

Изобретение относится к микробиологии и может быть использовано в биотехнологии для приготовления противотуберкулезной вакцины у животных и человека, в практической работе бактериологических лабораторий и научно-исследовательских институтах.

Известный штамм W 115 - типичный R-вариант, на синтетических или яичных средах растет на 7 - 14 день при температуре 37°C. В мазках, окрашенных по Цилю - Нильсену, под микроскопом выглядит в виде длинных, тонких кислотоустойчивых палочек. Имеет интенсивную нитратную реакцию, положительную нитратредуктазу и отрицательную пиразинамидазу. По антигенной структуре W 115 является идентичной культурой H<sub>37</sub>R<sub>v</sub>. Патогенный для морских свинок, белых мышей, кроликов и обезьян в дозах 0,001, 0,1, 0,5, 5, 10 и 20 мг. Обладает меньшими иммунизирующими свойствами для морских свинок, чем вакцина БЦЖ. При этом эти свойства не стабильные (Вейсфейлер Ю.К. Биология и изменчивость микобактерий туберкулеза и атипичных микобактерий. - Будапешт, 1975. - С.153 - 154).

Хорошо известен штамм БК-Харьков, полученный путем пассажа лабораторного штамма Vallee на среде с добавлением мутагена. По культуральным свойствам штамм БК-Харьков не отличается от исходного штамма Vallee. По морфологическим свойствам микобактерий БК-Харьков слегка изогнутые, иногда с утолщениями на концах, полиморфные, окрашиваются в красный цвет по методу Циля - Нильсена, грамположительные палочки, размером 0,5 - 0,8 мкм. В цитоплазме бактерий выявляется зернистость, представленная фосфатными гранулами и вакуолями. Растет на элективных для микобактерий питательных средах в виде изолированных колоний в R-форме. На поверхности жидких сред вначале образует тонкую прозрачную, а затем рыхлую, морщинистую пленку светло-серого цвета или светло-желтого цвета при температуре 38°C. По биохимическим свойствам штамм является нитратоотрицательным. Имеет выраженную дегидрогеназную, нитратную, липазную, каталазную и пероксидазную активность. Непатогенный для морских свинок, кроликов и мышей (Дикий И.Л. Основные свойства вакцинного штамма микобактерий туберкулеза "БК-Харьков" // Микробиологический журнал. - К.: Наук. думка, 1982. - Т.44. - №4. - С.48 - 51).

Наиболее близким по техническому решению к заявляемому объекту является вакцинный штамм БЦЖ - типичный R-вариант, который на плотных яичных средах растет в виде плоских или розеткообразных колоний. На жидкой части среды Павловского дает рост в виде сухой с шероховатой поверхностью пленки.

Из недостатков вакцинного штамма БЦЖ следует отметить, что он значительно ослабил первоначальное иммуногенное свойство, появились антибиотикорезистентные субштаммы, характеризующиеся антигенной и иммуногенной дефектностью. В национальных коллекциях отсутствуют субштаммы, обладающие иммуногенностью на уровне исходного штамма БЦЖ. Все это отрицательно влияет на эффективность профилактики туберкулеза с помощью вакцинного штамма БЦЖ. Кроме того,

известные штаммы обладают сходными морфологическими, культуральными, тинкториальными и некоторыми биохимическими свойствами, но они не обладают высокими протективными свойствами.

Задача изобретения - изыскание нового вакцинного штамма с более высокими иммуногенными свойствами, позволяющего защитить животных от туберкулезной инфекции.

Поставленная задача решается использованием аттенуированного штамма бычьего вида "М-Украина" для приготовления противотуберкулезной вакцины.

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод, что заявляемый штамм "М-Украина" отличается от известного вакцинного штамма БЦЖ, широко применяемого для специфической профилактики туберкулеза человека и животных, новым свойством - высокой протективной защитой, что соответствует критерию "Новизна". Это свойство не обнаружено при анализе других штаммов, что дает основание заявить о соответствии предлагаемого изобретения критерию "изобретательский уровень".

Вакцинный штамм "М-Украина" получен из эпизоотической культуры возбудителя туберкулеза бычьего вида путем аттенуации патогенных свойств многократными пассажами на разработанной нами среде, содержащей различные концентрации эк-терицида. Исходный штамм выделен от убитой с диагностической целью коровы с характерными для туберкулеза изменениями в бронхиальных лимфатических узлах, реагировавшей на туберкулин. На основании изучения морфологических, культуральных и биологических свойств с использованием морских свинок и кроликов, выделенную культуру отнесли к возбудителю туберкулеза бычьего вида высокой вирулентности.

Штамм "М-Украина" депонирован в коллекции микобактерий Института экспериментальной и клинической ветеринарной медицины под номером 175. Вакцинный штамм "М-Украина" №175 отнесен к порядку Actinomycetales, семейству Mycobacteriaceae, роду Mycobacterium, виду bovinus и характеризуется следующими морфологическими, культуральными, биохимическими признаками. Это кислотно-спиртоустойчивые палочки, в среднем длина 1 - 2 мкм и ширина 0,2 - 0,3 мкм. В мазках, окрашенных по Цилю - Нильсену, выглядят в виде полиморфных палочек с закругленными краями, внутри выявляется зернистость, расположенных единично или кучками. Хорошо растет на яичных питательных средах, а также на усовершенствованной среде Павловского при температуре 38°C. На плотных яичных средах штамм растет в виде мелких, единичных или слившихся между собой колоний, возвышающихся над поверхностью среды светло-серого цвета в течение 20 - 30 дней. На картофельном клине среды Павловского штамм растет в виде круглых, слившихся колоний с гладкой поверхностью светло-серого цвета. На жидкой части среды образует тонкую серую пленку, которая при встряхивании легко тонет, образуя рыхлый осадок.

Штамм имеет слабо выраженную каталазную и пероксидазную реакцию, положительную

дегидрогеназную активность и отрицательные реакции с Твин-80 и теллуридом калия.

При пятикратном пассаже на морских свинках у штамма не наблюдается реверсия к увеличению патогенных свойств.

Штамм непатогенный для морских свинок при введении подкожно в дозах 5 и 10 мг в см<sup>3</sup>, что отвечает требованиям инструкции МЗ СССР от 27.04.54г. применительно к противотуберкулезным вакцинам.

Для изучения протективных свойств у штамма "М-Украина" отобрали 15 клинически здоровых отрицательно реагирующих на туберкулин морских свинок, которых разделили на три группы по 5 голов в каждой. Первая и вторая группы - опытные, а третья - контрольная. Из культур "М-Украина" и БЦЖ, выращенных в течение 4 - х недель на модифицированной среде Павловского, делали взвеси на физрастворе, которые вводили первой группе штамм "М-Украина", а второй группе - вакцинный штамм БЦЖ в дозе 1 мг/см<sup>3</sup>. Контрольную группу не прививали. Через 52 дня после прививки морских свинок всех трех групп заразили возбудителем туберкулеза бычьего вида (штамм "Крушинский") в дозе 0,00001 мг/см<sup>3</sup>. По истечению 5 - ти месячного срока наблюдения всех опытных и контрольных животных подвергли диагностическому убою.

Результаты сравнительного изучения протективных свойств у предлагаемого штамма "М-Украина" и вакцинного штамма БЦЖ (прототип) на морских свинках представлены в таблице.

Сравнительный анализ полученных данных показал, что предлагаемый штамм обладает более высокими защитными свойствами, чем вакцинный штамм БЦЖ.

В контрольной группе у морских свинок при вскрытии во внутренних органах выявили генерализованную форму туберкулеза.

Таким образом, использование штамма "М-Украина" для приготовления противотуберкулезной вакцины позволит повысить эффективность специфической защиты против туберкулеза и животных и человека, снизить затраты на проведение профилактических мероприятий в хозяйствах, а также улучшит эпизоотическую ситуацию по туберкулезу в стране.

Таблица

№ п/п	Штаммы	К-во ж-х	Доза за- раже- ния	Степень поражения туберкулезом				Эффек- тив- ность, %
				отсутст- вие	слабая	средняя	тяжелая	
1	Предлагаемый	5	0,00001	5	—	—	—	100,0
2	Прототип	5	—	4	1	—	—	80,0
контроль								
3	"Крушинский"	5	0,00001	—	—	—	5	—