



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **85430** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61K 39/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 02947</b>	(72) Винахідник(и): <b>Наливайко Людмила Іванівна (UA), Шомін Олександр Анатолійович (UA), Рябека Денис Анатолійович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>11.03.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.11.2013</b>	(73) Власник(и): <b>ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ, вул. Леніна, 20, с. Бірки, Зміївський р-н, Харківська обл., 63421 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.11.2013, Бюл.№ 22</b>	

## (54) НАБІР ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ СПЕЦИФІЧНИХ АНТИТІЛ ДО МЕТАПНЕВМОВІРУСУ ПТИЦІ У РЕАКЦІЇ НЕПРЯМОЇ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ

### (57) Реферат:

Набір компонентів для виявлення специфічних антитіл до метаневмовірусу птиці в реакції непрямой гемаглютинації містить еритроцитарний антиген (штам PVT-09/B пневмовірусу, циркулюючий в Україні та ізолюваний від хворої птиці), специфічну сироватку до цього штаму та нормальну сироватку крові курчат.

**UA 85430 U**



Метапневмовірусне захворювання птиці (MPVI) або інфекційний ринотрахеїт індиків (Turkey Rhino Tracheitis - TRT) або «синдром пухлої голови» (SHS) у курей та курчат-бройлерів - це запалення носових пазух, синусів та трахеї у птиці. Вірус відноситься до родини Paramyxoviridae, роду Pneumovirus. Захворюваність і смертність при TRT серед птиці

батьківських та промислових стад індиків, а також бройлерів і страусів на фермах коливається від 4 до 90 %. Захворюваність на SHS в бройлерних стадах може бути від 1 до 10 %. Рівень смертності залежить від різних факторів. У несучок можуть бути рецидиви проявлення клінічних ознак, але кожний наступний випадок — менше виражений, ніж попередній.

У зв'язку з тим, що інкубаційні яйця птиці регулярно постачаються із-за кордону в Україну,

можна припустити про наявність даного захворювання і в наших птахівничих господарствах. Дослідження щодо розповсюдження TRT в Україні не проводились. Напруженість імунітету у щепленої птиці до вірусу TRT спеціалістами господарств не контролюються у зв'язку з відсутністю в нашій країні діагностиків.

Для діагностики TRT в багатьох країнах використовують реакція непрямої імунофлюоресценції (РНІФ), реакція нейтралізації (РН), імуноферментний аналіз (ІФА) та метод імуноцитохімії. За допомогою перелічених методів можна встановити епізоотологічний діагноз на TRT, але оцінити напруженість імунітету після щеплення птиці - практично неможливо. Тому необхідні інші - доступніші і чутливіші серологічні реакції, які можуть бути використані як для вивчення епізоотичної ситуації в господарствах щодо TRT, так і для контролю імунітету після щеплення птиці. При визначенні епізоотичної ситуації, клінічних та патолого-анатомічних даних, не виникає ускладнень з постановкою діагнозу. У випадку спалаху хвороби на фоні вторинної Інфекції, особливо у стаціонарно неблагополучному господарстві, складно встановити вірний діагноз.

В Україні зареєстровано діагностичні ІФА-набори закордонних фірм (Нідерланди, США), вартість яких становить від 8 до 10 тис. грн. за 1 набір (480 проб). У зв'язку з цим виникла необхідність у розробці вітчизняного діагностичного набору, який був би специфічним, чутливим та значно дешевим. Такою тест-системою стала реакція непрямої гемаглютинації (РНГА), яка широко використовується у вірусологічних дослідженнях поряд з іншими діагностичними препаратами. Головною її перевагою є висока чутливість, технічна простота реакції і стабільність компонентів, що використовуються, зручність для постановки у кожній лабораторії, а також більш економічно вигідною у 3-3,5 рази ніж ІФА-набори.

До складу набору входять: 1 флакон еритроцитарного антигену, по 1-й ампулі (флакону) контрольних сироваток - гіперімунної та нормальної об'ємом по 1 см<sup>3</sup>.

Спосіб виготовлення антигену для діагностики МПВІ сільськогосподарської птиці включає одержання вірусної рідини та сенсibilізацію формалінізованих і танізованих еритроцитів шляхом використання вірусутримуючої екстраембріональної рідини, її центрифугування, сенсibilізацію формалінізованих танізованих еритроцитів барана додаванням надосадової вірусотримуючої рідини з використанням штаму PVT-09/B пневмовірусу, циркулюючого в Україні та ізолюваного від хворої птиці.

Постановка реакції непрямої гемаглютинації (РНГА).

Для випробувань використовують:

- еритроцитарний TRT-антиген для діагностики метапневмовірусної інфекції птиці - з набору;
- контрольні гіперімунна та нормальна сироватки крові, ліофілізовані - з набору;
- сироватки крові птиці, що досліджуються;
- U- або V-подібні мікропанелі для серологічних досліджень;
- буферні фізіологічні розчини з рН=7,2 (рН=6,4);
- гліцерин;
- піпетки скляні мірні місткістю 1 см<sup>3</sup>, 10 см<sup>3</sup>.

Після виготовлення необхідних компонентів реакції визначають активність еритроцитарного TRT-антигену за допомогою РНГА з гіперімунною, нормальною контрольними сироватками крові курчат та польовими сироватками крові птиці, отриманими з птахогосподарств. Флакони з еритроцитарним TRT-антигеном перед використанням ретельно струшують. Перед постановкою РНГА позитивну, негативну та польові сироватки крові прогрівають на водяній бані за температури 56 °С протягом 30 хвилин. Для постановки реакції використовують 96-лункові U- або V-подібні мікропанелі для імунологічних реакцій. Починаючи з 1 по 10 лунки вносять буферний 0,5 % гліцеринізований фізіологічний розчин рН (7,2-7,4) в об'ємі по 0,04 см<sup>3</sup>. Гіперімунну сироватку крові вносять в об'ємі по 0,04 см<sup>3</sup> у 1 лунку і по 0,04 см<sup>3</sup> проводять її послідовне розведення. З 10-ї лунки залишок (0,04 см<sup>3</sup>) видаляють. В кожну лунку (з 1-ї по 10-у) вносять по 0,02 см<sup>3</sup> сенсibilізовані еритроцити.

Реакцію супроводжують такими контролюями:

а) контроль еритроцитарного антигену на самоаглютинацію - у 4 лунки вносять по 0,04 см<sup>3</sup> буферного 0,5 % гліцеринізованого фізіологічного розчину рН (7,2-7,4), в який додають по 0,02 см<sup>3</sup> еритроцитарного антигену;

5 б) контроль еритроцитарного антигену (сенсibiliзованих еритроцитів) з нормальною контрольною сироваткою крові птиці - у чотири лунки вносять по 0,04 см<sup>3</sup> буферного 0,5 % гліцеринізованого фізіологічного розчину рН (7,2-7,4) і готують двократне розведення нормальної контрольної сироватки, після чого додають 0,02 см<sup>3</sup> сенсibiliзованих еритроцитів.

10 Облік одержаних результатів здійснюють після осаду еритроцитів у контролі. За титр сироватки приймають останнє її розведення, у якому є чіткі «парасольки».

Визначають специфічність еритроцитарного TRT-антигену шляхом використання позитивних сироваток крові, отриманих до збудників захворювання (ньюкаслської хвороби, хвороби Гамборо, інфекційного бронхіту курей та ін.). РНГА повинна бути негативною.

Облік одержаних результатів здійснюють після осаду еритроцитів у контролі.

15 Розроблену серологічну діагностику на основі РНГА, як елемент загальної системи діагностичних заходів, доцільно використовувати для встановлення діагнозу на пневмовірусну інфекцію (метапневмовірусну інфекцію) і, за необхідністю, проведення протиепізоотичних заходів.

## 20 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Набір компонентів для виявлення специфічних антитіл до метапневмовірусу птиці в реакції непрямой гемаглютинації, який **відрізняється** тим, що містить еритроцитарний антиген (штам PVT-09/B пневмовірусу, циркулюючий в Україні та ізольований від хворої птиці), специфічну сироватку до цього штаму та нормальну сироватку крові курчат.

---

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

---

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