



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **99019**

(13) **U**

(51) МПК

A61K 39/09 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 13768**

(22) Дата подання заявки: **22.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.05.2015**

(46) Публікація відомостей **12.05.2015, Бюл.№ 9**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Сторчак Юлія Георгіївна (UA),
Кісера Ярослав Васильович (UA)**

(73) Власник(и):

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМ. С.З.
ГЖИЦЬКОГО,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 (UA)**

(54) ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ЗАСІБ ДЛЯ БОРОТЬБИ ІЗ ПНЕВМОКОКОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ ТЕЛЯТ

(57) Реферат:

Профілактичний засіб для боротьби із пневмококовою інфекцією телят містить інактивований місцевий штам *Streptococcus pneumoniae* та ад'ювант. Як ад'ювант застосовується біологічно активна речовина - 4 % спиртово-водна емульсія прополісу.

UA 99019 U

Заявлена корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема епізоотології, мікробіології, імунології та біотехнології, а саме до засобів специфічної профілактики стрептококової респіраторної інфекції телят, і може бути використана спеціалістами ветеринарної медицини у тваринницьких господарствах з різними формами власності, скерованих на вирощування молодняка, для ефективної боротьби із бронхопневмоніями пневмококової етіології у телят.

Проблема респіраторних захворювань телят із біологічних, ветеринарно-епідеміологічних і економічних позицій в сучасному скотарстві висувається на перший план, оскільки має вплив на здоров'я та подальший приріст народжених телят, охорони навколишнього середовища.

Відомо, що у виникненні респіраторних захворювань пневмококової етіології у телят діє комплекс чинників екзогенного та ендогенного походження, та ступінь вірулентності мікроорганізмів, а сприяючі фактори створюють фон, на якому розвивається патологічний процес. Тому розробка препаратів для профілактики пневмококової інфекції у телят не втрачає своєї актуальності.

Для профілактики інфекційних респіраторних захворювань телят використовують відомі засоби - асоційовану інактивовану концентровану вакцину "Пневмосан" (Патент України на корисну модель № 18331) та інактивовану концентровану вакцину "Пневмомастисан" проти пневмоентеритів, ендометритів і маститів тварин (Патент України на корисну модель № 12950).

До недоліків відомих вакцин відносять високу реактогенність через те, що вони містять велику кількість антигенів і можуть викликати алергічні реакції, а також низьку імуногенність, оскільки як ад'ювант використовується гідроокис алюмінію.

Найбільш близьким по суті до препарату, що заявляється, є вакцина проти стрептококових та стафілококових інфекцій тварин (Патент України на винахід № 41546). Це асоційована вакцина проти стрептококових і стафілококових інфекцій тварин. До складу вакцини входять екзотоксини виробничих штамів збудників стафілококової та стрептококової інфекції, у тому числі, *Streptococcus pneumoniae*, як ад'ювант гідроксид алюмінію та інактивуюча речовина - формальдегід.

Прототип і заявлене рішення мають спільні суттєві ознаки: вакцина містить інактивований штам збудника пневмококової інфекції *Streptococcus pneumoniae* та ад'ювант.

Недоліками прототипу є недоступність на вітчизняному ринку даного ветеринарного препарату, технологічна складність виготовлення і використання ад'юванта гідроокису алюмінію.

Заявлений нами профілактичний засіб, який включає застосування як ад'юванта біологічно активної речовини, усуває недоліки прототипу і забезпечує високий терапевтичний ефект при профілактиці пневмококової інфекції телят, не викликає алергічних реакцій та одночасно підсилює захисні сили організму, корегуючи імунний статус тварин.

В основу корисної моделі поставлена задача створити ефективний, економічно вигідний, доступний та зручний у застосуванні імуностимулюючий засіб для специфічної профілактики пневмококової інфекції у телят.

Поставлена задача вирішується тим, що як ад'ювант застосовується біологічно активна речовина - 4 % спиртово-водна емульсія прополісу, при такому співвідношенні компонентів, %:

| | |
|--------------------------|--------|
| streptococcus pneumoniae | 65-75 |
| 4 % спиртово - водна | 25-35. |
| емульсія прополісу | |

Технічний результат обумовлений тим, що використання спиртово-водної емульсії прополісу як ад'юванта усуває можливість виникнення антибіотикорезистентної мікрофлори, забезпечує протимікробний терапевтичний ефект та активацію специфічних і неспецифічних факторів імунітету.

Біологічні властивості прополісу пояснюються наявністю фенольних сполук (флавоноїди і фенолокислот). У складі прополісу знаходяться флавоноли (хризин, тектохризин, лютеолін, апігенін та ін.), флавоноли (кверцетин, кемпферол, галангін, ізіальпінін, рамоцитрин), флавонони (піноцембирин, піностробін та ін.), фенолокислоти (транс-кофейна, транс-кумарова, транс-ферулова, корична, ванілінова та ін.). Встановлено також наявність терпеноїдів, ацетоксибетуленолу, бісабололу і ароматичного альдегіду ізованіліну (4-окси-3-метоксибензальдегід). Міститься в ньому і бензойна кислота, яка затримує ріст і розвиток мікроорганізмів.

Такі кислоти, як ферулова, кофейна, бензойна та ін., відносяться до біологічно активних речовин. Вони проявляють виражену антибактеріальну дію. Ферулова кислота пригнічує ріст

грампозитивних та грамнегативних бактерій. Ці сполуки мають також жовчогінні, сечогінні, капіляророзміцнюючі і протизапальні властивості.

Екстракція 70° етиловим спиртом, зокрема, забезпечує інгібуючу дію на мікроорганізми. Спиртово-водна емульсія містить стероїди, пептиди, гормони і підвищує захисні сили організму проти інфекції.

Імунологічна дія складових компонентів аутовакцини на основі прополісу проявляється на організм тварин у:

стимуляції процесу фагоцитозу;

збільшенні кількості Т-лімфоцитів;

активації гуморальних ланок імунітету.

Отже, застосування профілактичного засобу для боротьби із пневмококовою інфекцією телят, який містить інактивованій штам *Streptococcus pneumoniae* та 4 % спиртово-водну емульсію прополісу як ад'ювант, викликає стимуляцію специфічних і неспецифічних факторів резистентності та забезпечує стійкий імунітет до захворювання.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку авторами і заявником знайдено технічне рішення (Патент України на винахід № 41546), що містить найбільшу кількість суттєвих ознак, спільних із заявленим: вакцина містить інактивованій штам збудника пневмококової інфекції *Streptococcus pneumoniae* та ад'ювант.

Однак, наявність зазначених, спільних з прототипом ознак недостатня для отримання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб. Технічних рішень, які за сукупністю ознак повністю співпадають із заявленим способом, заявником не виявлено.

Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого технічного рішення критерію винаходу (корисної моделі) - "новизна".

У патентній і науково-технічній інформації не знайдено технічних рішень, в яких були б описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату тим, що як ад'ювант застосовується біологічно активна речовина - 4 % спиртово-водна емульсія прополісу, при такому співвідношенні компонентів, %:

streptococcus pneumoniae 65-75

4 % спиртово - водна 25-35.

емульсія прополісу

Заявлена корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема епізоотології, мікробіології, імунології та біотехнології, а саме до засобів специфічної профілактики стрептококової респіраторної інфекції телят, і може бути використана спеціалістами ветеринарної медицини у тваринницьких господарствах з різними формами власності, скерованих на вирощування молодняка, для ефективної боротьби із бронхопневмоніями пневмококової етіології у телят, а тому відповідає критерію корисної моделі - "промислова придатність".

Заявлений засіб одержують наступним чином:

До 25 г подрібненого прополісу додають 75 мл 70 % спирту. Отриману суміш настоюють 5-7 днів у закритому посуді, періодично струшують, а потім фільтрують через фільтрувальний папір.

Спиртовий екстракт розводять у підігрітій дистильованій воді у співвідношенні 1:6, ретельно змішуючи.

Виділяють збудника пневмококової інфекції із стерильних рідин організму телят, які хворі чи загинули від даного інфекційного захворювання (спинномозкова рідина, кров), а також інших середовищ (мокротиння, рідина з порожнини середнього вуха, задня стінка носоглотки та ін.).

Епізоотичний штам *Streptococcus pneumoniae* висівають у пробірки з бульйоном Хотінгера та культивують при температурі 37 °С упродовж 72 годин. Визначення концентрації отриманого інокуляту проводять за допомогою денситометра DEN-1. Концентрація бактеріальної суспензії у 4*10⁹ м.к./мл відповідає оптичній щільності у 3,33 нм.

Інактивацію проводять фізичним методом на водяній бані при температурі у 65-70 °С упродовж 55-60 хв.

Змішують отримані компоненти у такому співвідношенні, %:

streptococcus pneumoniae 65-75

4 %-вий спиртово-водний 25-35.

екстракт прополісу

Зразки вакцини досліджують на предмет відсутності контамінації бактеріальною і грибовою мікрофлорою, згідно з ДСТУ 4483, та мікоплазмами, згідно з ДСТУ 4613. Культуральними та біологічними методами визначають повноту інактивації вакцинного препарату. У випадку відсутності росту мікроорганізмів на поживних середовищах та ознак захворювання і загибелі імунізованих мишей, дана вакцина вважається повністю інактивованою.

Отриману аутовакцину вводять внутрішньом'язово в ділянку шиї або стегна у дозі 3 мл при першому введенні та 5 мл при другому з інтервалом 14 діб.

Ефективність заявленого засобу і його перевага над прототипом підтверджена прикладом конкретного виконання.

Приклад конкретного використання способу

Апробацію виготовленої дослідної серії інактивованої аутовакцини з місцевого штаму збудника *Streptococcus pneumoniae* проводили у приватній агрофірмі "Білий Стік" Сокальського району Львівської області. Для дослідів за принципом аналогів було підібрано 12 телят двомісячного віку української чорно-рябої породи, з яких було сформовано 3 групи (1 контрольна і 2 дослідні). Тваринам першої дослідної групи вводили інактивовану вакцину проти стрептококових та стафілококових інфекцій виробництва ТОВ "НДП "Ветеринарна медицина" м. Харків. Тваринам другої дослідної групи вводили аутовакцину, виготовлену з місцевого штаму збудника *Streptococcus pneumoniae* із прополісом як ад'ювантом. Вакцини вводили внутрішньом'язово двічі з інтервалом у 14 днів у дозі 3 мл при першому та 5 мл при другому введенні.

Результати визначення імунореактивності клітинного імунітету при введенні заявленого засобу в порівнянні з відомими наведені в таблиці 1 та 2.

Таблиця 1

Показники клітинного імунітету при застосуванні інактивованої вакцини проти стрептококових та стафілококових інфекцій (прототипу), ($M \pm m$; $n=4$)

| Показники | Одиниці виміру | Контрольна група | 1 дослідна група | | | | |
|-------------------------|----------------|------------------|------------------|--------------|---------------|------------------|------------------|
| | | | Після вакцинації | | | | |
| | | | на 7-й день | на 14й день | на 21-й день | на 45й день | на 60й день |
| Лейкоцити | Г/л | 7,28±0,13 | ** 8,58±0,289 | * 8,65±0,45 | * 12,10±1,85 | ** 9,53±0,51 | * 9,28±0,67 |
| Лімфоцити | % | 45,25±0,62 | 47,50±1,33 | * 50,00±1,33 | ** 51,15±1,01 | * 51,8±2,05 | 47,00±2,12 |
| В т.ч. | Т-лімф. | % | 46,75±1,44 | 48,5±3,01 | 53,00±3,89 | 51,00±2,04 | 49,25±1,80 |
| | В-лімф. | % | 42,50±1,55 | 35,00±5,24 | ** 27,00±3,03 | 23,50±0,29 | *** 21,5±2,10 |
| | 0-лімф. | % | 10,75±2,98 | 16,50±7,90 | 20,00±3,87 | 25,50±2,18 | ** 29,25±1,65 |
| N.K. | % | 23,00±0,91 | 25,50±1,32 | 24,00±2,12 | 19,00±1,47 | ** 16,75±1,25 | * 17,25±1,93 |
| Т-супресори | % | 24,00±1,26 | 22,00±1,47 | 23,50±1,04 | 23,75±1,03 | 18,25±2,78 | ** 19,00±0,70 |
| Т-хелпери | % | 22,75±1,70 | 29,00±1,58 | 29,50±3,10 | 24,75±2,75 | 30,5±1,71 | * 28,00±0,91 |
| Імуно-реактивний індекс | | 0,96±0,10 | 1,34±0,13 | 1,25±0,10 | 1,050,12 | 1,85±0,35 | ** 1,48±0,08 |
| ЦІК | Ммоль/л | 120,00±1,96 | 113,50±20,02 | 126,00±37,11 | 151,25±34,78 | 86,75±5,04 | *** 91,5±2,33 |

При введенні інактивованої аутовакцини з місцевого штаму *Streptococcus pneumoniae* телятам другої дослідної групи (таблиця 2) спостерігається підвищення вмісту лейкоцитів з 7,28 до 14,6 Г/л, лімфоцитів з 45,25 до 51,95 %, Т-лімфоцитів з 46,75 до 59,0 %, Т-хелперів з 22,75 до 33,0 %, ЦІК з 120,00 до 195,0 Ммоль/л.

Таблиця 2

Показники клітинного імунітету при застосуванні аутовакцини з прополісом як ад'ювантом (заявленого засобу), ($M \pm m$; $n=4$)

| Показники | | Одиниці виміру | Контрольна група | 2 дослідна група | | | | |
|-------------------------|---------|----------------|------------------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | | | Після вакцинації | | | | |
| | | | | на 7-й день | на 14-й день | на 21-й день | на 45-й день | на 60-й день |
| Лейкоцити | | Г/л | 7,28±0,13 | 9,43±0,88 | * 9,70±0,80 | ***2,73±0,67 | *** 14,6±3,48 | ***10,93±0,43 |
| Лімфоцити | | % | 45,25±0,62 | * 51,95±2,59 | 51,48±1,92 | 45,25±2,84 | 46,13±2,59 | 42,50±1,94 |
| В т.ч. | Т-лімф. | % | 46,75±1,44 | **59,00±2,08 | * 56,00±2,68 | * 56,75±2,72 | ** 56,00±1,83 | 49,00±1,22 |
| | В-лімф. | % | 42,50±1,55 | **29,50±1,55 | ***25,50±0,87 | ***20,25±0,48 | ***24,25±1,65 | ***29,25±1,55 |
| | 0-лімф. | % | 10,75±2,98 | 11,50±2,96 | 18,50±2,72 | * 23,00±3,11 | 19,75±2,84 | * 21,75±2,56 |
| N.K. | | % | 23,00±0,91 | 25,75±2,43 | 27,50±2,98 | 25,50±0,87 | 20,75±1,03 | ** 16,251,11 |
| Т-супресори | | % | 24,00±1,26 | 24,00±1,78 | 24,00±1,78 | 28,25±3,12 | 22,00±2,04 | 18,00±1,87 |
| Т-хелпери | | % | 22,75±1,70 | 32,75±1,32 | 32,00±1,47 | 30,75±3,64 | 33,00±0,91 | * 31,00±2,04 |
| Імуно-реактивний івдекс | | | 0,96±0,10 | 1,38±0,09 | 1,36±0,11 | 1,18±0,27 | 1,54±0,14 | * 1,80±0,26 |
| ЦІК | | Ммоль/л | 120,00±1,96 | 110,25±8,36 | *179,25±22,90 | *195,00±29,80 | 94,75±2,87 | *** 94,5±2,72 |

Ефективність заявленого засобу щодо впливу на гуморальну ланку імунітету телят при профілактиці пневмококової інфекції вивчали за вмістом імуноглобулінів у сироватці крові телят. Результати досліджень наведені в таблиці 3 і 4.

Таблиця 3

Показники гуморального імунітету при застосуванні інактивованої вакцини проти стрептококових та стафілококових інфекцій (прототипу), ($M \pm m$; $n=4$)

| Показники | Одиниці виміру | Контрольна група | 1 дослідна група | | | | |
|-----------|----------------|------------------|------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | | Після вакцинації | | | | |
| | | | на 7-й день | на 14-й день | на 21-й день | на 45-й день | на 60-й день |
| IgA | г/л | 1,65±0,01 | * 1,72±0,02 | 1,69±0,02 | 1,65±0,03 | *** 1,92±0,02 | *** 1,90±0,04 |
| IgM | г/л | 0,90±0,01 | 0,90±0,01 | 0,93±0,05 | * 0,96±0,02 | *** 1,04±0,01 | 0,94±0,06 |
| IgG | г/л | 13,82±0,11 | 14,05±0,02 | * 14,42±0,19 | 14,42±0,48 | 11,87±1,29 | 12,31±0,75 |

Отримані дані свідчать про підвищення вмісту лейкоцитів з 7,28 до 14,6 Г/л, лімфоцитів з 45,25 до 51,95 %, Т-лімфоцитів з 46,75 до 59,0 %, Т-хелперів з 22,75 до 33,0 %, ЦІК з 120,00 до 195,0 Ммоль/л. Встановлено підвищення рівня IgG, IgM і IgA після введення досліджуваних вакцин.

Таблиця 4

Показники гуморального імунітету при застосуванні аутовакцини з прополісом як ад'ювантом (заявленого засобу), ($M \pm m$; $n=4$)

| Показники | Одиниці виміру | Контрольна група | 2 дослідна група | | | | |
|-----------|----------------|------------------|------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | | | Після вакцинації | | | | |
| | | | на 7-й день | на 14-й день | на 21-й день | на 45-й день | на 60-й день |
| IgA | г/л | 1,65±0,01 | * 1,70±0,01 | 1,69±0,03 | *** 1,76±0,01 | ** 1,92±0,05 | *** 1,92±0,01 |
| IgM | г/л | 0,90±0,01 | 1,07±0,18 | 0,94±0,02 | 0,93±0,03 | 1,26±0,26 | 1,23±0,16 |
| IgG | г/л | 13,82±0,П | 13,73±0,12 | 13,94±0,13 | ** 14,72±0,17 | 16,59±2,78 | ***17,74±0,49 |

5 Застосування заявленого засобу для профілактики пневмококової інфекції телят сприяло корекції у них показників імунного статусу, що проявлялося у збільшенні кількості імунокомпетентних Т- і В-клітин, підвищенні показників неспецифічних тестів захисту, що свідчить про те, що препарат має антибактеріальну, а також імуномодуючу дію, що дає можливість в подальшому отримати екологічно чисту продукцію.

10 Отже, заявлений засіб профілактики пневмококової інфекції телят забезпечує терапевтичну ефективність до 95-100 % в порівнянні з прототипом при одночасній корекції імунного статусу телят.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Профілактичний засіб для боротьби із пневмококовою інфекцією телят, який містить інактивованій місцевий штам *Streptococcus pneumoniae* та ад'ювант, який **відрізняється** тим, що як ад'ювант застосовується біологічно активна речовина - 4 % спиртово-водна емульсія прополісу, при такому співвідношенні компонентів, %:

streptococcus pneumoniae 65-75
4 % спиртово-водна емульсія 25-35.
прополісу

Комп'ютерна верстка О. Рябло

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601