



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84127** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
C12N 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 04728	(72) Винахідник(и): Стегній Борис Тимофійович (UA), Музика Денис Васильович (UA), Стегній Антон Борисович (UA), Рула Олександр Миколайович (UA)
(22) Дата подання заявки: 15.04.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)

(54) ШТАМ ВІРУСУ НИЗЬКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ А/КРИЖЕНЬ/НОВОМИХАЙЛІВКА/2-23-12/10 ПІДТИПУ Н15N7

(57) Реферат:

Штам вірусу низькопатогенного грипу птиці А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 Н15N7, виділений з проб фекалій дорослих клінічно здорових крижнів *Anas platyrhynchos*, для виготовлення ветеринарних імунобіологічних препаратів.

UA 84127 U

Корисна модель належить до 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 гемаглютиніну 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 Immediate Release: February 27, 2012 http://www.cdc.gov/media/releases/2012/p0227_Guate_mala_Fruitbats.html].

Віруси грипу птиці підтипу H15 є достатньо рідкісними вірусами грипу, що були виділені від диких водоплавних та навколотоводних птахів. Вперше ці віруси були ізолювані в період 1979-1983 років в Австралії від навколотоводних птахів різних видів ряду Сивкоподібні. На сьогоднішній день за даними GeneBank існує тільки 7 відомих вірусів грипу цього підтипу з наступними антигенними формулами H15N2, H15N4, H15N6, H15N8, H15N9. Останній вірус грипу цього підтипу A/teal/Chany/7119/2008 (H15N4) було ізолювано в Російській Федерації в 2008 році від чирянки малої в Західному Сибіру. Хоча він і належить до вірусів грипу підтипу H1 5, але за результатами секвенування він не є спорідненим з вірусами грипу цього ж підтипу, що були ізолювані в Австралії, а належить до окремої генетичної лінії. За результатами секвенування встановлено, що цей вірус є реасортаном між новими генами гемаглютиніни H15 та нейрамінідази N4, а також у своєму складі містить ендемічні внутрішні гени вірусів грипу H8N8, H3N6, та H3N8, що циркулювали в Західному Сибіру в попередні роки. За антигенними властивостями цей вірус грипу підтипу H15 значно відрізняється від австралійських вірусів грипу підтипу H15, що були ізолювані в 1979-1983 роках [Influenza A (H15N4) Virus Isolation in Western Siberia, Russia Mariya V. Sivay, Tatiana Baranovich, Vasilii Y. Marchenko, Kirill A. Sharshov, Elena A. Govorkova, Aleksander M. Shestopalov, Richard J. Webby Journal of Virology Volume 87 Number 6 p. 3578-3582].

Заявлений штам А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 є вірусом грипу птиці А з антигенною формулою H15N7 схожий з вищепереліченими аналогами за підтипом гемаглютиніни, але по суті являє собою новий, оригінальний в антигенному відношенні вірус. Штам належить до вірусів грипу А з гемаглютиніном підтипу H15. Має підтип нейрамінідази N7, є низькопатогенним для птиці. Він відрізняється від вищенаведених вірусів новими антигенними властивостями, підтипом нейрамінідази та антигенною формулою. Необхідно зазначити, що це перший вірус цього підтипу з такою антигенною формулою H15N7, які до сьогоднішнього дня не були ізолювані в світі від диких птахів. Цей вірус вперше ізолюваний на території України та відрізняється від аналогів за місцем виділення та видом птиці, від якого він був ізолюваний. За результатами секвенування цей вірус є спорідненим з Евразійською генетичною лінією вірусів грипу птиці підтипу H15 та є спорідненим з новим вірусом 2008 року.

В основу корисної моделі поставлено задачу виділити штам низькопатогенного вірусу грипу птиці А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 (H15N7) шляхом виділення ізоляту вірусу грипу птиці з низькою патогенністю з природного резервуару збудників - диких водоплавних птахів.

Штам вірусу грипу А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 (H15N7) був виділений у 2010 році з проб фекалій дорослих клінічно здорових крижнів (*Anas platyrhynchos*). Біологічний матеріал було відібрано під час моніторингових досліджень диких водоплавних птахів поблизу с. Новомихайлівка Новотроїцького р-ну Херсонської області. 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 № 12/15/1: родина Orthomyxoviridae, рід Influenza virus A.

Штам характеризується наступними властивостями:

Морфологічні ознаки: віріони мають округлу, нитковидну, 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.

Умови культивування: вірус культивується в курячих ембріонах 9-11-добового віку при інфікуванні в алантоїсну порожнину з накопиченням гемаглютининів в титрі 1:512 протягом 4-5 діб.

5 Біологічна активність: при титруванні вірусу на курячих ембріонах встановлено, що інфекційний титр становить $6,5 \lg \text{EID}_{50}/0,2 \text{ мл}$.

Патогенність: вірус не викликає загибелі курячих ембріонів протягом 120 годин після інфікування.

10 Антигенні властивості: вірус має хороші антигенні властивості. Так, імунізація курей 217 добового віку інактивованим вірусом грипу А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 (H15N7) в суміші з ад'ювантом в дозі $1,0 \text{ см}^3$ викликає утворення специфічних антитіл до вірусу грипу H15 через 30 діб після імунізації в титрах 1:64-1:1024 в РЗГА. За результатами РЗГА та ІФА перші антитіла виявляються у 10-60 % курей через 7 діб.

15 Спосіб підтримання біологічних властивостей: 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 штаму зберігає впродовж 3 пасажів від матриці (період спостереження).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20

Штам вірусу низькопатогенного грипу птиці А/крижень/Новомихайлівка/2-23-12/10 H15N7, виділений з проб фекалій дорослих клінічно здорових крижнів *Anas platyrhynchos*, 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