



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **135161** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61K 39/102** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2018 11304</b>	(72) Винахідник(и):
(22) Дата подання заявки: <b>16.11.2018</b>	(73) Власник(и):
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.06.2019</b>	<b>ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,</b> вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, 49600 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.06.2019, Бюл.№ 12</b>	

**(54) ЕПІЗООТИЧНИЙ ШТАМ SA-18 PASTEURELLA MULTOCIDA СЕРОВАРІАНТА А ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ЦІЛЬНОКЛІТИННОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО ІНАКТИВОВАНОГО АНТИГЕНУ У СКЛАДІ ІНАКТИВОВАНОЇ АД'ЮВАНТ-ВАКЦИНИ ПРОТИ ПАСТЕРЕЛЬОЗУ ССАВЦІВ ТА ПТИЦІ, ІНДУКОВАНОГО PASTEURELLA MULTOCIDA СЕРОВАРІАНТОМ А**

### (57) Реферат:

Епізоотичний штам SA-18 Pasteurella multocida сероваріанта А для виготовлення інактивованого цільноклітинного бактеріального антигену у складі інактивованої ад'ювант-вакцини проти пастерельозу ссавців та птиці, індукваного Pasteurella multocida сероваріантом А, що депонований у колекції музею живих культур мікроорганізмів лабораторії мікробіології НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів Дніпровського ДАЕУ.

UA 135161 U



Корисна модель належить до галузі мікробіології та біотехнології, зокрема до технологій виготовлення інактивованої ад'ювант-вакцини проти пастерельозу ссавців та птиці, індукованого *Pasteurella multocida* сероваріантом А.

Відомо про епізоотичний штам № 115 *Pasteurella multocida* сероваріант А, який використовується для виготовлення девіталізованого бактерійного антигену у складі протипастерельозної полівалентної вакцини [1, 4] і має виражені протективні властивості у складі протипастерельозної вакцини на території РФ. В господарствах України циркулюють інші за детермінантами специфічності соматичного антигену епізоотичні сероваріанти пастерел, що обумовлює незадовільні протективні властивості біопрепарату на теренах України.

Відомо про епізоотичний штам № 12 *Pasteurella multocida* сероваріант А українського походження, який використовують для виготовлення девіталізованого антигену у складі протипастерельозної полівалентної інактивованої вакцини проти факторного (ендогенного) пастерельозу телят і поросят [2, 3], який має незадовільний ступінь антигенної спорідненості з епізоотичними штамми, циркулюючими на теренах України в останні роки.

Епізоотичний штам SA-18 *Pasteurella multocida* сероваріанта А належить до роду *Pasteurella* сімейства *Pasteurellaceae* і був ізольований від хворої на пастерельоз курки з віварію ДДАЕУ на початку 2018 р. При вивченні біологічних властивостей штам виявився патогенним для лабораторних тварин (білі миші, морські свинки, курчата) та імуногенним у вигляді інактивованого бактерину. Епізоотичний штам SA-18 *Pasteurella multocida* сероваріанта А депонований у колекції музею живих культур мікроорганізмів лабораторії мікробіології НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів Дніпровського ДАЕУ.

В основу корисної моделі поставлено задачу ізолювати від чутливих тварин, хворих на пастерельоз, патогенний і імуногенний штам *Pasteurella multocida* сероваріанту А з типовими для виду властивостями, для виготовлення інактивованого бактеріального антигену, придатного для використання у складі інактивованої протипастерельозної ад'ювант-вакцини.

Епізоотичний штам SA-18 *Pasteurella multocida* сероваріанту А є збудником пастерельозу ссавців і птахів та характеризується наступними властивостями.

Морфотинкторіальні властивості: у препаратах-мазках з добових культур, пофарбованих за Грамом, пастерели мають вигляд дрібних коко-бактерій рожево-червоного кольору, розташованих поодинокі, парно, короткими ланцюжками. При фарбуванні за Бурі-Гінсом виявляється капсула, що не фарбується. У препаратах-відбитках з внутрішніх органів інфікованих тварин, хворих на пастерельоз, при фарбуванні за Романовським-Гімза або за Міхінім виявляються поліморфні біполярні бактеріальні клітини.

Культуральні властивості: пастерели є швидкозростаючими факультативно-анаеробними мезофільними прокариотами. На м'ясопептонових бульйоні (МПБ) і агарі (МПА) пастерели ростуть в S-формі, на кров'яному МПА - ростуть в М-формі.

В МПБ пастерели в першу добу культивування викликають незначне, ледь помітне помутніння - "опалесценцію", на 2-3 добу помутніння стає більш помітним і при струшуванні спостерігається феномен "муарові хвилі", на 3-4 добу випадає слизуватий осад, при струшуванні якого виникає "кіска".

На МПА пастерели в першу добу культивування формують дрібні прозорі "росинчаті" колонії, що флуоресціюють при косому освітленні, в подальшому - колонії збільшуються у розмірі і мутніють при старінні.

На кров'яному МПА пастерели формують слизуваті непрозорі зеленувато-коричневі колонії без зони гемолізу.

Біохімічні властивості: пастерели ферментують глюкозу, сахарозу і маніт до утворення кислоти без газу; - не ферментують ксилозу, декстрозу, трегалозу, сорбіт, дульцит, мальтозу; - не згортають молоко, не розплавляють желатин; - виділяють сірководень та індол, відновлюють нітрати до нітритів, реакції з метиловим червоним і Фогеса-Проскауера - негативні.

Біологічні властивості: пастерели патогенні для ссавців та птиці. Вірулентність за Спірменом-Кербером-Ашмарінім для лабораторних тварин складає наступні значення:

- LD<sub>50</sub> для білих мишей живою вагою 18-20 г дорівнювала 167±9 КУО з вірогідністю P≤0,05;
- LD<sub>50</sub> для мурчаків живою вагою 220-250 г дорівнювала 363±12 КУО з вірогідністю P≤0,05;
- LD<sub>50</sub> для кролів живою вагою 2,0-2,5 кг дорівнювала 187±7 КУО з вірогідністю P≤0,05;
- LD<sub>50</sub> для курчат 90-120 денного віку дорівнювала 212±8 КУО з вірогідністю P≤0,05.

Стабільність основних властивостей штаму: пастерели зберігають вихідні властивості в м'ясопептоновому напіврідкому агарі (МПНА) в умовах рефрижератора при + (4-6)°C протягом 4 місяців.

Патогенність штаму: підтримують шляхом періодичного пасажування на лабораторних тваринах.

Стабільність генетичних властивостей: у штаму при періодичних пересівах на МПНА, дисоціація не спостерігається протягом 12 місяців.

5 Підтримання та освіження штаму: пересіви на МПНА і недовготривале збереження при +(4-6)°С, з наступним проведенням через організм лабораторних тварин або посів на кров'яний МПА.

Основні умови зберігання: пересіви через кожні 4 місяці на МПНА і зберігання при +(4-6)°С або ліофілізація.

Штам вільний від інших мікроорганізмів та грибів.

Приклад.

10 Запропонований штам SA-18 *Pasteurella multocida* сероваріанта А може бути використаний для виготовлення цілюноклітинного бактеріального інактивованого антигену, який у складі інактивованої протипастерельозної ад'ювант-вакцини використовується для специфічної профілактики пастерельозу ссавців і птиці, індукованого *Pasteurella multocida* сероваріантом А.

15 Для цього бактеріальну масу *Pasteurella multocida* сероваріанта А SA-18 культивують на електричному живильному середовищі (МПБ на основі перевару Хотингеру) до досягнення максимального накопичення ( $\geq 9,0$  Іг КУО/см<sup>3</sup>) і додають хімічний інактивант (0,5 % димер етиленіміну за АДР або інший препарат) і витримують 12 годин при 37±1 °С з періодичним перемішуванням. Для отримання девіталізованої бактеріальної маси пастерел суспензію з бактеріями центрифугують при охолодженні до +(4-6)°С протягом 30-40 хвилин при 4-5 тис. 20 обертів/хв. Надосад видаляють, осад з пастерел ресуспендують у стерильному фізіологічному розчині.

Виготовлений в такий спосіб цілюноклітинний бактеріальний інактивований пастерельозний антиген є нешкідливим, імуногенним, слабореактогенним, біологічно активним препаратом в складі інактивованої вакцини для специфічної профілактики пастерельозу тварин і птиці, індукованого *Pasteurella multocida* сероваріантом А.

25 Джерела інформації:

1. Патент № 2162339 RU, МПК С17 А61К 39/102, А61L 2/16, С12N 1/00. Спосіб 30 виготовлення емульсионной протипастереллезной вакцины [Текст] / А.А. Гусев, В.С. Русалеев, А.И. Сосницький, В.М. Гневашев, О.В. Прунтова; заявитель и патентообладатель Всерос. науч.-исслед. ин-т защиты животных. - № 2000109667/13; заявл. 17.04.00; опубл. 27.01.01; Бюл. № 3. - 6 с.

2. Патент на корисну модель № 7439 UA, МПК 7 А61К 39/00. Епізоотичний штам № 12 *Pasteurella multocida* серовар А для виготовлення вакцини проти факторного (ендогенного) пастерельозу телят і поросят, емульсійної інактивованої [Текст] / Б.Т. Стегній, В.П. Заболотня, О.І. Сосницький; заявник та патентовласник Нац. наук, центр "Ін-т експерим. і клін. вет. 35 медицини". - № 2004120400; заявл. 17.02.04; опубл. 15.06.05, Бюл. № 6. - 4 с.

3. Патент на корисну модель № 7023 UA, МПК 7 А61К 39/00. Спосіб виготовлення емульсійної протипастерельозної вакцини [Текст] / Б.Т. Стегній, О.І. Сосницький, В.П. Заболотил, В.М. Апатенко; заявник та патентовласник Нац. наук, центр "Ін-т експерим. і клін. 40 вет. медицини". - № 20040403267; заявл. 29.04.04; опубл. 15.06.05, Бюл. № 6. - 4 с.

4. Апатенко, В.М. Проблема мажорного патогенна в екології паразитоценозов на прикладі *P. multocida* [Текст] / В.М. Апатенко, А.И. Сосницький, В.П. Заболотная // Болезни диких животных: тр. междунар. науч.-практ. конф. (Покров, 28-30 сент. 2004 г.). - Покров, 2004. - С. 45 215-222.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Епізоотичний штам SA-18 *Pasteurella multocida* сероваріанта А для виготовлення інактивованого цілюноклітинного бактеріального антигену у складі інактивованої ад'ювант-вакцини проти пастерельозу ссавців та птиці, індукованого *Pasteurella multocida* сероваріантом А, що 50 депонований у колекції музею живих культур мікроорганізмів лабораторії мікробіології НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів Дніпровського ДАЕУ.

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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