

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



(19)

ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ
ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК ҚҰҚЫҒЫ КОМИТЕТИ

(11)

ӨНЕРТАБЫСҚА

(12)

№ 17453

ПАТЕНТ

(54) АТАУЫ: ПРОФИЛАКТИКАЛЫҚ ЖӘНЕ ДИАГНОСТИКАЛЫҚ ПРЕПАРАТТАРДЫ
ДАЙЫНДАУҒА АРНАЛҒАН ҚҰТЫРУДЫҢ "VRC-RZ2" ФИКС-ВИРУСЫНЫҢ ШТАММЫ

(73) ПАТЕНТ ИЕЛЕНУШІСІ: Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің
Ғылым комитеті "Қазақстан Республикасы Үлттық биотехнология орталығы" шаруашылық
жүргізу құқығындағы респубикалық мемлекеттік кәсіпорнының "Биологиялық қауіпсіздік
проблемаларының ғылыми-зерттеу институты" шаруашылық жүргізу құқығындағы еншілес
мемлекеттік кәсіпорны

(72) АВТОР (АВТОРЛАР): Русанова Анастасия Михайловна; Жилин Евгений Сергеевич;
Троицкий Евгений Николаевич; Мамадалиев Сейдигапбар Мамадалиевич; Баракбаев Кайнар
Базаркулович; Демченко Анатолий Григорьевич

(21) Өтінім № 2004/1755.1

(22) Өтінім берілген күн 10.12.2004

Патенттің күші Қазақстан Республикасының бүкіл аумағында, оны қүшінде
ұстау үшін акы уақытылы төленген жағдайда сакталады.

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігі
Зияткерлік меншік құқығы комитетінің
терағасы



Н.Е. Әбдірахым

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН



(19) КОМИТЕТ ПО ПРАВАМ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

(12)

(11)

ПАТЕНТ № 17453 НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(54) НАЗВАНИЕ: ШТАММ "VRC-RZ2" ВИРУСА-ФИКС БЕШЕНСТВА ДЛЯ
ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ
ПРЕПАРАТОВ

(73) ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ: Дочернее государственное предприятие на праве
хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической
безопасности" Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного
ведения "Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан" Комитета науки
Министерства образования и науки Республики Казахстан

(72) АВТОР (АВТОРЫ): Русанова Анастасия Михайловна; Жилин Евгений Сергеевич;
Троицкий Евгений Николаевич; Мамадалиев Сейдигапбар Мамадалиевич; Баракбаев
Кайнар Базаркулович; Демченко Анатолий Григорьевич

(21) Заявка № 2004/1755.1

(22) Дата подачи заявки 10.12.2004

Действие патента распространяется на всю территорию Республики
Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе

Председатель Комитета по правам
интеллектуальной собственности
Министерства юстиции Республики Казахстан



Н.Е. Абрахим



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) B (11) 17453
(51) C12N 7/00 (2006.01)
C12R 1/93 (2006.01)
A61K 39/205 (2006.01)

КОМИТЕТ ПО ПРАВАМ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21) 2004/1755.1

(22) 10.12.2004

(45) 15.12.2009, бюл. № 12

(64) KZ (A) 17453, 15.06.2006, бюл. № 6

(72) Русанова Анастасия Михайловна; Жилин Евгений Сергеевич; Троицкий Евгений Николаевич; Мамадалиев Сейдигапбар Мамадалиевич; Баракбаев Кайнар Базаркулович; Демченко Анатолий Григорьевич

(73) Дочернее государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения "Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (KZ)
(56) Патент RU № 2080125, кл. A61K 39/295, 1997

Патент RU № 2128519, кл. A61K 39/205, C12N 7/00, 1999

Патент RU № 2157700, кл. A61K 39/205, C12N 7/00, 1999

(54) ШТАММ "VRC-RZ2" ВИРУСА-ФИКС БЕШЕНСТВА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

(57) Изобретение относится к ветеринарной вирусологии.

Полученный штамм "VRC-RZ2" вируса-фикс бешенства характеризуется высокими репродуктивными свойствами в системе культивирования и высокой биологической активностью.

Штамм «VRC-RZ2» вируса-фикс бешенства для приготовления диагностических (РДП, МФА, ИФА, РСК) и профилактических (парентеральной и пероральной вакцины против бешенства животных) препаратов.

(19) KZ (13) B (11) 17453

Изобретение относится к ветеринарной вирусологии.

Штамм «Щелково-51» - используется для приготовления вакцин антирабических инактивированных, культуральных «Рабиков», «Рабикан» (комерческие названия вакцин). Предприятие изготовитель - ФГУ ВНИИЗЖ («Бешенство животных» Груздев К.Н., Недосеков В.В. Москва, изд-во «Аквариум», 2001 г.).

Штамм «ТС-80» - используется приготовления вакцины антирабической, инактивированной, культуральной, сорбированной. Предприятие изготовитель - ВНИИВВМиМ. («Бешенство животных» Груздев К.Н., Недосеков В.В. Москва, изд-во «Аквариум», 2001 г.).

Штамм «Внуково-32» - используется приготовления вакцины антирабической, инактивированной, концентрированной, культуральной. Предприятие изготовитель - Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. Чумакова РАМН. («Бешенство животных» Груздев К.Н., Недосеков В.В. Москва, изд-во «Аквариум», 2001 г.).

Штамм «РВ-97» - используется приготовления вакцины антирабической, инактивированной, культуральной, сорбированной. Предприятие изготовитель - ФГУ ВНИИЗЖ. («Бешенство животных» Груздев К.Н., Недосеков В.В. Москва, изд-во «Аквариум», 2001 г.).

Все вышеописанные штаммы вируса-фикс бешенства культивируются в перевиваемых культурах клеток, имеют титр вируса не менее 6,00 lg MLD₅₀/мл, иммуногенность вакцин напрямую зависит от титра вируса.

Все вышеописанные вакцины зарегистрированы в Государственном Реестре Российской Федерации. Недостатки этих штаммов в цитируемой литературе не указываются, но в данном случае это не важно, поскольку, как уже было указано выше, в Республике Казахстан в настоящее время отсутствуют штаммы вируса-фикс бешенства, поддерживаемые на перевиваемых культурах клеток и используемые для приготовления профилактических и диагностических препаратов.

Задачей изобретения является создание культурального штамма вируса бешенства животных, обладающего высокой биологической и иммуногенной активностью, низкой вирулентностью и хорошей репродуктивной способностью в системе культивирования.

Штамм «VRC-RZ2» выделен из тканевого (мозгового) изолята вируса бешенства и адаптирован к репродукции в перевиваемой культуре клеток почек сайги путем последовательных и перемежающих пассажей на мышатах сосунах и культурах клеток ВНК-21/13 и ПС. Полученный штамм вируса отличается от исходного изолята органно-тканевого рабического вируса системой культивирования, низкой вирулентностью при внутримышечном, внутрикожном и подкожном введении, биологической активностью. При этом в культуре клеток ПС накопление вируса происходит до 6,0 lg ТЦД₅₀/см³.

Выделенный штамм "VRC-RZ2" депонирован в Коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского сельскохозяйственного института Министерства образования и науки Республики Казахстан с регистрационным номером П-7-04/Д.

Штамм "VRC-RZ2" вируса-фикс бешенства активно репродуцируется в перевиваемой культуре клеток ПС при температуре (37,0 ± 0,5)°С. При этом биологическая активность вируса достигает при стационарном культивировании до 5,5 lg ТЦД₅₀/см³, при роллерном культивировании до 6,0 lg ТЦД₅₀/см³.

Выделенный штамм "VRC-RZ2" характеризуется следующими свойствами.

Условия культивирования Штамм "VRC-RZ2" вируса-фикс бешенства активно репродуцируется в перевиваемой культуре клеток ПС при температуре (37,0 ± 0,5)°С, заражающей дозе 0,005-0,01 ТЦД₅₀ на клетку. В качестве питательной среды используется пристеночная полусинтетическая среда (ПСП), pH 7,4-7,8; 2% инактивированной сыворотки крови крупного рогатого скота. Время культивирования 5-7 суток. Культивирование проводится как стационарным, так и роллерным методом.

Активности штамма: При соблюдении условий культивирования биологическая активность вируса достигает при стационарном культивировании до 5,5 lg ТЦД₅₀/см³, при роллерном культивировании до 6,0 lg ТЦД₅₀/см³.

Способ определения активности вируса: Активность вируса определяется 2-мя способами:

По цитопатическим изменениям в культуре клеток ПС (почка сайги). Делаются 10-кратные разведения вируса, каждым разведением вируса инфицируется по 4-е пробирки с культурой клеток. Цитопатическое действие вируса учитывают ежедневно под малым увеличением микроскопа. Титр вируса рассчитывается по методу Рида и Менча и выражается в lg ТЦД₅₀/см³.

Заражение мышей. Делаются 10-кратные разведения вируса. Каждым разведением вируса интрацеребрально инфицируется по 4 мыши. Положительный результат - мышь пала, отрицательный - выжила. Титр вируса рассчитывается по методу Рида и Менча и выражается в lg MLD₅₀/см³.

Во втором пункте запроса экспертами отмечено, что в описании к заявке 2004/1775.1 предложенный нами штамм может использоваться, как контрольный штамм при испытании вакциновых препаратов. Таких данных мы не приводили в описании.

Безвредность: Полностью безвреден для овец, собак, кроликов при подкожном, внутрикожном, внутримышечном введении, (эти данные без указания вида животных представлены в описании)

Активность (иммуногенность): Собаки, получившие однократную внутримышечную инъекцию в объеме 1 см³ (активностью 4,5 MLD₅₀/см³), через 14 суток противостоят интрацеребральному контролльному заражению. Контрольные животные (не вакцинированные животные) при интрацеребральном контролльном

заражении погибают на 5-7 сутки с клиническими признаками присущими бешенству.

Для антигена термин «оптимальная концентрация вирусных клеток» не применим. Качество (специфичность) и активность антигена оценивают в серологических реакциях.

Специфичность культурального антигена предлагаемого штамма подтверждена в реакции диффузационной преципитации с коммерческим набором «Иммуноглобулин диагностический антирабический преципитирующий (ИДАП) для диагностики бешенства методом реакции диффузационной преципитации (РДП)» НПО «АНТИГЕН» ТУ 640 РК 17286-1910-002-2001 и в реакции иммунофлуоресценции с коммерческими наборами «Иммуноглобулин диагностический антирабический флуоресцирующий (ИДАФ) для диагностики бешенства прямым методом иммунофлуоресцентной микроскопии (ПМИМ)» ТОО «АНТИГЕН» ТУ 640 РК 17286-1910-001-2001, «Антирабический флуоресцирующий иммуноглобулин (ИДАФ) для диагностики бешенства прямым методом РИФ (реакция иммунофлуоресценции)» ТОО «Вита-СТ» ТУ 658 РК 620200013526 ТОО 024-2001

В мазках-отпечатках, приготовленных из суспензии и монослоевой культуры клеток ПС и обработанных меченными ФИТЦ глобулинами из наборов «Иммуноглобулин диагностический антирабический флуоресцирующий (ИДАФ) для диагностики бешенства прямым методом

иммунофлуоресцентной микроскопии (ПМИМ)», «Антирабический флуоресцирующий иммуноглобулин (ИДАФ) для диагностики бешенства прямым методом РИФ (реакция иммунофлуоресценции)», обнаружено специфическое свечение гранул на четыре креста, что говорит о высоком накоплении антигена вируса бешенства.

Титр антигена предлагаемого штамма определялся в реакции диффузационной преципитации с коммерческим набором «Иммуноглобулин диагностический антирабический преципитирующий (ИДАП) для диагностики бешенства методом реакции диффузационной преципитации (РДП)» НПО «АНТИГЕН» и составил 1:2-1:4.

Специфическая активность сывороток крови коз, полученных на введение антигена предлагаемого штамма, оценена в реакции диффузационной преципитации с положительным контрольным антигеном (бешенства) из коммерческого набора «Иммуноглобулин диагностический антирабический преципитирующий (ИДАП) для диагностики бешенства методом реакции диффузационной преципитации (РДП)» НПО «АНТИГЕН» и составляет 1:16-1:32.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Штамм "VRC-RZ2" вируса-фикс бешенства (НИСХИ, П-7-04/Д) для приготовления профилактических и диагностических препаратов.

Верстка Болекова А.Д.
Корректор Мадеева П. А.