



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83507** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**C12N 7/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 04787</b>	(72) Винахідник(и): <b>Музика Денис Васильович (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>15.04.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.09.2013</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.09.2013, Бюл.№ 17</b>	

## (54) ШТАМ ВІРУСУ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ ПТИЦІ НХ/КРИЖЕНЬ/АСКАНІЯ-НОВА/ТМ434778/2002

### (57) Реферат:

Штам вірусу ньюкаслської хвороби птиці НХ/крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 виділений з природного резервуару вірусів - диких птахів, для виготовлення вакцин, діагностичних тест-систем, депонований в Державному науково-дослідному інституті біотехнологій та штамів мікроорганізмів за номером №451.

UA 83507 U



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

Ньюкаслська хвороба (НХ) - високонконтагіозне захворювання птиці, яке зареєстровано на всіх континентах та згідно з Міжнародним Епізоотичним бюро (МЕБ) належить до особливо небезпечних інфекцій птиці.

За патогенністю всі виділені та охарактеризовані штами вірусу НХ поділяються на велогенні (наприклад, Т, Сато, Мідера), мезогенні (наприклад, Н, Комаров, Муктесвар, Роакін) та лентогенні (наприклад, В1, F, Ла-сота, Бор/74). Біологічні властивості польових ізолятів вірусу можуть значно відрізнятися за патогенністю, тропізмом (можуть бути вісцеротропні, ентеротропні, пневмотропні (OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. - Paris.-2004. -v.2,-464-485 p.).

Основними заходами профілактики НХ є суворе дотримання ветеринарно-санітарних вимог та проведення обов'язкової вакцинації з контролем напруженості імунітету (Allan W.H., Lancaster J.E. & Toth B. (1978). Newcastle Disease Vaccines. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy). Для вакцинації свійської птиці, залежно від епізоотичної ситуації можуть бути використані лентогенні або мезогенні штами вірусів у складі живих та інактивованих вакцин. Одним з основних методів діагностики захворювання у птиці, а також основним методом оцінки після вакцинального рівня специфічних антитіл та напруженості імунітету є реакція затримки гемаглютинації (РЗГА). Головним компонентом при постановці РЗГА є інактивованій гемаглютинуючий антиген вірусу ньюкаслської хвороби, який повинен бути епізоотично актуальним, високоактивним та бути низькопатогенним для сільськогосподарської птиці. Враховуючи той факт, що серед вірусів ньюкаслської хвороби 1 серотипу за антигенними властивостями виділяють дві групи вірусів: отримані від голубів, так звані "голубині" віруси, а також усі інші віруси, то у арсеналі діагностичних ветеринарних лабораторій повинні бути інактивовані антигени отримані від різних хазяїв.

В основу корисної моделі поставлено задачу виділити лентогенний виробничий штам вірусу НХ/Крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 шляхом виділення низькопатогенного ізоляту вірусу НХ птиці з природного резервуару вірусів - диких птахів, для виготовлення вакцин проти ньюкаслської хвороби, а також для виготовлення антигенів для діагностичних тест-систем.

Штам НХ/крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 виділений від крижня (*Anas platyrhynchos*) в Заповіднику "Асканія-Нова" в 2002 році. При вивченні його біологічних (здатності культивуватися в курячих ембріонах, патогенності, рівня гемаглютининів, рецепторної специфічності, здатності викликати імунну відповідь) та морфологічних властивостей встановлено, що цей вірус є лентогенним вірусом ньюкаслської хвороби, має високі гемаглютинаційні властивості та може бути використаний як виробничий вірус для виготовлення вакцин та діагностичних тест-систем відповідно до міжнародних рекомендацій та стандартів.

Штам вірусу ньюкаслської 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 № 7-17: родина *Paramyxoviridae*, рід *Paramyxovirus*, вид *Newcastle Disease virus*. Крім того штам вірусу НХ/крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 депонований в Державному науково-дослідному інституті біотехнологій та штамів мікроорганізмів за номером № 451.

Штам характеризується наступними властивостями:

Морфологічна будова: в підготовлених зразках при проведенні електронно-мікроскопічних досліджень методом негативного контрастування чітко видні плеоморфні віріони, округлої та продовгуватої форми. Розмір округлих віріонів коливався від 160 до 220 нм, довжина продовгуватого віріону становила 360 нм ширина 70-100 нм. На поверхні віріонів чітко видно виступи довжиною приблизно 8 нм.

Стійкість до дії зовнішніх чинників та хімічних речовин: вірус швидко руйнується за температури 56° С та вище, не стійкий до дії розчинників жирів, швидко руйнується під дією ультразвуку. Розчини формаліну (1-2 %), фенолу (3-4 %), гідроксиду натрію (1-2 %) його знешкоджують.

Культуральні ознаки: вірус культивується в курячих ембріонах 9-11-добового віку з накопиченням гемаглютининів в титрах 1:2048-1:4096. Інфекційний титр становить 7-7,78 Ід<sub>50/0,2 мл</sub> Вірус не викликає загибель КЕ протягом 120 годин (строк спостереження).

Підтримання штаму проводять шляхом зберігання у ліофілізованому стані 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 3 пасажів від матриці (період спостереження).

5 Патогенність штаму

Вірус належить до лентогенних вірусів ньюкаслської хвороби - він не викликає загибелі курячих ембріонів протягом 120 годин (термін спостереження). Це також підтверджено за результатами секвенування геному вірусу. Сайт розрізання білку F<sub>0</sub> цього вірусу мав послідовність амінокислот <sup>112</sup>GKQGR-L<sup>117</sup>, яка характерна для апатогенних (лентогенних) вірусів ньюкаслської хвороби. За результатами секвенування він віднесений до першого генотипу вірусів ньюкаслської хвороби, до яких належать ранні штами вірусу НХ, а також багаточисельні штами ізольовані в різних країнах від диких водоплавних - природного резервуару АРМВ-1. Найближчі сусіди по філогенетичному дереву цього штаму виділені в Норвегії, Великобританії, Ірландії в 1999-2000 роках.

15 Антигенні властивості

Одноразове введення інактивованого препарату вірусу у суміші з масляним ад'ювантом викликає напрацювання специфічних антитіл у сироватці крові курей в титрі 8 log<sub>2</sub> та вище через 30 діб.

20 Рецепторна специфічність. Визначення рецепторної специфічності штаму проводили за допомогою реакції гемаглютинації. Оцінку проводили за наявністю чи відсутністю аглютинації та її титру. Для постановки РГА використовували еритроцити диких (чернь червонодзьоба, галагаз, білощока казарка, огар, білолоба гуска, сіра гуска, журавель сірий, біла гуска, крижень) та свійських птахів (курка, індик, цесарка, качка, гуска, мускусна качка), а також еритроцити ссавців (велика рогата худоба, коза, кінь, баран). Нами встановлено, що вірус ньюкаслської хвороби крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 викликає аглютинацію еритроцитів усіх видів птиці в титрах 1:256-1:1024 та тварин - 1:128-1:1024. На відміну від класичного лентогенного штаму "Ла-Сота", який не аглютинує еритроцити коней, штам НХ/крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002 викликає аглютинацію еритроцитів коней в титрі 1:1024.

30 Таким чином, виділений вірус Н.Х. може бути використаний як виробничий штам вірусу для виготовлення діагностичних тест-систем та інактивованих вакцин проти ньюкаслської хвороби відповідно до міжнародних рекомендацій та стандартів.

### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

35 Штам вірусу ньюкаслської хвороби птиці НХ/крижень/Асканія-Нова/ТМ434778/2002, виділений з природного резервуару вірусів - диких птахів, для виготовлення вакцин, діагностичних тест-систем, депонований в Державному науково-дослідному інституті біотехнологій та штамів мікроорганізмів за номером № 451.

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

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

---

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