



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84126** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C12N 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 04726	(72) Винахідник(и): Музика Денис Васильович (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 15.04.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2013	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19	

(54) ШТАМ ВІРУСУ НИЗЬКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ А/МАРТИН ЗВИЧАЙНИЙ/УТЛЮК/2-2-08/11 ПІДТИПУ H16N3

(57) Реферат:

Штам вірусу низькопатогенного грипу птиці А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 підтипу H16N3, виділений з клоакального змиву дорослого клінічно здорового мартина звичайного, (*Larus ridibundus*) для виготовлення ветеринарних імунобіологічних препаратів.

UA 84126 U

Корисна модель стосується ветеринарної вірусології та біотехнології і може використовуватися для виготовлення ветеринарних імунобіологічних препаратів (діагностичних тест-систем).

Сучасна діагностика грипу птиці базується на використанні сучасних діагностичних тест-систем, до складу яких входять актуальні епізоотичні виробничі штами вірусів, які за антигенними, імуногенними та молекулярно-генетичними властивостями найбільш відповідають епізоотичним штамам вірусів, що циркулюють серед диких, свійських птахів та здатні викликати захворювання на даний час.

Відомо 16 підтипів гемаглютиніни та 9 підтипів нейрамінідази вірусів грипу А. За деякими даними в 2012 році від кажанів ізолювано вірус грипу з 17 підтипом гемаглютиніну та 10 підтипом нейрамінідази [New influenza virus discovered in Guatemalan fruit bat. Press Release CDC, For Immedia ReleasFebruary 27,2012. http://www.cdc.gov/media/releases/2012/pO227_Guatemala_Fruitbats.html].

Що стосується вірусів грипу підтипу H16, то вперше віруси цього підтипу були ізолювані в 1999 році в Швеції. На сьогоднішній день згідно даних GeneBank існує 45 описаних та охарактеризованих вірусів грипу птиці підтипу H16N3. Ці віруси були ізолювані в різних географічних зонах світу та в різних країнах (Норвегії, Данії, Швеції, Канаді, США, Російській Федерації, Монголії, Туркменістані, Казахстані). Більшість з них ізолювані в період з 1999 до 2010 роки від мартинів та крячків різних видів. Крім того, є декілька повідомлень, щодо виділені віруси цього підтипу від диких качок деяких видів [NCBI Influenza Virus Database <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/nph-select.cgi>].

Заявлений штам А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 (H16N3) схожий з вище переліченими аналогами. За результатами секвенування цей вірус є дуже близький за генетичними властивостями до вірусу грипу птиці А/мартин звичайний/Монголія/1756/2006, але по суті являє собою новий, оригінальний в антигенному відношенні вірус. Штам стосується вірусів грипу А з гемаглютиніном підтипу H16. Має підтип нейрамінідази N3, є низькопатогенним для птиці. Він відрізняється від вищенаведених вірусів новими антигенними та молекулярно-генетичними властивостями. Крім того, це перший вірус цього підтипу, що було ізолювано в Україні.

В основу корисної моделі поставлено задачу виділити штам низькопатогенного вірусу грипу птиці А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 підтипу H16N3 шляхом виділення ізоляту вірусу грипу птиці з низькою патогенністю з природного резервуару збудників - диких водоплавних та наводноводних птахів.

Штам вірусу грипу А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 (H16N3) був виділений у серпні 2011 році з клоакального змиву дорослого клінічно здорового мартина звичайного (*Lams ridibundus*), який був відловлений на р. Великий Утлюк поблизу с. Давидівка Якимівського р-ну Запорізької області. Біологічний матеріал від диких птахів було відібрано під час моніторингових досліджень диких водоплавних та наводноводних птахів в Запорізькій області під час після гніздових переміщень та початку осінньої міграції. Штам вірусу грипу 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 № 12/16/1: родина Orthomyxoviridae, під Influenza virus A.

Штам характеризується наступними властивостями:

Морфологічні ознаки: віріони мають округлу, ниткоподібну, грушоподібну форми діаметром 80-120 нм, ікосаедрального типу симетрії, нуклеокапсид спіральної симетрії, оточений складною тришаровою оболонкою, яка складається з білкової мембрани та подвійного шару ліпідів. Глікопротеїдні субодиниці (гемаглютинін та нейрамінідаза) гідрофобними кінцями занурені в ліпідний шар.

Культуральні властивості:

Вірус грипу було ізолювано протягом 5 послідовних сліпих пасажів на ВПФ курячих ембріонах, що дозволило підвищити гемаглютинуючу активність вірусу від 3 \log_2 в РГА на перших пасажах до 7-9 \log_2 на п'ятому пасажі. Вірус культивується в курячих ембріонах 9-11-добового віку при інфікуванні в алантоїсну порожнину з накопиченням гемаглютинінів в титрі 7-9 \log_2 .

Біологічна активність: при титруванні вірусу на курячих ембріонах інфекційна активність вірусу становить 6 \lg ЕІД₅₀/0,2 мл, а летальний титр 6,33 \lg ЕЛД₅₀/0,2 мл. Вірус може викликати загибель до 25 % курячих ембріонів через 48-96 годин після інфікування.

Антигенні властивості:

Вірус має добрі антигенні властивості. Так, імунізація курей 217 добового віку інактивованим вірусом грипу А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 (H16N3) в суміші з ад'ювантом у дозі 1,0 см³ викликає утворення специфічних антитіл до вірусу грипу H16 через 30 діб після імунізації в

титрах 1:128-1:1024 в РЗГА. За результатами РЗГА та ІФА перші антитіпи виявляються у 10-20 % курей через 7 діб. Результати дослідження сироваток крові курей, імунізованих інактивованим вірусом грипу А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 (H16N3) в РЗГА наведені в таблиці.

- 5 Таким чином, вище перелічені властивості свідчать про можливість використання цього вірусу як виробничого для виробництва імунобіологічних препаратів.

Таблиця

№ п/п	Титр антитіл до H16 в РЗГА			
	до імунізації	7 діб після імунізації	14 діб після імунізації	30 діб після імунізації
1	0	0	0	0
2	0	0	1:64	1:512
3	0	0	1:64	1:512
4	0	1:64	1:128	1:128
5	0	0	1:256	1:512
6	0	0	0	1:256
7	0	0	1:64	1:1024
8	0	0	1:32	1:256
9	0	0	1:128	1:512
10	0	0	1:32	1:128

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Штам вірусу низькопатогенного грипу птиці А/мартин звичайний/Утлюк/2-2-08/11 підтипу H16N3, виділений з клоакального змиву дорослого клінічно здорового мартина звичайного (*Larus ridibundus*), для виготовлення ветеринарних імунобіологічних препаратів.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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