



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41546 (13) C2

(51) 7 A61K39/085, A61K39/09

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

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ВАКЦИНИ ПРОТИ СТРЕПТОКОКОВИХ ТА/АБО СТАФІЛОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ У ТВАРИН

1

2

(21) 99126721

(22) 10 12 1999

(24) 15 06 2004

(46) 15 06 2004, Бюл. № 6, 2004 р.

(72) Ушкалов Валерій Олександрович, Головка
Анатолій Миколайович, Соломоненко Владислав
Віталієвич(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

(56) SU 1706631, 23 01 92

RU 2035189, 20 05 95

RU 2122862, 10 12 98

(57) Спосіб виготовлення вакцини проти стрепто-
кокових та/або стафілококових інфекцій у тварин,

що включає культивування токсигенних штамів стафілококів у рідкому живильному середовищі, виділення анатоксину та комплексу протективних антигенів та їх детоксикації формаліном, який відрізняється тим, що виділяють комплекс протективних антигенів екстрагуванням у дистильованій воді при 58-60°C протягом 2-х годин, додатково до складу вакцини вводять антигени токсигенних штамів стрептококів, об'єднують антигени, виділені із виробничих штамів стрептококів і стафілококів у співвідношенні 1:1 та вносять ад'ювант

Передбачуваний винахід відноситься до ветеринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до способів виготовлення засобів специфічної профілактики стрептококових та/або стафілококових інфекцій у тварин і може бути використаний для імунізації та імунотерапії захворювань, що зумовлені даними мікроорганізмами

Існують способи одержання формолвакцини проти диплококової септицемії телят, ягнят і поросят (Ветеринарные препараты. Справочник. Под ред. Д.Ф. Осидзе, М. 1981) та анатоксин-вакцини проти стафілококоза птахів (Авторское свидетельство СССР №1706631, кл. А61А39/085, 1989), які передбачають культивування вакцинних штамів в рідкому живильному середовищі з подальшою інактивацією культур формаліном. В ветеринарній практиці широкого застосування набув вакцинний препарат "АСП" - анатоксин стафілококовий polyvalentний (Ветеринария, 1995 - №5 - с. 53-56).

Найбільш близькими за технічним рішенням до об'єкту, що заявляється, є спосіб одержання анатоксин-вакцини проти стафілококоза птахів

Недоліком вказаних препаратів є те, що за їх допомогою можна індукувати розвиток імунітету до одного із вказаних мікроорганізмів. В той же час відомо, що досить часто у тварин виникають захворювання, обумовлені патогенними стрептоко-

ками та стафілококами у вигляді як моноінфекцій та і мікстинфекцій

Прототипом може бути вакцина, виготовлена згідно з АС №1706631. Але з її допомогою не можна забезпечити захист щеплених тварин проти інфекцій стрептококової етіології

В основу винаходу, що передбачається, поставлено завдання одержання бивалентної вакцини проти стрептококових і стафілококових інфекцій у тварин. Завдання вирішується завдяки тому, що до складу вакцини вводять екзотоксини виробничих штамів бактерій та комплекс протективних антигенів збудників, виділених з бакмаси виробничих штамів за допомогою екстрагування в дистильованій воді при 58-60°C протягом 2 годин, інактивацію антигенів формаліном, об'єднання компонентів у співвідношенні 1:1, внесенням в одержану суміш ад'юванту. До складу готової вакцини входять такі компоненти: комплексний стрептококовий антиген, комплексний стафілококовий антиген, гідрооксид алюмінію, формалін

Приклад 1. Виготовлення вакцини

Для виготовлення вакцини використовують штами *Streptococcus faecalis* та *Staphylococcus aureus* з токсигенними та/або гемолітичними і адгезивними властивостями. Штами вказаних мікроорганізмів висівають в пробірки з бульйоном Хотінгера, який вміщує 1% глюкози і культивують при

(13) C2

(11) 41546

(19) UA

57°C протягом 72-74 годин. Отриманою матричною культурою засівають ємкості, що вміщують бульйон Хоттінгера з 1% глюкози і культивують при 37°C 72-86 годин. Бакмасу відділяють за допомогою центрифугування або сепарації. В отриманні супернатанти бульйонних культур (токсинвміщуючий матеріал) вносять 0,3% формаліну і знезаражують при 37-38 °C протягом 10 діб. Бакмасу суспензують в дистильованій воді (рН 6,5-6,8) до концентрації $80-100 \times 10^8$ мкр кл /мл і витримують на водяній бані при температурі 58-60°C протягом 2-х годин. Після чого бакмасу відділяють за допомогою центрифугування або сепарації, в одержані супернатанти вносять 0,3% формаліну і знезаражують (37-38°C - 10 діб). Після закінчення інактивації всі компоненти перевіряють на стерильність та нешкідливість загальноприйнятими методами. Після чого комплексні стрептококові та стафілококові антигени об'єднують у співвідношенні 1:1, в суміш вносять 10% гідрооксиду алюмінію та 0,1% формаліну.

Приклад 2. Визначення стерильності і нешкідливості.

Стерильність вакцини визначають згідно ГОСТу 28085-089. Нешкідливість визначають загальноприйнятими методами на лабораторних твари-

нах (мишах, морських свинках).

Приклад 3. Визначення імуногенності.

20-30 мишам (18-20г) вакцину вводять підшкірно в дозі 0,3см³ дворазово з інтервалом між ін'єкціями 14-21 день. Через 2 тижні після останнього введення вакцини мишей заражають інтраперітонеально раніше відтитрованою летальною дозою тридобової бульйонної культури кожного з виробничих штамів. Спостереження за зараженими тваринами ведуть протягом 7-10 діб. Вакцина вважається імуногенною в тому разі, коли забезпечує захист від інфекції не менше 70% заражених тварин.

Вакцина може застосовуватися для профілактики захворювань стрептококової і стафілококової етіології в неблагополучних по даним інфекціям господарствах різної форми власності, які спеціалізуються на скотарстві, вівчарстві, свинарстві, коневодстві, козівництві, хутровому звіроводстві, а також в розплідниках службових порід собак, декоративних порід собак та кішок в віваріумах-розплідниках лабораторних тварин (мишей, щурів, морських свинок, кролів). В результаті використання цього способу можна досягти стійкого благополуччя господарств по захворюванням стрептококової та/або стафілококової етіології.