві вакцин.

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Штам Bovinae herpesvirus-1 "Молдавський" для виробництва вакцин, виділений від теляти з клінічними ознаками ринотрахеїту та задепонований в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів за № 591 від 02.12.2013 р., родина Herpesviridae, рід Varicelloviridae, вид Herpesvirus bovis 1.

35

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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

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