



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **76995** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61K 39/00**  
**C12N 1/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: <b>u 2012 08042</b>	(72) Винахідник(и): <b>Обуховська Ольга Валеріївна (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA), Богач Микола Володимирович (UA), Глебова Катерина Валеріївна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>02.07.2012</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.01.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.01.2013, Бюл.№ 2</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)</b>

**(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОЇ АГАЛАКТІЇ ОВЕЦЬ ТА КІЗ**

**(57) Реферат:**

Спосіб виготовлення вакцини протиінфекційної агалактії овець та кіз включає накопичення бактерійної маси мікоплазм у "Середовищі рідкому поживному для ізоляції та культивування мікоплазм від тварин та птиці" і інактивацію формаліном, стандартизацію, додавання ад'юванту. Як виробничий штам використовують *Mycoplasma agalactiae* БК.

**UA 76995 U**



Корисна модель належить до ветеринарної імунології та мікробіології, зокрема до способу виготовлення інактивованої вакцини проти інфекційної агалакції овець та кіз.

Існує спосіб виготовлення живої вакцини з аттенуйованого штаму *Mycoplasma agalactiae* (Turkaslan, J. Control of important mycoplasma diseases in Turkey with special emphasis on CCPP and contagious agalactia [text]/ J. Turkaslan// IOM Lett.-1990. - Vol. 1. - P. 184-185). Спосіб включає накопичення бакмаси мікоплазм, стандартизацію та контроль препарату. Недоліком цього способу є застосування живого штаму мікоплазм в складі вакцини. В цьому випадку існує можливість реверсії вірулентних властивостей штаму в польових умовах, що може призвести до спалаху захворювання та погіршення епізоотичної ситуації в групі вакцинованої птиці.

Також існують способи виготовлення інактивованої вакцини (Experimental vaccination of against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccine, [text]/ S. Tola [et al]// Vaccine.-1999. - Vol. 17. - P. 2764-2768). Спосіб включає накопичення бакмаси виробничого штаму *Mycoplasma agalactiae*, інактивацію її шляхом прогрівання або додавання гіпохлориду натрію, стандартизацію та додавання ад'юванту. Недоліком цих способів є отримання препаратів із низьким рівнем імуногенності.

Існує також спосіб виготовлення аутогенної вакцини (Epidemic of transmissible spongiform encephalopathy in sheep and goats in Italy [text]/ U. Agrimi [et al]// Lancet-1999.-353. - P. 560-561). Спосіб включає відбір від хворих та примусово забитих тварин проб молока, мозку або вимені, гомогенізацію проб біологічного матеріалу, інактивацію шляхом прогрівання та стандартизацію препарату. Недоліком цього методу є велика кількість клітинного детриту в складі препарату, що може спричинити алергічні реакції, невисока імуногенність вакцини та існуючу небезпеку контамінації матеріалу збудником скрепі, що призвело до спалаху цієї хвороби в Італії.

Найбільш близьким аналогом до способу, що заявляється, є спосіб виготовлення вакцини Агавак (Волошин О.В. Ефективність імунізації овець та кіз проти інфекційної агалакції вакциною Агавак). Вакцину готують з бакмаси виробничого штаму *Mycoplasma agalactiae*, інактивують шляхом прогрівання, стандартизують та додають гідроокис алюмінію.

Недоліками аналога є те, що штам, з якого виготовляється вакцина - це "азіатський" тип, який не циркулює в Україні.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб виготовлення вакцини протиінфекційної агалакції овець та кіз.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб виготовлення вакцини протиінфекційної агалакції овець та кіз включає накопичення бактерійної маси мікоплазм у рідкому поживному середовищі, інактивацію, стандартизацію, додавання ад'юванту шляхом застосування для накопичення бакмаси "Середовища рідкого поживного для ізоляції та культивування мікоплазм від тварин та птиці", використання як виробничого штаму *Mycoplasma agalactiae* БК, а як інактиватор – формалін для забезпечення ефективності способу.

Ефективність запропонованого способу полягає в застосуванні високоімуногенного штаму *Mycoplasma agalactiae* БК, використанні для накопичення мікоплазм "Середовища рідкого поживного для ізоляції та культивування мікоплазм від тварин та птиці", що забезпечує високий вихід бактеріальної маси. Обробка мікоплазм формаліном дозволяє досягти повної інактивації збудника, що відповідає критерію "новизна".

Спосіб виконують таким чином.

Спосіб виготовлення інактивованої вакцини протиінфекційної агалакції овець та кіз включає накопичення бактерійної маси виробничого штаму *Mycoplasma agalactiae* БК на "Середовищі рідкого поживного для ізоляції та культивування мікоплазм від тварин та птиці" ТУ У 24.4-00497087-091:2009 (режим інкубації - 5 діб за температури 37,5 °С). Отримана бакмаса піддається інактивації шляхом додавання 1 % формаліну (режим інактивації - 2 доби за температури 37,5 °С). Інактивована бактерійна маса триразово відмивається стерильним фосфатно-буферним фізіологічним розчином шляхом центрифугування за режимом 5 тис. об/хв. протягом 20 хвилин. Клітинна маса мікоплазм стандартизується стерильним ФБФР до концентрації  $1 \times 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>. До бакмаси додають гідроокис алюмінію. Співвідношення компонентів наступне, до складу вакцини входить 60 % суспензії інактивованих клітин виробничого штаму *Mycoplasma agalactiae* БК ( $6 \times 10^7$  КУО в одній дозі) на стерильному фосфатно-буферному фізрозчині та 40 % гідроокису алюмінію. Доза вакцини становить 1,0 см<sup>3</sup>.

Приклад 1

Для вивчення імуногенних та протективних властивостей інактивованої вакцини протиінфекційної агалакції овець та кіз було проведено дослід на вівцях. Було сформовано 2 групи (по 10 гол.) овець віком 1 рік за принципом аналогів.

1 група (дослідна) була імунізована вакциною дворазово з інтервалом 30 діб (підшкірно на ліктьовому згині, об'єм вакцини 1,0 см).

2 група (контрольна) залишалась інтактною.

Протективні властивості вакцини були вивчені в досліді з прямого зараження овець. Через 30 діб після останнього введення вакцини вівці обох груп були інфіковані інтраназально та інтракон'юнктивально 5-ти добовою культурою *Mycoplasma agalactiae* БК в кількості  $2 \cdot 10^9$  КУО.

5 За вівцями вели спостереження впродовж 20 діб, враховуючі наявність та інтенсивність прояву клінічних ознак.

На 14 добу після зараження вівці контрольної групи захворіли із клінічними ознаками ураження респіраторних органів та суглобів. У тварин дослідної групи ніяких клінічних ознак виявлено не було.

10 На 21 добу після зараження від тварин обох груп були відібрані проби біологічного матеріалу для проведення бактеріологічних досліджень. Зі слизової носових ходів та вушних отворів, а також з кон'юнктиви від усіх тварин контрольної групи було ізолювано культуру *Mycoplasma agalactiae* БК. Від двох особин з дослідної групи зі слизової носових ходів також була ізолювана культура *Mycoplasma agalactiae* БК, однак ніяких клінічних ознак не виявляли.

15 Таким чином, запропонований нами спосіб дозволяє отримати вакцину, яка за умов дворазового підшкірного введення забезпечує захист 80 % імунізованих особин від зараження штамом-пробійником.

#### Приклад 2

20 Вивчення ефективності застосування вакцини було проведено у виробничих умовах. В приватному вівцегосподарстві було вакциновано молодняк овець (вік 60 діб) в кількості 42 голови з інтервалом 30 діб (підшкірно на ліктьовому згині, об'єм вакцини  $1,0 \text{ см}^3$ ). Спостереження за тваринами вели впродовж 6 місяців.

25 Після введення вакцини у овець не виявили погіршення загального фізіологічного стану. Жодних клінічних ознак, характерних для інфекційної агалакції не спостерігали. Також не було відмічено місцевої реакції на введення препарату. Через 30 та 60 діб після останнього введення вакцини від тварин відбирали проби біологічного матеріалу для проведення бактеріологічних досліджень. Зі слизової носових ходів та вушних отворів, а також з кон'юнктиви від 8 тварин було ізолювано культуру мікоплазм. Від решти тварин мікоплазми не були виділені.

30 Таким чином, запропонований нами спосіб дозволяє отримати вакцину, яка за умов дворазового підшкірного введення забезпечує захист 80 % імунізованих особин від персистенції *Mycoplasma agalactiae* та 100 % вакцинованих тварин від клінічного прояву захворювання.

Даний спосіб може бути використаний при серійному біофабричному виготовленні вакцини проти інфекційної агалакції овець та кіз або при виготовленні експериментальних серій вакцини з науковою метою.

35

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

40 Спосіб виготовлення вакцини протиінфекційної агалакції овець та кіз, що включає накопичення бактерійної маси мікоплазм у рідкому поживному середовищі, інактивацію, стандартизацію, додавання ад'юванту, який **відрізняється** тим, що для накопичення бактеріальної маси застосовують "Середовище рідке поживне для ізоляції та культивування мікоплазм від тварин та птиці", як виробничий штам використовують - *Mycoplasma agalactiae* БК, а як інактиватор - формалін.