



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42681 (13) C2

(51) 7 A61K39/00

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

(54) ВАКЦИНА ПРОТИ ТРИХОФІТІЇ ТВАРИН

(21) 94005202

(22) 28.04.1994

(24) 15.11.2001

(46) 15.11.2001, Бюл. № 10, 2001 р.

(72) Яблочнік Любов Марковна, RU, Саркісов Карен Артьомовіч, RU, Лєтягін Константін Павлович, RU, Панін Александр Ніколаєвіч, RU

(73) ВСЕРОСІЙСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ КОНТРОЛЮ, СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТА СЕРТИФІКАЦІЇ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ (ВДНКИ), RU

(56) 1. GB, 1330240, 1973/

2. А.с. СССР № 955571, А61К 39/00, 1980

(57) Вакцина против трихофитии животных, содержащая антиген из штамма *Trichophyton verrucosum* 130 Л, сахарозу, желатин и воду, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит антиген из штамма *Trichophyton mentagrophytes* ВГНКИ № 27-ДЕП при следующем соотношении компонентов, мас. %:

| | |
|----------|------------|
| Сахароза | 10,0-20,0 |
| Желатин | 1,5-4,0 |
| Вода | остальное, |

а также антиген из штамма *Trichophyton verrucosum* 130 Л и антиген из штамма *Trichophyton mentagrophytes* ВГНКИ № 27-ДЕП, взятые в равных соотношениях, в количестве 300-600 млн микроконидий/см³ соответственно.

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к вакцинам против трихофитии животных.

Известна вакцина ЛТФ-130 и вакцина ТФ-130 (К) против трихофитии животных, преимущественно крупного рогатого скота, содержащая антиген из штамма *Trichophyton faviforme* № 130 (syn. *Tr. verrucosum*) или антиген из штамма *Tr. faviforme* 130 Л и желатин-сахарозный стабилизатор [1], [2].

Недостатком известных вакцин является то, что они профилактируют заболевание только у одного вида животных - крупного рогатого скота и только к одному виду возбудителя *Tr. faviforme*.

Целью изобретения является разработка высокоиммуногенной вакцины против трихофитии животных вызываемой *Tr. verrucosum*, *Tr. verrucosum* var. *autotrophicum*, *Tr. mentagrophytes*, *Tr. equinum*, *Tr. sarkisovii*.

Это достигается тем, что вакцина дополнительно содержит антиген из штамма *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 при следующем соотношении компонентов (мас./об. %):

| | |
|--|--|
| Антиген из штамма <i>Tr. verrucosum</i> 130 Л | 300-600 млн микроконидий/см ³ |
| Антиген из штамма <i>Tr. mentagrophytes</i> ВГНКИ № 27 | 300-600 млн микроконидий/см ³ |
| Сахароза | 10,0-20,0 |
| Желатин | 1,5-4,0 |
| Вода | Остальное |

Для изготовления вакцины используют штамм *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27.

Штамм *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 получен из эпизоотического, выделенного от белой мыши, методом направленного ступенчатого отбора по признаку спорообразования наиболее быстро растущих колоний с активным накоплением микроконидий.

Штамм *Tr. mentagrophytes* № 27 депонирован в коллекции микроорганизмов Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов и имеет регистрационный номер 27.

Штамм гриба *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 характеризуется следующими признаками и свойствами.

Морфологические признаки. Мицелий не окрашен, ровный, ветвистый, септированный, может распадаться на фрагменты, терминальные гифы не всегда образуют спирали (обычно 3-5 завитков), диаметр мицелия 2,0-3,0 мкм. Микроконидии многочисленные, круглые, грушевидные, удлинённые, близкие к палочковидной форме, располагающиеся на поверхности мицелия гроздьями, чаще отдельно, размер 1,5-5,2 мкм. Макроконидии единичные. Количество перегородок 1-5, чаще 1-2, размером 10-30 x 3-8 мкм. В культурах 20-30-дневного возраста могут наблюдаться хламидоспоры округлой формы с двуконтурной оболочкой, всегда единичные, 3,0-5,0 мкм в диаметре. Артроспоры возникают на отдельных участках мицелия, тонкостенные, по форме напоминают оваль-

ные или палочковидные микроконидии 3,0-9,0 мкм. Культуральные свойства. На сусло-агаре растет в виде плоской белой, бархатистой колонии с незначительным возвышением в центре, растущий край ровный, реверс красновато-коричневый, диаметр колонии 50-90 мм (15-20 дневная культура).

На агаре Сабуро растет в виде плоской, белой, бархатистой с кремовым оттенком колонии с небольшим возвышением в центре, растущий край ровный, реверс бледно-желтый, иногда более темный в центре, реверс бледно-желтый, диаметр колонии 50-90 мм (15-20-дневная культура).

На среде Геннеберга растет в виде белой, бархатистой, радиально-складчатой колонии, растущий край паутинистый, реверс красновато-фиолетовый, диаметр колонии 50-80 мм (15-20-дневная культура).

Спорообразование. Максимальный уровень спорообразования на сусло-агаре 198,4-259,2 млн/см³.

Вирулентные свойства. При внутримышечном введении культура штамма *Tr. mentagrophytes* № 27 у морских свинок, кроликов, овец, коз, телят спустя 2-3 недели на месте инъекции развивается специфический локализованный поверхностный очажок диаметром 2,0-2,5 см, который самопроизвольно излечивается в течение 15-20 дней. Микологически выделить возбудитель не удается. При нанесении культуры штамма неиммунизированным животным на скарифицированную кожу в дозе 0,25 млн/см³ микроконидий на месте аппликации развивается в течение 10-20 дней типичный трихофитный очаг. Выделенный из патологического материала штамм по своим свойствам соответствует исходному.

Антигенные свойства. На введение культуры штамма в организме телят, овец, кроликов образуются специфические агглютинины в титрах 1:40 - 1:1280.

Иммуногенные свойства. При двукратном внутримышечном введении телятам, кроликам вакцины, изготовленной из данного штамма, в дозе, содержащей 10-20 млн живых микроконидий, у животных формируется напряженный иммунитет к последующему заражению трихофитией продолжительностью не менее 5 лет (срок наблюдения).

Штамм *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 отличается от эпизоотических слабой вирулентностью, отсутствием заражения при контакте между животными, высокой активностью накопления микроконидий и иммуногенностью при внутримышечном введении животным.

Пример 1. Для получения вакцины 15-20-дневные культуры штаммов *Tr. verrucosum* 130 Л и *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 выращивают отдельно в матрасных колбах на сусло-агаре (рН 6,2-6,8) при температуре 26-28°C в течение 12-20 дней.

Выращенную грибницу каждой культуры в условиях асептики снимают с поверхности питательной среды специальными скребками и помещают в стерильные банки. Грибную массу каждого штамма гомогенизируют в миксерах или коллоидной мельнице, а затем с помощью стерильной воды полученный гомогенат *Tr. verrucosum* 130 Л ресуспензируют до концентрации микроконидий

300 млн/см³, а гомогенат *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 - 600 млн/см³. Ресуспензирование проводят в присутствии пенициллина или стрептомицина из расчета 100 ЕД на 1 см³ гомогената. Гомогенат штамма гриба *Tr. verrucosum* 130 Л объединяют в равном объеме с гомогенатом штамма гриба *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27. К полученной суспензии грибной массы добавляют равное количество стабилизатора (рН 6,2-6,8), содержащего в воде 10% сахарозы и 1,5% желатины. Все тщательно перемешивают, разливают в стерильные флаконы и лиофильно высушивают.

Пример 2. Вакцину получают аналогично, как описано в примере 1. Для ее приготовления используют гомогенат штаммов грибов *Tr. verrucosum* 130 Л и *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 с концентрацией микроконидий 450 млн/см³, а в качестве стабилизатора водный раствор, содержащий 15% сахарозы и 2,5% желатина.

Пример 3. Вакцину против трихофитии животных приготавливают аналогично, как описано в примере 1. Для ее получения используют гомогенат штамма гриба *Tr. verrucosum* 130 Л с концентрацией микроконидий 600 млн/см³ и гомогенат штамма *Tr. mentagrophytes* № 27 с концентрацией микроконидий 300 млн/см³. В качестве стабилизатора используют водный раствор, содержащий 20% сахарозы и 4% желатина.

Готовая вакцина представляет собой однородную пористую сухую массу в виде таблетки серого цвета. Вакцина сохраняет свои биологические свойства при условии хранения в закрытых сухих, темных помещениях при температуре 2-10°C. Срок годности 12 мес. К вакцине прилагаются флаконы со стерильным разбавителем.

Пример 4. Приготовленные серии вакцины "Вермет" против трихофитии животных по примерам 1, 2, 3 перед применением растворяют в разбавителе из расчета 1 доза в 1 см³. Получают серии вакцины "Вермет", содержащие в прививочной дозе следующую концентрацию антигенов в млн/см³ (табл. 1).

Вакцину "Вермет" по примерам 1-3 используют для иммунизации телят, вводя внутримышечно двукратно с интервалом 10-14 дней в дозе 1 см³.

В качестве контроля испытывают аналогично приготовленные вакцины из штамма *Tr. verrucosum* 130 Л и *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ № 27 с концентрацией микроконидий антигена в прививочной дозе 7,5 млн/см³. Через 35 дней после второй иммунизации телят заражают вирулентными культурами штаммов *Tr. verrucosum* № 153 (TB-153), *Tr. mentagrophytes* № 251 (TM-251), *Tr. sarkisovii* № 724 (TC-724), *Tr. verrucosum* var. *autotrophicum* 118 (TBA-188). Одновременно заражают этими же культурами шесть контрольных (неиммунизированных) телят.

Результаты экспериментального заражения телят представлены в табл. 2.

Из таблицы следует, что 1-3 серии вакцины "Вермет" у иммунизированных телят вырабатывают напряженный (100%) иммунитет против трихофитии при экспериментальном заражении. Иммунизация телят моновакцинами не вызывает достаточно стойкого иммунитета при последующем заражении гетерологичными культурами возбудителей трихофитии. Телята, ранее не иммунизированные

ванные и не болевшие трихофитией, восприимчивы к экспериментальному заражению вирулентными культурами возбудителей трихофитии.

Пример 5. Тремя опытными сериями вакцины "Вермет" аналогично примеру 4 иммунизируют 14 коз с последующим их заражением вирулентными культурами штаммов *Tr. verrucosum* № 153 и *Tr. mentagrophytes* № 251. Контрольных животных (2 головы) не вакцинируют.

Все вакцинированные животные не заболели трихофитией, у контрольных были отмечены все признаки заболевания с выделением из пораженных очагов указанных штаммов вирулентных культур.

Пример 6. Для иммунизации 10 кроликов породы шиншилла живой массой 2,5-3,0 кг используют вакцину "Вермет" по примеру 2. Вакцину перед применением растворяют в разбавителе из расчета 1 доза в 1 см³. Получают следующую концентрацию антигенов в 1 прививочной дозе:

Tr. verrucosum 130 Л 7,5 млн микроконидий;

Tr. mentagrophytes ВГНКИ № 27 7,5 млн микроконидий.

Вакцину вводят кроликам внутримышечно двукратно в дозе 0,5 см³. В качестве контроля для вакцинации 10 кроликов используют вакцину из штамма *Tr. mentagrophytes* № 135, содержащую в 1 прививочной дозе 20 млн микроконидий в 1 см³, которую применяют внутримышечно в область ягодичных мышц. Через 30 дней кроликов заражают накожно вирулентными культурами штаммов *Tr. mentagrophytes* № 251 и *Tr. mentagrophytes* № 18. В течение 25 дней учитывают результаты заражений. Установлено, что использование вак-

цины "Вермет" способствует образованию надежного иммунитета у всех иммунизированных кроликов, в то время как использование известной вакцины "Ментавак" не дает надежного эффекта – 2 кролика из 10 заболели трихофитией, а из очагов поражения выделены культуры вирулентных штаммов.

Пример 7. 20 телят иммунизируют вариантами вакцины "Вермет" по примеру 1 и 3 с концентрацией антигенов в прививочной дозе по примеру 4. Каждой группе телят (10 голов) вакцину применяют внутримышечно двукратно в объеме 1 см³ с интервалом 10-14 дней. Через 4 и 9 месяцев после второй иммунизации обе группы телят заражают вирулентными культурами штаммов *Tr. verrucosum* № 153 и *Tr. mentagrophytes* № 251. В результате ни один теленок не заболел. Таким образом вакцина "Вермет" сохраняет стойкий иммунитет через 4 и 9 месяцев после заражения.

Вакцина "Вермет" высокоэффективна против трихофитии животных. Вакцину "Вермет" с профилактической целью применяют двукратно с интервалом 10-14 дней в следующих дозах: телятам от 14 дней до 4 месяцев 1 см³, старше 5 месяцев – 2 см³, и мелкому рогатому скоту (овцы, козы) от 3 до 6 месяцев – 0,5 см³, старше 6 месяцев – 1 см³. Кроликам массой 2,5-3,0 кг вводят 0,3-0,5 см³ с профилактической целью. С лечебной целью вакцину вводят больным животным двукратно с интервалом 10-14 дней в удвоенной дозировке.

Использование вакцины "Вермет" в ветеринарной практике позволит повысить эффективность мероприятий по борьбе с трихофитией животных.

Таблица 1

| Антиген | Вакцина | | |
|-------------------------------------|---------|-----|----|
| | 1 | 2 | 3 |
| <i>Tr. verrucosum</i> 130 Л | 5 | 7,5 | 10 |
| <i>Tr. mentagrophytes</i> №27 ВГНКИ | 10 | 7,5 | 5 |

Таблица 2

| Серия | Количество животных в группе | Биопрепарат, используемый для иммунизации телят | Иммунизиров. телят, голов | Количество заболевших животных при экспериментальном заражении | | | | |
|-------|------------------------------|---|---------------------------|--|--------|--------|---------|-------|
| | | | | ТВ-153 | ТМ-251 | ТС-724 | ТВА-118 | ТЭ-20 |
| 1 | 9 | Вакцина "Вермет" по примеру 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 10 | Вакцина "Вермет" по примеру 2 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 7 | Вакцина "Вермет" по примеру 3 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 10 | Вакцина из шт. <i>Tr. verrucosum</i> 130 Л | 10 | 0 | 4 | 2 | 0 | 1 |
| 5 | 9 | Вакцина из шт. <i>Tr. mentagrophytes</i> ВГНКИ № 27 | 9 | 5 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 6 | 6 | Контроль (неиммунизированные) | - | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
