



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 62746

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 39/295

A61K 39/215

A61K 39/155

C12N 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ЕМУЛЬСИНВАКЦИНА АСОЦІЙОВАНА ІНАКТИВОВАНА ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ ТА СИНДРОМУ ЗНИЖЕННЯ НЕСУЧОСТІ-76

1

2

(21) 2003054367

(22) 15.05.2003

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Безрукава Інна Юр'івна, Наливайко Людмила Іванівна, Неділько Тетяна Володимирівна, Шомін Олександр Анатолійович, Сахацький Іван Миколайович

(73) ІНСТИТУТ ПТАХІВНИЦТВА УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК

(56) SU A3 1809836, 15.04.1993

RU C1 2159129, 20.11.2000

UA A 61386, 15.11.2003

SU A1 826584, 07.11.1982

RU C1 2169581, 27.06.2001

RU C2 2192278, 10.11.2002

(57) Емульсинвакцина асоційована інактивована проти ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК) та синдрому зниження несучості-76 (СЗН-76), що містить віруси, інактивовані зі штамів ХН, ІБК та СЗН-76, яка відрізняється тим, що використовують інактивований вірус ньюкаслської хвороби (штам "Ла-Сота"), інактивований вірус інфекційного бронхіту курей (штам "Н-52"), інактивований вірус синдрому зниження несучості-76 (штам "L- 497") у суміші з ад'ювантом монтанід ІСА-70

Запропонований винахід відноситься до ветеринарної вірусології та біотехнології і може бути застосований проти інфекційних хвороб птиці: інфекційного бронхіту курей (ІБК), хвороби Ньюкасла (ХН), синдрому зниження несучості (СЗН-76) курей.

Вірусні хвороби птиці негативно впливають на продуктивність несучок.

Метою винаходу є досягнення високої імуногенності та нешкідливості вакцини при її застосуванні.

Емульсинвакцина асоційована інактивована проти ХН, ІБК та СЗН-76 розроблялась на підставі вивчення ефективності застосування моновакцин.

Існують інактивовані вакцини "Вировак ІБК" (ВНИВИП, Россия ООО "ВНИВИП-препараты", 2002г., г.Санкт-Петербург) проти ІБК, вакцина проти хвороби Ньюкасла (патент России №2159129, кл. А61К39/00 от 20.11.2000), інактивована вакцина проти СЗН-76 курей (SU патент №1809836, С12N7/00, 16.08.89). Ці вакцини є моновакцинами. Комплексні інактивовані вакцини виявляють більш високу імуногенність у порівнянні з моновакцинами.

Існує вакцина інактивована BINEWVAXIDROP (каталог RHONE MERIEUX, июнь 1990, Франция, препараты Рон-Мерье, гамма препаратов для птиц) проти ХН, ІБК, СЗН-76. Вакцина містить:

- вірус інфекційного бронхіту, штам Mass 41, інактивований, з мінімальним титром перед інактивацією $10^{6.7}$ EID₅₀,

- вірус ХН, Техасьський штам, інактивований, з мінімальним титром перед інактивацією 10^8 EID₅₀,

- вірус СЗН-76, 127 штам, інактивований, з мінімальним титром перед інактивацією 10^6 CCID₅₀ та масляний ад'ювант qs 0,3мл. - ця вакцина може бути прототипом.

Недоліком вакцини є те, що вона імпортна та містить штами не вітчизняні.

В основу винаходу поставлено задачу: розробити емульсин-вакцину асоційовану інактивовану проти ХН, ІБК та СЗН-76, що містить віруси інактивовані зі штамів ХН, ІБК та СЗН-76 шляхом використання інактивованого вірусу Ньюкаслської хвороби (штам "Ла-Сота", одержаний із Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, м.Київ), інфекційного бронхіту курей (штам "Н-52", одержаний із Всеросійсь-

(13) C2

(11) 62746

(19) UA

кого науково-дослідного інституту контролю, стандартизації і сертифікації ветеринарних препаратів (м.Москва). Вірус синдрому зниження несучості - 76 (штам "L-497") ізольований від клінічно хворих курей на СЗН-76 в одному з птахо-господарств України. У суміші з ад'ювантом вони забезпечують розробку емульсинвакцини асоційованої інактивованої проти Ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості - 76.

Аналіз рівня техніки щодо патентних та науково-технічних джерел інформації дозволив зробити висновок, що рішення, яке заявляється, відповідає критеріям "новизна" та "винахідницький рівень".

Вакцина виготовляється з екстраембріональної рідини інфікованих ембріонів курей і качок у стадії їх розвитку і містить інактивовані віруси ХН (штам "Ла-Сота"), інфекційного бронхіту курей (штам "Н-52"), синдрому зниження несучості - 76 (штам "L-497" - заявка №2003010511, від 26 березня 2003 року. Інститут птахівництва УААН) у суміші з ад'ювантом "Монтанід ISA-70"

Приклад 1.

Контроль повноти інактивації вірусів НХ та ІБК проводили на 9-10-денних СПФ-ембріонах курей або ембріонах з низькими титрами антитіл до вірусів НХ та ІБК, одержаних від курей благополучного щодо гострих інфекційних захворювань птахо-господарства. Вміст 3-х флаконів вакцини змішували і готували загальний пул з якого відбирали 1см³ вакцини. Ступінь інактивації вірусів визначали шляхом трьох послідовних "сліпих" пасажів, тобто введення біопрепарату у алантоїсну порожнину ембріонів курей по 0,2см³. Ембріони інкубували в інкубаторі або термостаті протягом 120 годин при температурі 37,5°С. Ембріони, які загинули за період інкубації, бракували і визначали причину їх загибелі. Від тих ембріонів, що залишились живими, відбирали екстраембріональну рідину і проводили другий "сліпий" пасаж шляхом введення її 9-10- добовим ембріонам курей, які інкубували у вказаному вище режимі. Після цього так само проводили третій "сліпий" пасаж. Екстраембріональну рідину кожного ембріона третього пасажу перевіряли на гемаглютинаційну активність вірусу ХН у реакції гемаглютинації (РГА) на склі з 1%-ми еритроцитами півня. Одночасно ставили усі необхідні контролю. Ембріони третього пасажу перевіряли на наявність патологоанатомічних змін, характерних для ІБК (затримка розвитку, муміфікація ембріона, характерна поза з закинутими на голову лапками, можливе відкладання сечокислих солей у нирках сечоводів).

Приклад 2.

Контроль повноти інактивації вірусу СЗН-76 проводили на 11-добових ембріонах качок методом трьох послідовних "сліпих" пасажів за схемою наведеною у прикладі 1. Екстраембріональну рідину кожного ембріона третього пасажу перевіряли на гемаглютинаційну активність вірусу СЗН-76 у реакції гемаглютинації (РГА) на склі з 1%-ми еритроцитами півня.

Приклад 3.

Для приготування 1%-ної суспензії еритроцитів півня відбирали кров у півнів віком 6 місяців і ста-

рше із підкрильцевої вени у стерильну колбу з 5% розчином лимоннокислого натрію у співвідношенні 1:1. Одержану кров відмивали фізіологічним розчином, осаджуючи центрифугуванням. Відмивання повторювали тричі до одержання прозорої рідини над осадом еритроцитів. Із осаду відмитих еритроцитів готували 1%-у суспензію на фізіологічному розчині, яку зберігали при температурі від 4° до 8°С не більше двох діб.

Приклад 4.

На предметне скло наносили одну краплю екстраембріональної рідини ембріонів курей або качок і змішували її з краплею 1%-ї суспензії еритроцитів. Одержану суміш залишали при кімнатній температурі.

Вакцину вважали інактивованою, якщо в екстраембріональній рідині ембріонів курей і качок після третього пасажу не було гемаглютинації еритроцитів при добре вираженій реакції у контролях, а також не було виявлено патологоанатомічних змін у ембріонах, що характерні для ІБК.

Приклад 5.

Контроль вакцини на нешкідливість здійснювали на 10-ти курчатах 90-120-добового віку, одержаних з птахогосподарств, благополучних щодо гострих інфекційних захворювань птиці. Для випробувань використовували 3 флакони вакцини. З кожного флакону стерильним шприцом відбирали у стерильну пробірку по 10см³ вакцини та одержану пробу ретельно змішували. Вакцину вводили 10-ти курчатам внутрішньом'язово в ділянку стегна або у грудний м'яз в об'ємі трьох імунізуючих доз. Після щеплення за клінічним станом птиці спостерігали 30 днів, після чого проводили забій курей з метою візуальної оцінки стану тканини на розрізі в місці ін'єкції вакцини.

Вакцина вважається нешкідливою, якщо при введенні 90-120-денним курчатам в об'ємі трьох імунізуючих доз під час спостереження (30 днів) не було зареєстровано випадків захворювання або загибелі птиці, а на розрізі в місці ін'єкції відсутні запальні процеси та залишкові кількості біопрепарату.

Приклад 6.

Контроль антигенної активності вакцини проводили на 20-ти головах ремонтного молодняка курей 90-120-денного віку, одержаних з птахогосподарств, благополучних щодо гострих інфекційних захворювань. Для випробування брали 3 флакони вакцини, і з кожного відбирали по 50см³ біопрепарату, які об'єднували у загальну пробу. Вакцину вводили птиці внутрішньом'язово одноразово в об'ємі 0,5см³. До вакцинації і через 30 днів після щеплення у сироватці крові курей визначали титри антитіл до вірусів НХ, ІБК та СЗН-76 методом імуноферментного аналізу (ІФА) із застосуванням відповідних діагностичних наборів.

Приклад 7.

Контроль якості вакцини проводили шляхом перевірки органолептичних, фізико-хімічних і біологічних показників. З цією метою проводили вибірку з різних місць серії вакцини у кількості, яка визначалась по формулі:

$$n=0,4N, \text{ де}$$

n - необхідна для контролю кількість упаковок (об'єм вибірки)

N - кількість флаконів у серії

Із вибірки відбирали 10 флаконів вакцини методом випадкового відбору. З них 5 флаконів використовували для проведення випробувань, а 5 -

направляли у архів контролера для зберігання протягом 18 місяців.

Вакцина, що запропонована проти Ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей та синдрому зниження несучості - 76 є високоімуногенною та нешкідлива при її застосуванні.