



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60867 (13) A
(51) 7 A61K39/102, C12N1/20МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ШТАМ PASTEURELLA MULTOCIDA СЕРОТИПУ А

1

2

(21) 2003032465

(22) 21 03 2003

(24) 15 10 2003

(46) 15 10 2003, Бюл. № 10, 2003 р.

(72) Мазур Тетяна Василівна, Волинець Леонід
Кузьмич(73) ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УК-
РАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК(57) Штам *Pasteurella multocida* №7 серотипу А, що
застосовується у ветеринарній біотехнології, заде-
понований в колекції мікроорганізмів Державного
науково-контрольного інституту біотехнології та
штамів під реєстраційним номером 270

Галузь техніки, до якої відноситься винахід
ветеринарна, мікробіологічна, біотехнологічна
промисловість

Винахід застосовується в технології виготов-
лення "Вакцини проти пастерельозу, сальмоне-
льозу та колибактеріозу свиней "Пасако" та "Набо-
ру типових сироваток для індикації та ідентифікації
штамів *Pasteurella multocida*"

Аналогом технічного рішення є штами роду
Pasteurella multocida, що входять до серологічного
типу "В". У свиней збудники цього типу викликають
септичну форму хвороби. На даний момент при
виготовленні протипастерельозних профілактич-
них препаратів застосовуються штами серологіч-
ного типу "В" [1,2]. За цих умов тяжко здійснювати
діагностику та профілактику хвороб, що виклика-
ються *Pasteurella multocida* серотипу "А" (інфекцій-
ні пастерельозні пневмонії, атрофічний риніт).
Адже антигенна спорідненість штамів серотипу
"В" та "А" *Pasteurella multocida* складає 30%.

Суть винаходу і його ознаки. В основу винахо-
ду покладена мета виділити штам *Pasteurella mul-
tocida* серотипу "А", антигенне відмінний від шта-
мів серотипу "В", має високу вірулентність та
імуногенність, який можна застосовувати в техно-
логії виготовлення діагностичних та профілактич-
них біопрепаратів. Для досягнення цієї мети до-
слідження властивості ряду штамів, типованих, як
Pasteurella multocida серотипу "А".

Технічний результат. Штам *Pasteurella multo-
cida* серотипу "А" №7 виділений з трупів свині в
свиногосподарстві Херсонської області в 1999 ро-
ці. Ретельно вивчені його біохімічні, морфологічні,
вірулентні, антигенні та імуногенні властивості.

Штам задепонований в колекції мікроорганізмів
Державного науково-контрольного інституту біо-
технології та штамів мікроорганізмів має реєст-
раційний номер 270.

Штам *Pasteurella multocida* серотипу "А" №7
досить стабільний, характеризується наступними
властивостями.

Морфологічні властивості. Штам має характе-
рні для мікроорганізмів даного виду короткі, овоїд-
ні грамнегативні нерухомі палички, спор не утво-
рює. Має ліпополісахаридну капсулу, біохімічний
склад якої притаманний мікроорганізмам серова-
ріанту "А" *Pasteurella multocida*.

Культуральні властивості. Штам добре росте
на звичайних поживних середовищах з рН=7,2-7,4.
На м'ясопептонному бульйоні утворює рівномірне
помутнення через 10-12 годин, на м'ясопептонному
агарі через 24 години культивування утворює ха-
рактерні середньовеликі круглі слизоподібні коло-
нії білувато-сірого кольору (М-форма).

Ферментативні властивості. Штам ферментує
до кислоти без утворення газу глюкозу, цукрозу,
галактозу, маніт, сорбіт, не ферментує лактозу,
дульцит, ксилітозу, рамнозу, арабінозу, мальтозу.
Редукує нітрати в нітри. Утворює індол. Не утво-
рює сірководню. Не гемолізує еритроцити.

Вірулентні властивості. Штам вірулентний для
білих мишей (LD_{50} - 10^3 - 10^4 мікробних тіл при під-
шкірному введенні), кролів, великої рогатої худоби,
свиней, дрібної рогатої худоби та птахів. У
свиней викликає пастерельозну пневмонію та ат-
рофічний риніт.

Диференціація виділеного штаму *Pasteurella
multocida* №7 здійснюється за морфологічними,
антигенними та імуногенними особливостями.

За морфологічними ознаками добова агарова
культура має вигляд слизоподібних середньове-
ликих матових колоній округлої форми (М-форми).

Для диференціації штаму за антигенними вла-
стивостями готують капсульний антиген.

Добову агарову культуру штаму змивають фі-
зіологічним розчином, доводять до концентрації

(19) UA (11) 60867 (13) A

20млрд мікр тіл/см³, поміщають в водяну баню на 45 хвилин при 56°C. Потім культуру центрифугують при 4,5-5,0 тис об/хв, протягом 30 хвилин. Надосадову рідину збирають окремо, що являє собою капсульну субстанцію.

Типування штаму за капсульним антигеном здійснюють в реакції дифузійної преципітації.

Для цього в плексиглазових чашках Петрі з 1%-м агаром Діфко проробляють спеціальним стандартним штампом лунки. В центральну лунку вносять капсульну речовину (антиген) *Pasteurella multocida* №7 серотипу "А", а в периферійні - окремо типоспецифічні сироватки, отримані на штам серотипу "А" та штам серотипу "В".

Чіткий результат реакції буде спостерігатись тільки у випадку взаємодії капсульного антигену штаму *Pasteurella multocida* №7 серотипу "А" з гомологічною сироваткою. Це свідчить про антигенну своєрідність пропорованого штаму.

Винахід ілюструється наступними прикладами.

Прикладі. Антигенну особливість штаму *Pasteurella multocida* №7 серотипу "А" чітко ілюструє дослід по зараженню ним та штамом гетерогенного серотипу "В" чутливих тварин(свиней). Результ-

тати випробувань демонструють розвиток за цих умов різних форм захворювання (табл 1).

Після внутрішньо-м'язового зараження тварин штамом №9 серотипу В протягом перших 2-х діб захворіли й загинули всі поросята з ознаками сепсису. При інтраназальному введенні цього ж штаму тваринам іншої групи захворіло 1 поросля з підвищенням температури тіла. При патологоанатомічному дослідженні цієї тварини змін, притаманних пастерельозній інфекції виявлено не було.

На відміну від другої групи в першій групі тварин на п'яту добу після інтраназального зараження спостерігалось погіршення клінічного стану з ознаками пневмонії. При внутрішньо-м'язовому зараженні тварини залишались клінічно здоровими. При патологоанатомічному дослідженні тварин, що хворіли, були виявлені типові ознаки катарально-геморагічної пневмонії. Крім того, у всіх хворих тварин помічені зміни носового кістково-хрящового комплексу. Контрольна група тварин змін не мала. Таким чином, штам серотипу "А" викликає відмінний від штаму серотипу "В" перебіг хвороби й має свій характерний шлях проникнення до організму.

Таблиця 1

Схема досліду та результати експериментального зараження поросят різними збудниками пастерельозу

	Тип збудника та шлях зараження	кількість дослідних тварин	кількість голів, що			
			Захворіли		Мали атологоанатомічні зміни	
			n	P	n	P
1	Група 1, Серовар А, <i>Pasteurella multocida</i> №7					
2	Інтраназально	4	4	0,001	4	0,001
3	Внутрішньо-м'язово	3	0	0,001	-	0,001
4	Група 2, Серовар В, <i>Pasteurella multocida</i> №9					
5	Інтраназально	5	1	0,01	-	0,5
6	Внутрішньо-м'язово	3	3	0,001	3	0,001
7	Група 3, Контроль без зараження	3	0	-	0	-

Приклад 2. Імуногенні особливості штаму *Pasteurella multocida* №7 визначали в досліді з перехресним зараженням білих мишей.

Для цього 12 груп білих мишей щепили моновакциною, виготовленою на основі антигенновідмінного штаму *Pasteurella multocida* №9 серовару

В, в різних імунізуючих дозах. Ще дві групи мишей залишались не щепленими - контроль. Через 2 тижні шість груп мишей, щеплених різними дозами моновакцини та одну контрольну групу заразили 5ЛД₅₀ штаму №7 *Pasteurella multocida* серовару А. Результати досліді подані в таблиці 2.

Таблиця 2

Імуногенність штамів пастерел різних серогруп

Доза щеплення моновакциною	Об'єм дози щеплення см ³	Заражаюча доза культур, ЛД ₅₀	<i>Pasteurella multocida</i>			
			Штам №7		Штам №9	
			а/в	КІЕ, %	а/в	КІЕ, %
Нативна	0,5	5	6/10	40	0/10	100
0,5	"	"	8/10	20	0/10	100
0,25	"	"	10/10	0	0/10	100
0,125	"	"	10/10	0	0/10	100
0,0625	"	"	10/10	0	0/10	100
0,03125	"	"	10/10	0	1/10	90
0,0156	"	"	10/10	0	3/10	70
Контроль	-	"	10/10	-	10/10	-

Примітка, а/в - відношення загинилих мишей до залучених в досліді

При повній загибелі обох контрольних груп мишей превентивна активність моновакцини зі штаму *Pasteurella multocida* №9 серовару В була 100%-ю в переважній кількості випадків. Порівняно з іншими групами білих мишей, які були заражені антигенне відмінним штамом серотипу А цей показник не перевищував 40%.

10 Таким чином, відмінність імуногенних властивостей штамів різних

серологічних типів №7 та №9 очевидна.

Задепонований в ДНКІБШМ штам *Pasteurella multocida* №7 серовару "А" морфологічно, антигенне й імуногенне особливий та стабільний по

відношенню до відомих виробничих штамів серологічного типу "В" *Pasteurella multocida*. Це дає підстави рекомендувати його для виготовлення протипастерельозних біопрепаратів профілактичного та діагностичного призначення.

Джерела інформації

1 Інструкція по виготовленню та контролю "Вакцина проти пастерельозу, паратифу та диплококової інфекції поросят" від 21.09.1995р.

2 Інструкція по виготовленню та контролю "Формолвакцини проти пастерельозу овець та свиней прециптованої" від 01.03.1995р.