



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 53940

(13) A

(51) 7 A61K39/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ІНАКТИВОВАНА ЕМУЛЬСИН-ВАКЦИНА З ШТАМУ BRUCELLA OVIS 67/Б ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО ЕПІДИДИМІТУ БАРАНІВ

1

2

(21) 2002032280

(22) 22 03 2002

(24) 17 02 2003

(46) 17 02 2003, Бюл. № 2, 2003 р.

(72) Бабкін Анатолій Федорович, Орлов Сергій  
Миколайович, Галіщев Микола Гнатович(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І  
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Інактивована емульсин-вакцина проти  
інфекційного епідидиміту баранів з імуногенного  
штаму і масляного ад'юванту, яка відрізняється  
тим, що як імуногенний штам використовується  
інактивована суспензія штаму Brucella ovis 67/Б

Винахід відноситься до ветеринарної мікробіології та біотехнології, саме для використання в виробництві інактивованої вакцини проти інфекційного епідидиміту (ІЕ) баранів.

Важливим засобом боротьби з інфекційним епідидимітом баранів є специфічна профілактика з застосуванням інактивованих вакцин.

Відома інактивована емульсин-вакцина зі штаму B ovis 64 (колекція ВІЕВ, Росія) проти ІЕ баранів, яка використовується для профілактики цього захворювання в вівцегосподарствах (Ветеринарія, - 1998 - №3, С 15 - 20). Виготовлення цієї вакцини в біологічній промисловості України неможливе за відсутності штаму B ovis 64. Також в складі вакцини проти ІЕ баранів застосовують більш в'язкий ад'ювант на основі ланоліну, який теж відсутній в Україні.

Для специфічної профілактики бруцеляозної інфекції необхідно мати ефективну інактивовану емульсин-вакцину проти ІЕ баранів з імуногенного штаму Brucella ovis 67/Б.

В основу винаходу, що передбачається, поставлено завдання виготовлення інактивованої емульсин-вакцини з імуногенного штаму проти ІЕ баранів, шляхом інактивування суспензії штаму Brucella ovis 67/Б і з'єднання її з масляним ад'ювантом, щоб забезпечити специфічну профілактичну ІЕ баранів.

Вакцинний штам B ovis 67/Б депоновано в колекції мікроорганізмів лабораторії вивчення хвороб рогатої худоби Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, де і зберігається.

Імуногенні властивості інактивованої емульсин-вакцини проти ІЕ баранів з вакцинного штаму

B ovis 67/Б пояснюються наступними прикладами.

## Приклад 1

Культуру вакцинного штаму B ovis 67/Б вирощували МПППГА з 10% сироватки ВРХ в умовах збільшеної кількості CO<sub>2</sub> в атмосфері вирощування впродовж 3-х діб. Культуру бактерій змивали фізіологічним 0,85% розчином натрію хлориду. Суспензію бруцеля овіс інактивували формаліном в концентрації 0,4% при t 37°C одну добу, досліджували на стерильність і повноту інактивації способом висівів на МПППГБ і МПППГА з сироваткою в умовах збільшеної кількості CO<sub>2</sub> при 137°C. Інактивовану суспензію бруцеля овіс змішували на гомогенізаторі з масляним ад'ювантом, контролювали препарат на стерильність способом висівів на МПППГБ, МПППГА з сироваткою, середовище Кітт-Тароцці при t 37°C, а також висівів на середовище Сабуро при t 22 - 24°C впродовж 10 діб. Суспензію бруцеля овіс інактивували формаліном в концентрації 0,4% при t 37°C одну добу, контролювали на стерильність і змішували на гомогенізаторі з масляним ад'ювантом. Виготовили дві мікросерії інактивованої емульсин-вакцини. Двом дослідним групам морських свинок по 12 голів вводили під шкіру вакцину в дозі 20 і 200 млн м.к. в об'ємі 0,5 см<sup>3</sup>, контрольній групі (11 голів) - ад'ювант з фізрозчином. Серологічні дослідження, проведені до зараження, виявили в сироватці всіх щеплених морських свинок антитіла в РТЗК в титрі 1 : 5 - 1 : 10 (0,93 ± 0,041g) і в РІД - позитивна реакція з бруцеляозним антигеном. Через 2 місяці після вакцинації тварин щеплених і контрольної груп заразили вірулентним штамом B ovis 8406 підшкірно в дозі 2 млрд м.к. Діагностичний забій, серологічні та бактеріологічні дослідження провели через

(13) A

(11) 53940

(19) UA

45 діб після зараження. У щеплених тварин бруцеляозна серопозитивність становила в РТЗК – 1 5 – 1 10 ( $0,98 \pm 0,021g$ ) та РІД. В контрольній групі інфікованих морських свинок виявили 81,8% реагуючих в РТЗК в титрі не більше 1 5 і 36,4% тварин – в РІД. Бактеріологічними дослідженнями імунитет в 1-й групі виявлено у 11 з 12 морських свинок (91,6%) і в 2-й групі у всіх 12 морських свинок (100%). В контролі культуру *B. ovis* виділили у 10 (90,9%) морських свинок з індексом інфікованості (ІІ) – 36,8%. Встановлено також, що щеплення емульсин-вакциною не викликала бруцельозної серопозитивності з S-антигеном в РБП, РА і РЗК.

#### Приклад 2

По технології, що наведена в прикладі 1, виготовлена експериментальна серія №1 інактивованої емульсин-вакцини. Концентрація бруцел в серії вакцини складала 2,5млрд м.к./см<sup>3</sup>. Вакцину інюкулювали 5 морським свинкам підшкірно в дозі 1,25млрд м.к. в об'ємі 0,5см<sup>3</sup>, 5 морським свинкам контрольної групи препарат не вводили. Через 40 діб після імунізації морських свинок заразили вірулентним шт. *B. ovis* 65939 в дозі 2млрд м.к. Через місяць провели діагностичний забій з відбором сироватки крові. При бактеріологічному дослідженні коси і лімфовузлів культуру заражаючого штаму реізолювано у 5 морських свинок контрольної групи з ІІ – 80,0%, у вакцинованих тварин культура не виділена. У щеплених морських свинок встановлена більша бруцеляозна серопозитивність в РТЗК – 1 80 – 1 160 ( $2 \pm 0,121g$ ) і РІД – 1 2 – 1 8 ( $1,7 \pm 0,811og_2$ ), а в контрольній групі тільки в РТЗК – 1 5 – 1 10 ( $0,88 \pm 0,081g$ ).

#### Приклад 3

Випробування інактивованої емульсин-вакцини серії №1 на антигенність та імуногенність провели в двох дослідках на 10 вакцинованих і 8 контрольних баранах в віці 9 місяців. Вакцину інюкулювали підшкірно в області паху в дозі 5млрд м.к. в об'ємі 2,0см<sup>3</sup>. Контрольним 4-м баранам вводили ад'ювант на фізрозчині, а другим чоти-

рьом баранам препарат не застосовували. Через 6 (дослід 1) і 12 (дослід 2) місяців після вакцинації щеплених та контрольних баранів заразили суспензією 3-х добової культури бруцела овіс в концентрації 5млрд м.к. штаму *B. ovis* 8406 і штаму *B. ovis* 08337 шляхом аплікації по 0,1см<sup>3</sup> на кон'юнктиву обох очей та по 0,8см<sup>3</sup> на слизову препуцію. Діагностичний забій і бактеріологічне дослідження провели через 30 – 58 діб після зараження.

При дослідженні в РА, РТЗК, РІД з бруцеляовісним антигеном у вакцинованих баранів в двох дослідках виявили серопозитивність до зараження. Бруцеляовісна серопозитивність зберігається до кінця дослідження. В першому досліді титри в РА були – 1 25 – 1 100 ( $1,76 \pm 0,131g$ ), РТЗК – 1 10 – 1 80 ( $1,36 \pm 0,161g$ ), РІД – 1 4 – 1 16 ( $2,2 \pm 0,721og_2$ ), в другому досліді титри в РА – 1 25 – 1 100 ( $1,7 \pm 0,141g$ ), РТЗК – 1 5 – 1 80 ( $1,3 \pm 0,281g$ ), РІД – 1 32 – 1 64 ( $5,3 \pm 0,551og_2$ ). Бактеріологічне дослідження після контрольного зараження через 6 і 12 місяців були від'ємні, що показує о повному захисті щеплених тварин.

В контрольних інфікованих групах після зараження барани позитивно реагували в серологічних реакціях з бруцеляовісним антигеном. В першому досліді титри в РА – 1 25 ( $1,4 \pm 0,1g$ ), РТЗК – 1 5 ( $0,35 \pm 0,231g$ ) і в РІД – позитивно, в другому досліді титри в РА – 1 25 – 1 50 ( $1,2 \pm 0,461g$ ), РТЗК – 1 10 ( $1,0 \pm 0,1g$ ), РІД – 1 8 – 1 16 ( $3,8 \pm 0,281og_2$ ). В контрольних групах виділили культуру заражаючого штаму *B. ovis* в першому досліді у 3-х з 4-х баранів з індексом інфікованості 31,2% та у 2-х з 4-х в другому досліді з 1 1 – 23,1%.

Результати імуногенних властивостей інактивованої емульсин – вакцини у двох дослідках на баранах подані в таблиці.

Встановлено також, що щеплення інактивованою емульсин – вакциною проти ІЕ баранів не викликає бруцельозної серопозитивності з S-антигеном в РБП, РА та РТЗК, що забезпечує можливість серологічне контролювати на бруцельоз щеплених тварин.

Таблиця

Результати визначення імуногенності інактивованої емульсин-вакцини в дослідках на баранах

Група	Кількість тварин	Заразилось			Індекс інфікованості %
		Всього	В тому числі		
			Виділено культуру	Серопозитивність	
Дослід 1					
Щеплені	5	—	—	—	—
Контроль	4	4	3	4	31,2%
Дослід 2					
Щеплені	5	—	—	—	—
Контроль	4	4	2	4	23,1%