



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 81591

(13) C2

(51) МПК (2006)

C12N 7/00

A61K 39/255 (2007.01)

C12R 1/93 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛАБОРАТОРНИЙ АТЕНУЙОВАНИЙ АВІРУЛЕНТНИЙ ШТАМ ВІРУСУ ХВОРОБИ МАРЕКА ІП-24

1

2

(21) а200702631

(22) 12.03.2007

(24) 10.01.2008

(72) БІЛЕЦЬКА ГАННА ВАСИЛІВНА, UA,
БЕЗРУКАВА ІННА ЮРІЙВНА, UA, ГРИБКОВА НІНА
ПАВЛІВНА, UA(73) ІНСТИТУТ ПТАХІВНИЦТВА УКРАЇНСЬКОЇ
АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК, UA

(56) UA A 53969, 17.02.2003.

UA A 61780, 17.11.2003.

UA A 71207, 15.11.2004.

Герілович А.П. Хвороба Марека: індикація і вивчення біологічних властивостей збудника та розробка засобів діагностики. Автореферет дис. на здобуття наук. ступ. к.в.н. - Харків. - 2005.

(57) Лабораторний атенуований авірулентний штам вірусу хвороби Марека ІП-24, депонований у Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів за № 365, для вакцинації птиці проти хвороби Марека.

Винахід відноситься до ветеринарної вірусології та біотехнології, може бути використаний для науково-дослідних цілей та при виготовленні вакцин проти хвороби Марека (ХМ).

Вірус хвороби Марека відноситься до родини Herpesviridae. ДНК-вміщуючий вірус. Розмір вібриона 85-100 нм, з оболонкою 150-170 нм, вібриони мають форму ікосаедра.

Вірус чутливий до ефіру, 1 % розчинів фенолу і формаліну, нестійкий при плюсових температурах. Штам культивується в культурі фібробластів ембріонів СПФ-куррей (ФЕК) та добоових курчатах.

Існують російські штами для виготовлення вакцин проти ХМ, наприклад: штам „50”-ДЕП [1], № 3004/№ 109 ДЕП [2], ВНДІЗТ/110-ДЕП [3], „42”-ДЕП. [4], „ФС-126” [5].

Проте, вакцинні штами вірусу ХМ для виробництва вітчизняної вакцини повинні бути антигенно споріднені з вірулентними штамами вірусу ХМ, які циркулюють в Україні. Тому, для розробки засобів боротьби проти ХМ необхідно мати вітчизняні штами.

Задача винаходу - одержати вакцинний штам вірусу хвороби Марека, який можна використовувати для створення засобів ефективного захисту проти вірулентних вірусів хвороби Марека, розповсюджених в Україні.

Вірус виділено співробітниками Інституту птахівництва УААН у 1997 році у Харківській

області від хворих курей 180-денного віку; відноситься до І серотипу вірусів ХМ, зберігається в ІП УААН. Після 16 пасажів вірусу в культурі клітин фібробластів ембріонів SPF-куррей встановлено його ареверсильність та здатність створювати імунітет проти хвороби Марека при щепленні добоових курчат.

Для забезпечення життєздатності вірусу (життєвого циклу вірусу) необхідне пасажування в культурі ФЕК кріоконсервованого в рідкому азоті вірусу не рідше 24 місяців, нативного - протягом 2 годин.

Нешкідливість штаму визначали на курчатах добоового віку, яким вводили внутрішньом'язево десятикратну дозу вірусу (1×10^6 ФУО/ 0.2 см^3). Спостереження за курчатами проводили 240 днів. У курчат протягом 240-денного віку захворювання чи змін у поведінці курей не зареєстровано.

Імуногенність. Для контролю імуногенності використали 2 групи добоових курчат по 50 голів у кожній. Першу групу курчат (дослідну) імунізували внутрішньом'язево розплідкою вірусу у дозі 1000 ФУО в 0.2 см^3 (одна вакцинальна доза). Через 14 днів цих курчат інфікували контрольним вірулентним штамом „JM-P”. Зараження проводили внутрішньочеревно вірусотримуючою кров'ю від хворої птиці у дозі 0.5 см^3 . Контрольну групу курчат інфікували в дозі 0.5 см^3 крові в добоовому віці. За птицею проводили спостереження протягом 240 днів.

(13) C2

(11) 81591

(19) UA

За час спостереження у дослідній групі відхід з причини хвороби Марека становив 4 голови.

У контрольній групі курчат до 60-денного віку хворобою Марека захворіло і загинуло 50 голів (100%).

Імунний захист у птиці, щепленої проти патогенного вірусу, становив 92%.

Визначення біологічної активності. Активність штаму визначали шляхом титрування на 48-годинній культурі фібробластів ембріонів курей. Для цього готували десятикратні розведення вірусу на поживному середовищі без сироватки від 10^{-1} до 10^{-5} та вносили по $0,5\text{см}^3$ кожного розведення у 2-3 флакони. Інфіковану культуру інкубували при температурі 39°C 4 доби, після чого пофарбували амідовим чорним. Титр вірусу визначали загальноприйнятим методом.

Інфекційна активність становила $2,8 \times 10^5$ ФУО/см³.

Визначення бактеріальної і грибової контамінації проводили на живильні середовища згідно з ГОСТ 28085-89. Вірус визнано стерильним у відношенні бактеріального і грибкового забруднення.

Визначення контамінації мікоплазмами проводили шляхом висіву вірусу на рідке середовище Едварда, в яке додатково було введено 20 % сироватки крові коней, 10 % дріжджового екстракту, 5 % глюкози та 0,0015 % фенолового червоного. Після 3 послідовних пасажів розплідка вірусу визнано стерильною у відношенні забруднення мікоплазмами.

Проведено визначення контамінації штаму гемаглютинуючими вірусами в РГА з 1 % суспензією еритроцитів півня. Аглютинації еритроцитів не виявлено, вірус визнано не контамінованим гемаглютинуючими вірусами (вірус ньюкаслської хвороби, грип птиці та синдром зниження несучості СЗН-76).

Отже, лабораторний атенуований авірулентний штам „ІП-24” вірусу хвороби Марека є нешкідливим, імуногенним та стерильним, що дозволяє використовувати його в науково-дослідних цілях та при виготовленні вакцин проти хвороби Марека.

Спосіб та умови довгострокового зберігання вірусу: суспензія інфікованих клітин фібробластів ембріонів курей у захисному середовищі з 10 % ДМСО і 10 % сироватки крові ВРХ у замороженому стані при температурі мінус 196°C протягом 24 місяців.

Штам депоновано у Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів за № 365.

Джерела інформації:

1. Патент RU 2085583 Штамм вірусу герпеса кур как компонент для изготовления бивалентной вакцины против болезни Марека. МПК C12N7/00, 61K39/255. Опубл. 1997.07.27.

2. Патент RU 2199583 Штамм № 3004/№ 109 вірусу болезни Марека для изготовления вакцинных препаратов. МПК C12N7/00, 61K39/255. Опубл. 2003.02.27.

3. Патент RU 2144562 Штамм "ВНИИЗЖ/№ 110" вірусу герпесу индеек для изготовления вакцины против болезни Марека

4. Патент RU 2085582 Штамм вірусу герпеса кур как компонент для изготовления бивалентной вакцины против болезни Марека. МПК C12N7/00, 61K39/255. Опубл. 1997.07.27.

5. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. - М.: ВНИИТИБП, 1998. - 928 с.