



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 2201676

(22) 06.05.2022

(46) Бюл. 188, 2022

(71)(73) Институт ветеринарной медицины Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана (TJ)

(72) Амирбеков М. (TJ); Атовуллозода Р.А. (TJ); Назруллозода С.Х. (TJ); Раджабов Х.И. (TJ); Шарипов Р.М. (TJ); Холикова А.Дж. (TJ); Рахимов Н.И. (TJ)

(54) **ШТАММ «*SALMONELLA ABORTUS OVIS*»/KOSHON/2020/ ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРИГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ОВЕЦ**

(56) 1. Профилактика сальмонеллеза сельскохозяйственных животных и птиц: основные направления и средства / Пименов Н.В., Лаишецев А.И., Колесникова Ю.Н. // RJOAS, 12(60), December 2016, Стр. 247-254.

2. Этиология аборт овцев в ряде хозяйств Казахстана / Сугурбек А.К., Макбуз А.Ж., Орынтаев К. Б. и др. // Научный электронный журнал "Меридиан", Выпуск №10(44) 2020, Стр. 1-6.

3. Kauffmann, F. Ueber mehrere neue Salmonella-Typen. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1941, 18, 351-366.

4. Штамм бактерии В-0066 *Salmonella abortus-ovis* АН 9/2, используемый для получения инактивированной вакцины против сальмонеллезно-

2

го аборта овец [Егорова Н. Н., Мусаева А. К., Канатов Б. К. Диагностика и профилактика сальмонеллезного аборта овец// Вестник сельскохозяйственной науки. - Бишкек.-2012. - №6.- с.238-243].

5. Штамм бактерий *Salmonella abortus ovis* (ВГНКИ), используемый для изготовления фабричного антигена производства Курской биофабрики [Шустер Б. Ю., Малахов Ю. А. Ветеринарные препараты. М., 1981, с. 230].

(57) Изобретение относится к области ветеринарии, а именно для промышленного приготовления вакцины против сальмонеллезного аборта овец, и может быть использовано для повышения специфической профилактики сальмонеллеза.

Штамм «*Salmonella abortus ovis*» / koshon/2020/ депонирован в лаборатории биотехнологии и производства ветеринарных препаратов Института ветеринарной медицины ТАСХН, с целью приготовления профилактических и диагностических препаратов, характеризующийся тем, что он получен в результате посева на жидкие, плотные, а также дифференциально-диагностические питательные среды и является эпизоотическим, обладает абортотгенными свойствами для овцематок и высокой вирулентностью для лабораторных белых мышей.

Изобретение относится к ветеринарной микробиологии, а именно для биотехнологии вакцинных препаратов и может быть использовано для повышения специфической профилактики сальмонеллёзного аборта овец.

В настоящее время для специфической профилактики сальмонеллёзного аборта у овец используются разные импортируемые вакцины, которые не всегда оказывают достаточный эффект.

Сальмонеллёзы широко распространены в природе и наносят значительный экономический ущерб овцеводству. В настоящее время известно более 2500 серотипов сальмонелл.

Среди инфекционных болезней, снижающих эффективность овцеводства в Таджикистане, значительное место занимает сальмонеллёзный аборт овец (*salmonella abortus ovis*) и причиняет большой экономический ущерб животноводству.

Сальмонелла, палочковидная грамотрицательная бактерия, относящаяся к семейству *Enterobacteriaceae*, является возбудителем сальмонеллеза. Сальмонеллы имеют сравнительно высокую вирулентность среди животных соответствующего вида [1].

Сальмонеллёз овец чаще наблюдается за 1—1,5 месяца до окота или вовремя окотной кампании. Болезнь может стать массовой и сопровождаться абортами и гибелью овцематок от послеродового сепсиса. Аборт возникает внезапно, но обычно до него наблюдаются беспокойство овец, отек половых губ, из влагалища выделяются кровянисто-слизистые массы. После аборта овец могут быть задержание последа, эндометрит. Нередко сальмонеллез у овец протекает бессимптомно. Абортировавшие овцематки представляют наибольшую опасность, так как вместе с плодом, плацентой, оболочками и плодными водами выделяют вирулентные культуры сальмонелл во внешнюю среду [2, 3].

Известен штамм бактерии В-0066 *Salmonella abortus ovis* АН 9/2, используемый для получения инактивированной вакцины против сальмонеллезного аборта овец [4].

Недостатком данного штамма является недостаточная вирулентность по сравнению с выделенным нами местным штаммом.

Также известен штамм бактерий *Salmonella abortus ovis* (ВГНКИ), используемый для изготовления фабричного антигена производства Курской биофабрики [5].

Недостатком известного штамма является возможность утраты вирулентности вследствие длительных пересевов и отсутствие пассажей на восприимчивых животных (овцематках).

Целью нашего изобретения является получение и использование местного высоковирулентного штамма *Salmonella abortus ovis* с типичными культурально-морфологическими, биохимическими, антигенными свойствами для разработки вакцин отечественного производства.

Изобретение было направлено на выделение эпизоотического штамма *Salmonella abortus ovis*, обладавшего патогенностью для любого возрастного

состава овец, находящегося на территории Республики Таджикистан.

Идентификацию штамма бактерий проводили по основным культурально - морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам, согласно определителю Bergey s (1997, том 1, стр. 192-193).

Штамм бактерий «*Salmonella abortus ovis*» / koshon/2020/ депонирован в лаборатории биотехнологии ветеринарных препаратов Института ветеринарной медицины ТАСХН с целью приготовления вакцины против указанной инфекции.

Вирулентные свойства выделенного штамма достаточно высоки, что позволяет эффективно его использовать для производства вакцины, а также изучения иммуногенности вакцины.

Штамм «*Salmonella abortus ovis*» / koshon/2020/ характеризуется следующими признаками.

Культуральные признаки

Штамм «*Salmonella abortus ovis*» / koshon/2020/ в мазках из суточных культур, выращенных на жидкой или плотной питательной среде, представляет собой короткие прямые или слегка изогнутые палочки, грамотрицательные, неспороносные, с закруглёнными концами. На обычных питательных средах пышно растут в гладкой форме, колонии на плотных средах выглядят округлыми, блестящими, выпуклыми с ровной поверхностью. *Salmonella abortus ovis* – палочка с закруглёнными концами, по сравнению с другими сальмонеллами несколько меньшего размера, длина ее 0,8 -3,0, ширина 0,4-06 мкм. На обычных средах развивается довольно скудно, формируя мелкие (с булавочную головку) просвечивающие колонии с приподнятым центром. На бульонах (Хотингера и Мартена с сывороткой крови, аминокептидном, гидролизном) растёт пышно, бактериальные клетки более крупные и не отличаются от других сальмонелл. На бульоне образует умеренное помутнение и незначительный осадок. На полужидком агаре наблюдается рост по всей толще среды.

На среде Эндо колонии белого цвета (неферментируют лактозу), слегка розоватые, прозрачные, блестящие с ровными краями; на висмут - сульфитном агаре мелкие черные колонии с металлическим блеском с окрашиванием участка среды под колониями в чёрный цвет, на среде Плоскирева - бесцветные колонии, на среде Левина - малинового цвета.

Физико-биологические свойства. *Salmonella abortus ovis* способна расти в микроаэробных условиях. Оптимум pH 7,2 при температуре 37°C.

Биохимические свойства.

Штамм «*Salmonella abortus ovis*» / koshon/2020/ – сбраживает глюкозу, маннит, с образованием кислоты и очень слабо газ; лактозу, сахарозу, дульцит, сорбит, рамнозу не сбраживает; индол не выделяет; желатин не разжижает; мочевины не разлагает, нитраты редуцирует, сероводород образуется слабо, лизин декарбоксилирует. Имеет отрицательную реакцию по Фогес-Проскауэру, не образует ацетилметилкарбинол.

Патогенность.

Штамм высоко патогенен для белых мышей и восприимчивых овец. Штамм «*Salmonella abortus ovis*» / *koshon/2020/* был патогенен для белых мышей при внутрибрюшинном заражении в дозах 0,2- 0,5 мл на голову.

При экспериментальном заражении данным штаммом, заболевание протекает среди овец с ярко выраженной клинической картиной, характерной для сальмонеллёзного аборта овец.

Антигенные свойства.

Salmonella abortus ovis / *koshon/2020/* вызывает образование антител, которые отличаются по характеру агглютината вследствие присутствия двух основных антигенных комплексов: О-антиген (соматический) термостабильный; Н – антиген, а также - О-и Н- антигены сальмонелл.

Для проведения О- агглютинации культуру брали с верхней части пробирки. О – агглютинация характеризуется зернистостью, соединение клеток происходит полярными поверхностями, в результате образуются мелкие частицы, О антиген- 4, 12, Н-с (1-я фаза), 1,6 (2-я фаза).

Для проведения Н - агглютинации культуру брали со дна пробирок. Н - агглютинация характеризуется образованием хорошо видимых крупных хлопьевидных рыхлых частиц агглютината, в результате соединения клеток своими жгутиками и полного их обездвиживания.

Род сальмонелла подразделен на 4 подрода: I – IV. Каждый подрод отличается между собой по биохимическим признакам. Данные биохимических показателей варьируют в зависимости от вида, типа, а также штамма возбудителя.

Сальмонеллы объединены в 5 серологических групп, которые подразделяются на: А, В, С, Д, Е. Принадлежность к каждой группе определяется общностью соматических антигенов штаммов.

По классификации штамм *Salmonella abortus ovis* относится к серологической группе В.

На основании особенностей Н - антигенов сальмонелл проводится дифференциация внутри группы. Таким образом, 1 -я фаза обозначена строчными буквами латинского алфавита. У *Salmonella abortus – ovis* 1 -я фаза обозначена - С; а 2-я фаза обозначена арабскими цифрами 1,6.

С диагностическими сальмонеллезными агглютинирующими сыворотками, при типизации с поливалентной (А, В, С, Д, Е), О - сывороткой 1, 4, 12 и Н -сыворотками 1 –я фаза с, 2 -я фаза 1,6 штамм имеет постоянную реакцию.

Штамм *Salmonella abortus ovis* / *koshon/2020/* - эпизоотический, по клиническим признакам обладает свойствами вызывать аборт у овцематок. При экспериментальном подкожном введении овцам 500 млрд м. к./ см³ штамм *Salmonella abortus ovis* / *koshon/2020* также вызывает аборт.

При проведении биологических тестов на белых мышках (250 тыс. м. к. при подкожном введении суточной бульонной культуры) отмечена высокая вирулентность и гибель всех экспериментальных мышей.

Штамм *Salmonella abortus - ovis* хранится в биобанке, в лабораторных условиях, при этом нами не отмечены изменения культурально- морфологических, биохимических свойств. Данный штамм сохраняет свою вирулентность, патогенность и антигенную структуру.

При исследовании антигенов, приготовленных на основе штамма «*Salmonella abortus ovis*» / *koshon/2020/* обнаружен максимальный титр соответствующих антител.

Выделенный штамм сальмонеллы предлагается использовать для контроля иммуногенности вакцины и разработки специфических профилактических, а также диагностических препаратов против сальмонеллёза овец.

Пример 1

Изолят сальмонеллы, послуживший источником для получения штамма *Salmonella abortus ovis*» / *koshon/2020/*, был выделен в Институте ветеринарной медицины ТАСХН из абортировавших плодов овец, полученных в феврале-марте 2020 года, от подозреваемых в заболевании сальмонеллёзным аборт овец из дехканского хозяйства «Ходжи-Шариф» района Кушониён Хатлонской области.

В мясопептонный бульон (МПБ) засеивали пастеровской пипеткой кусочки паренхиматозных органов абортировавших плодов. В термостате при 37⁰С культивировали 18 - 24 часа. По истечении срока отмечалось равномерное помутнение МПБ. Далее с МПБ проводили посевы на мясопептонный агар (МПА), на среду Эндо, висмут - сульфитный агар.

Отмечалось накопление бакмассы при пересеве их в МПБ при 20 часах инкубации и дальнейшем пересеве в одинаковой дозировке 1,0 см³ на 10,0 см

Таким образом, приведенная выше информация свидетельствует о выполнении при использовании предлагаемого изобретения следующей совокупности условий:

- штамм «*Salmonella abortus ovis*» / *koshon/2020/* возбудитель сальмонеллёза овец, воплощающий предлагаемое изобретение, предназначен для использования в сельском хозяйстве, а именно в ветеринарной микробиологии и биотехнологии;

- для предлагаемого изобретения в том виде, как оно охарактеризовано в независимом пункте формулы изобретения, подтверждена возможность его осуществления с помощью описанных в заявке или известных до даты приоритета средств и методов.

- штамм «*Salmonella abortus ovis*» / *koshon/2020/*, получен в соответствии с предлагаемым изобретением, обладает высокой биологической, антигенной и иммуногенной активностью в нативном виде и после инактивации, пригоден для изготовления высокоспецифичных и чувствительных диагностикумов и высокоиммуногенных, безвредных вакцинных препаратов.

Следовательно, предлагаемый штамм соответствует условию патентоспособности «промышленная применимость».

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Штамм «*Salmonella abortus ovis*»/ koshon / 2020/, депонирован в лаборатории биотехнологии и производства ветеринарных препаратов Института

ветеринарной медицины ТАСХН, используемый для приготовления инаktivированных вакцин против сальмонеллёзного аборта овец.

Компьютерный набор: Нигораи А.