



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **120327**

(13) **U**

(51) МПК

A61K 39/108 (2006.01)

A61K 39/116 (2006.01)

A61K 39/112 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 04963**

(22) Дата подання заявки: **22.05.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.10.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.10.2017, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):

**Гадзевич Дмитро Вікторович (UA),
Гадзевич Ольга Вікторівна (UA),
Стегній Борис Тимофійович (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
"ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ
НАУК УКРАЇНИ,
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)**

(54) ВАКЦИНА ІНАКТИВОВАНА СУБОДИНИЧНА ПРОТИ САЛЬМОНЕЛЬОЗУ ТА ЕШЕРИХІОЗУ ТВАРИН

(57) Реферат:

Вакцина інактивована субодична проти сальмонельозу та ешерихіозу тварин містить інактивовані антигени ешерихій і сальмонел, ад'ювант - гідроокис алюмінію, інактиватор. При цьому використовують як інактиватор - формалін, як продуценти екзотоксинів і адгезивних антигенів - Salmonella Dublin № 12, Salmonella Typhimurium № 16, Salmonella Enteritidis № 34 та Escherichia coli, що синтезують адгезивні антигени K99 (№ 957), F41 (№ 688), Att25 (№ 4), K88ad (№ 661/7), а також штами-продуценти термолабільного (№ 866) і термостабільного (№ 60) ентеротоксинів.

UA 120327 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, біотехнології, імунології, мікробіології і зокрема, до виробництва і застосування біологічних препаратів. Вакцина зареєстрована в Україні [реєстраційне посвідчення № ВВ-00040-02-14, від 03.04.2014]. Призначена вакцина для активної профілактики сальмонельозу та ешерихіозу (колібактеріозу) телят, поросят, тільних корів, поросних свиноматок.

Відома вакцина проти ешерихіозу тварин [КОЛІ-ВАК К88, К99, 987Р, F41, ТЛ - і ТС-анатоксин) (Патент РФ № 2043771 А61К 39/108 Вакцина проти ешерихіозу тварин, опубліковано: 20.09.1995)]. Вакцина проти ешерихіозу тварин (КОЛІ-ВАК) виготовлена з культур ешерихій серогрупи: О8, О9, О15, О20, О26, О41, О55, О78, О86, О101, О115, О117, О119, О138, О139, О141, О147, адгезивних антигенів К88, К99, 987Р, F41, термолабільного і термостабільного анатоксинів, інактивованих формаліном (0,3 % за обсягом) з додаванням як ад'юванта гелю гідрату окису алюмінію (30 % за обсягом).

Відома вакцина полівалентна гідроокисалюмінієва формол-тіомерсалова проти колибактеріозу (ешерихіозу) поросят, телят, ягнят [Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник / Під ред. Вербицького П.І. та Головка А.М. - К.: Реферат, 2004. - С. 78].

Вакцину полівалентну гідроокисалюмінієву формол-тіомерсалову проти колибактеріозу (ешерихіозу) поросят, телят, ягнят виготовляють у двох варіантах, використовуючи *E.coli* наступних серологічних груп і сероварів: Перший варіант - Вакцина проти колибактеріозу поросят: О8: К43; О9: К30; О78: К80; О138: К81; О139: К82; О141: К87; К88, О147: К89; К88, О149: К91; К88. Другий варіант - Вакцина проти колибактеріозу телят і ягнят: О8: К43, О9: К30, О15: К14; Н30, О20, О26: К60, О41, О55, О78: К80, О86: К61; Н32, О115, О117: К62; Н4, О119: К69; Н4, О101: К99. Як ад'ювант використовують гель гідрату окису алюмінію.

Недоліком цих препаратів є те, що вони призначені для профілактичної імунізації тварин тільки проти колибактеріозу. Вакцини, як закордонні препарати, є дорожчими та мають недостатню імунологічну активність, у телят тривалість імунітету складає 4 місяці. До складу вакцин входять штами, що є епізоотично-актуальні для Російської Федерації, а не для України. До складу вакцин не входить штам *E.coli*, що продукує адгезини Att25, отже при застосуванні цих вакцин у тварин відсутній імунітет проти адгезивних антигенів Att25, а при застосуванні вакцини полівалентної гідроокисалюмінієвої формол-тіомерсалової проти колибактеріозу (ешерихіозу) поросят, телят, ягнят, ще проти адгезивних антигенів F41 та 987Р. Крім цього наявність різних варіантів вакцини є незручним для придбання та використання в господарствах, де є різні види тварин. У своєму складі вакцини не містять антигени роду *Salmonella*, в той час як у тварин має місце асоційований перебіг колибактеріозу та сальмонельозу.

Відома вакцина проти сальмонельозу телят із атенуйованого штаму *Salmonella* Dublin № 6 [Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник / Під ред.Вербицького П.І., Головка А.М. - К.: Реферат, 2004. - С. 97].

Недоліком вакцини є те, що вона призначена для профілактичної імунізації тварин тільки проти сальмонельозу, у той час, як у тварин часто реєструється асоційований перебіг захворювань. Вакцина містить тільки один штам сальмонел - *Salmonella* Dublin, у той час, як захворювання у тварин спричиняють ще інші збудники сальмонельозу, зокрема *Salmonella* Typhimurium та *Salmonella* Enteritidis.

Найбільш близькою за антигенним складом та технологічною суттю до рішення, що заявляється, є вакцина, асоційована проти діареї телят [патент РФ № 2035916 від 27.05.1995, МПК: А61К 039/116]. Вакцина включає суміш мікробних суспензій ентеробактерій *E.coli* О9: К99, *E.coli* О138: К88, *E.coli* 200, *Salmonella* typhimurium 195, *Salmonella* dublin 196, *Salmonella* enteritidis 197, *Klebsiella pneumoniae* 201, 202, *Proteus vulgaris* 198 і *Proteus mirabilis* 199, інактивованих етанолом і депонованих на гідроокисі алюмінію.

Але застосування даного препарату не забезпечує захист від хвороботворної дії збудників *E. coli*, яким властиві феноміни токсиноутворення та адгезії, зокрема до складу вакцини не включені штами *E.coli* з адгезивними антигенами Att25, F41 та 987Р. Для виготовлення вакцини використовуються штами мікроорганізмів, які циркулюють на території Російської Федерації. Тому при застосуванні вакцини у господарствах України бажаного результату може і не бути. Крім цього як комерційна та зарубіжна вакцина, вона є дорожчою ніж вітчизняні аналоги.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити інактивовану вакцину проти сальмонельозу та ешерихіозу тварин, що містить інактивовані антигени ешерихій і сальмонел, ад'ювант - гідроокис алюмінію, інактиватор шляхом використання як інактиватора - формаліну, використання як продуцентів екзотоксинів і адгезивних антигенів *Salmonella* Dublin № 12, *Salmonella* Typhimurium № 16, *Salmonella* Enteritidis № 34, та *Escherichia coli*, що синтезують адгезивні антигени К99 (№ 957), F41 (№ 688), Att25 (№ 4), К88ad (№ 661/7), а також штами-

продуценти термолабільного (№ 866) і термостабільного (№ 60) ентеротоксинів, щоб забезпечити ефективність вакцини.

Порівняльний аналіз із прототипом дозволяє зробити висновок, що використання для виробництва вакцини антигенів (анатоксинів та комплексних соматичних протективних антигенів) епізоотично-актуальних для тваринницьких господарств України штамів збудників ешерихіозу та сальмонельозу, а саме: *Salmonella* Dublin № 12, *Salmonella* Typhimurium №16, *Salmonella* Enteritidis № 34, які є продуцентами екзотоксинів і адгезивних антигенів та *Escherichia coli*, що синтезують адгезивні антигени K99 (№ 957), F41 (№ 688), Att25 (№ 4), K88ad (№ 661/7), а також штам-продуценти термолабільного (№ 866) і термостабільного (№ 60) ентеротоксинів, що відповідає критерію "новизна".

Вакцину готують таким чином.

Для вирощування виробничих штамів ешерихій і сальмонел використовують агар та бульйон на триптичному переварі яловичини (перевар Хоттінгера). Культивування виробничих штамів-продуцентів адгезивних антигенів та ентеротоксинів проводять окремо за температури 37 °С. Для отримання анатоксинів виробничі штам сальмонел та ешерихій культивують у бульйоні Хоттінгера, спочатку в пробірках впродовж 48-72 годин, потім бактеріальну розплідку засівають у матраці об'ємом 2000 см³ або інші стерильні ємності, призначені для культивування мікроорганізмів з бульйоном Хоттінгера, та культивують впродовж 10-18 годин. Після культивування бактеріальну масу відокремлюють за допомогою центрифугування, після чого до бактеріальної маси додають 0,5 % формаліну та розміщують у термостаті за температури 37 °С, утримуючи там впродовж 14-15 діб.

Для отримання адгезинів виробничі штам сальмонел та ешерихій культивують на агарі Хоттінгера, спочатку в пробірках впродовж 24 годин, потім матричну розплідку пересівають у пробірки з бульйоном Хоттінгера і культивують впродовж 48-72 годин. Отримані бактеріальні розплідки засівають у матраці об'ємом 2000 см³ з бульйоном Хоттінгера або інші стерильні ємності, призначені для культивування мікроорганізмів. Культивують розплідки впродовж 10-15 годин, після чого до суспензії додають фосфатно-сольовий буфер (рН - 7,0-7,2). Отриману суспензію бактеріальної маси інкубують протягом 30-35 хвилин за температури 62-65 °С. Після цього центрифугуванням відокремлюють бакмасу, до якої вносять 0,5 % формалін, все перемішують та на 10-15 діб розташовують до термостату з температурою 37 °С.

Отримані таким чином антигени (адгезивні та анатоксини) сальмонел і ешерихій об'єднують у рівному співвідношенні.

Екстракт адгезивних антигенів і екзотоксинів ешерихій та екстракт адгезивних антигенів і екзотоксинів сальмонел при постійному перемішуванні змішують у рівному співвідношенні.

До комплексного антигену при постійному перемішуванні додають стерильний гідроксал (10 % від об'єму антигену) та ще перемішують 10-15 хвилин. Перевіряють рН і доводять його до 7,2-7,4 за допомогою 10 %-вого розчину їдкого натру або до комплексного антигену додають при постійному перемішуванні стерильну суспензію аеросилу розчині 0,9 % натрію хлориду (10 % від об'єму антигену).

Приклад 1.

Імуногенність серії вакцини перевіряли на 40 білих мишах. 20-ти мишам вводили вакцину підшкірно дворазово з інтервалом 14 діб у дозі 0,5 см³ (1 млрд. мікр. клітин). Інших 20 мишей, які залишились, не вакцинували (контрольна група). Через 14 діб після другого введення вакцини 10 щеплених мишей заражали внутрішньочеревно культурою контрольного штаму сальмонел *S.dublin* №12 у дозі 0,5 см³ (1 млрд. мікр. клітин) добової бульйонної культурою та інших 10 щеплених мишей культурою контрольного штаму *E. coli* № 866 у дозі 0,5 см³ (1 млрд. мікр. клітин) добової бульйонної культури. Мишей контрольних груп заражали внутрішньочеревно культурою контрольних штамів мікроорганізмів *S.dublin* №12 у дозі 0,5 см³ (1 млрд. мікр. клітин) добової бульйонної культури (10 тварин) та інших 10 щеплених мишей культурою контрольного штаму *E. coli* № 866 у дозі 0,5 см³ (1 млрд. мікр. клітин) добової бульйонної культури.

Вакцина була імуногенною. Після контрольного зараження більш 80 % вакцинованих мишей залишилися здоровими та живими, а миші контрольних груп загинули в 100 % випадків за 10 діб спостереження. Напружений імунітет у вакцинованих тварин формується через 21 добу після вакцинації і зберігається 6-12 місяців. Вакциновані корови та свиноматки з молозивом передають специфічні антитіла телятам і поросяткам, що захищають їх від захворювання на сальмонельоз та колібактеріоз (ешерихіоз) впродовж одного місяця після народження.

Приклад 2.

Вакцину застосовують із профілактичною метою в господарствах неблагополучних щодо сальмонельозу та ешерихіозу (колібактеріозу) тварин. Вакцинації підлягають клінічно здорові тварини. Вакцину вводять тваринам внутрішньом'язово двічі з інтервалом між ін'єкціями 10-14

дiб. Тiльним коровам вводять вакцину в дозi 10 см³, свиноматкам в дозi 6-8 см³. Перше щеплення проводять за 45-30 дiб, друге щеплення за 30-15 дiб до передбачуваних родiв. Для формування специфiчного активного iмунiтету телятам вводять вакцину з 10-добового вiку у дозi 5 см³. Поросятам з 10-добового вiку по 1-1,5 см³, старше 60-добового вiку - по 2-2,5 см³.

5 Таким чином, вакцина, що заявляється, має бiльш високу профiлактичну та iмунологiчну активнiсть та супроводжується меншими трудозатратами при її використаннi у тваринницьких хазяйствах.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Вакцина iнактивована субодинична проти сальмонельозу та ешерихiозу тварин, що мiстить iнактивованi антигени ешерихiй i сальмонел, ад'ювант - гiдроокис алюмiнiю, iнактиватор, яка **вiдрiзняється** тим, що використовують як iнактиватор - формалiн, як продуценти екзотоксинiв i адгезивних антигенiв - Salmonella Dublin № 12, Salmonella Typhimurium № 16, Salmonella Enteritidis № 34 та Escherichia coli, що синтезують адгезивнi антигени K99 (№ 957), F41 (№ 688), Att25 (№ 4), K88ad (№ 661/7), а також штами-продуценти термолабiльного (№ 866) i термостабiльного (№ 60) ентеротоксинiв.

15

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Мiнiстерство економiчного розвитку i торгiвлi України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Киiв, 01008, Україна

ДП "Український iнститут iнтелектуальної власностi", вул. Глазунова, 1, м. Киiв – 42, 01601