



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

202 788

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 03 10 78
(21) PV 6385-78

(51) Int. Cl.³ C 12 N 7/08

(40) Zveřejněno 30 05 80
(45) Vydáno 01 06 83

(75)
Autor vynálezu KRUPKA VRATISLAV MVDr., IVANOVIC NA HANÉ,
JIRAN EDUARD MVDr., CSc., LITOMERICE a
DEDEK LADISLAV MVDr., OPAVA

(54) Apatogenní kmen viru myxomatózy králíků

1

Vynález se týká vakcinačního apatogenního kmene myxomatózy králíků MXT, který se používá k přípravě vakcíny proti tomuto onemocnění.

Myxomatóza králíků po svém rozšíření na evropském kontinentě po roce 1950 působí stále velké ztráty na domácích i divokých králících. V minulosti byla propracována úspěšná cesta imunizace a v některých zemích byla i zavedena ochrana na základě interferenční imunity proti myxomatóze pomocí Shopeho fibromu. /Jacotot, A., Vallee, A. a Virat, B., 1955, Ann. Inst. Pasteur, 88, s. 381 - 383; Rowe, B., Mansi, W. a Hudson, J.R., 1956, J. Comp. Path. Therap., 66, s. 290 - 298/.

Rovněž v Československu se k prevenci myxomatózy používá vakcína připravená z orgánové suspenze králíků, obsahující Shopeho virus fibromatózy. /Mádr, V., Macura, B., Petlach, J., 1967, Immunoprofylaxia, ČSSR, 2, s. 90 - 96/.

Řada zahraničních experimentálních prací, věnovaných aktivní imunizaci králíků proti myxomatóze, prokázala nevhodnost použití vakcín, vyrobených z inaktivovaného viru nebo chemickou cestou oslabeného. /Mc Kerchner, D.G., 1952, Amer. J. Vet. Res., 13, s. 425 - 429; Sanchis-Bayarri, V., Resende, M. a Garcia-Martines, A., 1953, Bull. Acad. Vet. France, 26, s. 361 - 365/.

Podrobnou práci o modifikaci viru myxomatózy a jeho vlastnostech zveřejnil Saito, J. K., Mc Kerchner, D.G. a Castrucci. O., 1964, J. Inf. Dis., 114, s. 417 - 428, kde uvádí dobrou účinnost a neškodnost modifikovaného kmene, Jacotot, A., Virat, B., Reculard, P. a Vallee, A., 1967, Ann. Inst. Pasteur, 113, s. 221 - 237, zjistili u Saitova kmene, že nebyl zcela neškodný pro králíky.

Jiran, E., Sladká, M., Kunštýř, I., 1970, Zbl. Vet. Med., s. 418 - 428, zjistili u Saitova kmene, že není rovněž zcela neškodný. Podařilo se jim však po 12 pasážích na buněčných liniích oslabit jej natolik, že nezpůsobil konjunktivální reakce po i.d. aplikaci králíkům. Virus nebylo možné použít k výrobě vakcíny proto, že nebylo možné jej dokonale stabilizovat a nebyly rovněž dostatečné podklady o jeho dokonalé neškodnosti a o formách aplikace.

Příklad provedení:

Uvedený Saitův kmen byl dále pasážován při 32 - 34 °C až do 55. pasáže na liniových buněčných kulturách kory králíčí ledviny se sklizní obvykle za 48 až 56 hodin po infekci kultur. V 55. pasáži byl kmen lyofilizován a pak skladován při +4 °C po dobu 8 let. Z takto skladovaného viru bylo provedeno 7 pasáží na buněčných kulturách kory králíčí ledviny při 33 °C se sklizní viru 48 až 56 hodin po infekci kultur. Tímto způsobem byl získán plně apatogenní virus při zachování imunizačních vlastností. Lyofilizací stabilizovaný a vlivem nového prostředí změněný virus se stává součástí tohoto vynálezu a je uložen v Čs. sbírce mikroorganismů - Sběrce zoopatogenních mikroorganismů Výzkumného ústavu veterinárního lékařství, Hudcova 60, Brno - Medlánky, jako vakcinační apatogenní kmen myxomatózy, Myxoma virus, sbírkové číslo CAPM V-219.

Apatogenní vakcinační kmen viru myxomatózy, sbírkové číslo CAPM V-219, o titru 10^4 až 10^7 v 1 cm³, se používá k přípravě vakcíny v lyofilizovaném stavu.

Vakcinační virus se pomnožuje na buněčných kulturách králíčích tkání, při teplotě 32 až 34 °C po dobu 36 až 96 hodin, pokud se cytopatogenní efekt nerozšíří na 80 až 100 % plochy buněčného porostu. Pro pomnožování viru je možné použít primární, diploidní a liniové buňky králíčí, zpravidla odvozené z kory ledviny, zpravidla po dobu 36 až 48 hodin po infekci kultur.

Výrobní apatogenní vakcinační kmen je nutno pomnožovat v buněčných kulturách králíčích ledvin při teplotě 33 °C, kdy při jeho aplikaci je dosahováno až 10^7 TKID₅₀ v 1 cm³ apatogenního, plně imunogenního kmene myxomatózy.

Tabulka - 1 Neškodnost viru pro králíky

Způsob aplikace	Dávka vakcíny cm ³	Násobek překročení vakc. dávky	Počet zvířat	Reakce v průběhu sledování po dobu 21 dnů
Podkožně	2	1 x	2	bez reakcí
Vnitrokožně	4 x 0,25	-	2	bez reakcí
Podkožně	1	-	8	bez reakcí
Podkožně	40 rozděleně	40 x	4	bez reakcí

Z výsledků, uvedených v tabulce 1 je zřejmé, že virus je nepatogenní pro králíky při podkožní a vnitrokožní aplikaci. Po podkožní aplikaci 40krát překročené vakcinační dávky viru odstaveným králíkům nedošlo k žádným změnám.

Tabulka - 2 Immunogenost viru

Způsob aplikace	Dávka vakcíny cm ³	Členžní dávka viru myx.	Počet zvířat	Výsledek po členžní přežilo onemocnělo	
Podkožně	1	1000 ID ₅₀	8	8	0
Nevakc. kontroly	-	1000 ID ₅₀	2	0	2

Virus ve vakcinační dávce 1 cm³ si udržuje velmi dobré imunogenní vlastnosti a 100 % chrání králíky proti 1000 ID₅₀, použitých k členžní 9. den po aplikaci viru.

Tabulka - 3 Immunogenost viru po podkožní aplikaci

Dávka viru o TKID ₅₀ v 1 cm ³	Doba členže	Počet králíků	Výsledek po členžní	
			přežilo	onemocnělo
10 ^{5,1}	9. den po aplikaci	3	3	0
10 ^{4,1}	viru členž 1000 ID ₅₀	3	3	0
10 ^{3,1}	plně virulentního	3	3	0
10 ^{2,1}	viru myxomat.	3	0	3
10 ^{1,1}		3	0	3
kontroly		2	0	2

Výsledky v tabulce 3 ukazují, že imunita po aplikaci vakcinačního viru je dobře vyvinutá již 9. den po jeho podání a přibližně 1250 TKID₅₀ vakcinačního viru chrání proti podání 1000 ID₅₀ členžního viru myxomatózy.

202 788

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Apatogenní kmen viru myxomatózy králíků - Myxoma virus - CAPM V-219 lyofilizovaný se schopností reprodukce vlastní virové substance na buněčných kulturách.