



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 1901278

(22) 01.02.2019

(46) Бюл. 190, 2022

(71)(73) Институт проблем биологической безопасности Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана (TJ)

(72) Амирбеков М. (TJ); Турдиев Ш.А. (TJ); Аноятбеков М. (TJ); Муминов А.А. (TJ); Махмудов А.Х. (TJ); Абдукосими А. (TJ); Асрорзода М. (TJ); Исмаев И.А. (TJ); Халимов М. (TJ); Иматшоев И.Х. (TJ)

(54) **ШТАММ CLOSTRIDIUM SORDELLII № 03 / 2016 / Ё CLSTJ – 03Ё ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КЛОСТРИДИОЗОВ МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА**

(56) 1. Коваленко Я.Р. Анаэробные инфекции сельскохозяйственных животных. – М.; Сельхозгиз, 1954, 358с.

2. Сегаль М.С., Негаевская М.Р., Денисова Н.Я. Значение микроба сорделли в патогенезе анаэробных инфекций // Врачебное дело. – 1950. – вып. 4., С.349 – 350.

3. Патент №986100. 23.12.83 Калиниченко Н.Ф. Способ получения токсинов клостридий.

4. Патент №16260, 14.10.2005, Ахмедсаидов Н.Н., Сулейманова М.А., Хусайнов Д.М. Способ получения поливалентной вакцины против браздота, злокачественного отека овец, инфекционной энтеротоксемии и дизентерии ягнят.

5. Патент №1352938. 04.11.1985. Земляничная С.Б. Питательная среда для получения энтеротоксина *C. perfringens* типа А. штамма Э1.

6. Амирбеков М., Турдиев Ш.А., Асрорзода, Абдукосим А., Аноятбеков М. Роль *Clostridium sordellii* в эпизоотологии анаэробных инфекций овец в Таджикистане // международная научно – практическая конференция ФГБУ, ВНИИЗЖ, г. Владимир, Российская Федерация 26.10.2018, - С.309 – 315.

7. Инструкция по применению вакцины против браздота, инфекционной энтеротоксемии, злокачественного отека овец и дизентерии ягнят инaktivированная, ФКП «Ставропольской биофабрики» г. Ставрополь, Ставропольский край, Российская Федерация.

8. Сегаль М.С., Негаевская М.Р. Биология штаммов *Bac. Sordellii*, выделенных из различных источников // Тр. Украинского института эпидемиологии и микробиологии. – Харьков, 1949. – Т. 16, вып. 2.

2

(57) Изобретение относится к области ветеринарной микробиологии, а именно биотехнологии вакцинных препаратов и может быть использовано против клостридиозов мелкого рогатого скота.

Клостридиоз – широко распространенное заболевание животных, вызываемое различными видами и типами клостридий. В большинстве случаев животные заражаются через корма, повреждения на коже и слизистых. Клостридии вызывают у животных (чаще у молодняка) инфекционную энтеротоксемию.

Целью изобретения является получение штамма *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё обладающего защитным эффектом при использовании данного штамма для приготовления вакцины против клостридиозов мелкого рогатого скота.

Поставленная цель достигается тем, что штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/ЁCLSTJ-03Ё был выделен из овцеводческих хозяйств Раштского и Яванского районов и города Вахдата Республики Таджикистан при массовых заболеваниях овец с характерными признаками клостридиозов животных.

Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё выращивают в среде Китта – Тароци в течение 18 – 24 часов при температуре 37 – 38⁰С. С целью лучшего токсинообразования при культивировании добавляют 40% глюкозу из расчета 0,5% сухого вещества.

Выделенный штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/ЁCLSTJ-03Ё ферментирует мальтозу, глюкозу и фруктозу, не разлагает лактозу и сахарозу. Разжижает желатин и свернутую сыворотку, вырабатывает сероводород и индол, образует уреазу. В процессе роста производят микроскопию культур. В мазках должны быть палочки типичные для *Clostridium sordellii*.

Изобретение относится к области ветеринарной микробиологии, а именно биотехнологии вакцинных препаратов и может быть использовано против клостридиозов мелкого рогатого скота.

Клостридиоз – широко распространенное заболевание животных, вызываемое различными видами и типами клостридий. В большинстве случаев животные заражаются через корма, повреждения на коже и слизистых. Клостридии вызывают у животных (чаще у молодняка) инфекционную энтеротоксемию.

Возбудитель - *Clostridium sordellii*

Классификация возбудителя:

Семейство: - *Clostridiaceae*

Род: - *Clostridia*

Вид: - *Clostridium sordellii*

Клостридии – крупные палочковидные неподвижные бактерии. В организме животных образуют капсулы, во внешней среде – споры, которые сохраняются в почве до 4 лет, на сухих поверхностях – до 2 лет. Клостридиозы широко распространены в природе и наносят значительный экономический ущерб сельскому хозяйству. Известно более 180 видов бактерий данного рода, некоторые из них обладают патогенностью и токсичностью для животных.

К патогенным клостридиям относится также *Clostridium sordellii*, обуславливающая развитие газовой гангрены. О выделении *Clostridium sordellii* из организма больных животных в литературе встречаются лишь единичные сообщения [1,2,3,4].

Основную роль в патогенезе анаэробных инфекций играют экзотоксины, вырабатываемые бактериями в анаэробных условиях [5].

Клинические признаки заболеваний развиваются стремительно и как правило заканчиваются летальным исходом.

Описаны только единичные случаи выделения этого вида клостридий при анаэробных инфекциях овец.

В последние годы (2015 - 2017гг.) в овцеводческих хозяйствах Республики Таджикистан в значительной степени возросло количество случаев возникновения инфекций, вызываемых *Clostridium sordellii*. В отдельных хозяйствах республики от этой болезни пало и вынужденно убито от 8 до 12% поголовья [6].

В настоящее время для профилактики клостридиозов мелкого рогатого скота (браздота, инфекционной энтеротоксемии, злокачественного отека овец и дизентерии ягнят) используется инактивированная вакцина производства Ставропольской биофабрики г. Ставрополь Российской Федерации. [7]

Вакцина состоит из культур токсигенных производственных штаммов *Cl. perfringens* типов В или С, *Cl. perfringens* типа D, *Cl. oedematiens* и *Cl. septicum* инактивированных формалином и адьюванта- гидроокси алюминия.

Известен эпизоотический штамм *B. sordellii* №03. Данный штамм на печеночном бульоне образует интенсивный рост с помутнением среды и газообразование. К микробу чувствительны подопытные животные всех видов: белые мыши, крысы, кролики, куры и др. [8].

Недостатком данного штамма является то, что при выращивании культур *B. sordellii* в жидких питательных средах сахарозам, токсин образуется через 48 часов значительно меньшей токсичностью. Токсины *B. Sordellii* в разведении 1:500 убывает морских свинок через 24 часа после подкожного введения в разведении 1:2000 – через 48 часов и в разведении 1:5000 через 5 дней. Белые мыши погибают от токсина *B. sordellii* в разведении 1:10000.

Накопление токсина в питательных средах происходит в течение 2 – 7 суток

Целью изобретения является получение штамма *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё обладающего защитным эффектом при использовании данного штамма для приготовления вакцины против клостридиозов мелкого рогатого скота.

Поставленная цель достигается тем, что штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/ЁCLSTJ-03Ё был выделен из овцеводческих хозяйств Раштского и Яванского районов и города Вахдата Республики Таджикистан при массовых заболеваниях овец с характерными признаками клостридиозов животных.

Выделенный штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/ЁCLSTJ-03Е используют для производства вакцины против браздота овец. При включении в вакцины штамма *Clostridium sordellii* №03/2016/ЁCLSTJ-03Ё повышается защитный эффект вакцины. У привитых животных вырабатывает достаточно напряженный иммунитет к возбудителю браздота овец.

Штамм *Clostridium Sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё депонирован в Центре национальной коллекции патогенных микроорганизмов Института проблем биологической безопасности и биотехнологии.

Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё характеризуется следующими признаками:

Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё грамм положительная палочка с закругленными концами, хорошо подвижна, имеют жгутики, споры овальные, расположенные субтерминально. Часто отмечалось палочковидные цепочки, состоящих из 3 - 4 члеников. Бациллы капсул не образовывали, хорошо окрашивались по методу Граму.

Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / ЁCLSTJ – 03Ё выращивают в среде Китта – Тароцци в течение 18 – 24 часов при температуре 37 – 38°C. С целью лучшего токсинообразования при культивировании

вании добавляют 40% глюкозу из расчета 0,5% сухого вещества.

Токсигенность. Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / Ё CLSTJ – 03Ё обладает выраженной токсигенностью по отношению к лабораторным животным. Токсин образуется через 24 – 48 часов при выращивании в мясо – пептоном печеночном бульоне с добавлением глюкозы.

Благоприятной средой для накопления токсина *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / Ё CLSTJ – 03Ё является бульон изготовленной из мяса телят с кусочками печени и с добавлением 3% пептона.

Культурально – морфологические свойства штамма и генетические особенности.

Штамм *Clostridium sordellii* №03 / 2016 / Ё CLSTJ – 03Ё растет на простых питательных средах в анаэробных условиях. На поверхности питательных сред образует слабовыпуклые серовато-белые колонии с неровным краем. На кровяном агаре колонии бывают окруженной узкой зоной гемолиза. В жидких мясных питательных средах интенсивный рост *Clostridium sordellii* происходит в течение 24 часов, часто с образованием слизи. На среде Китта-Тароцци культура давала обильное помутнение. В жидком бульоне выделенные культуры давали интенсивный рост с образованием газа. Культуры должны иметь чистый рост на МППБ и типичную морфологию при отсутствии роста в МПБ и на МПА.

Физико-биохимические свойства штамма. Выделенный штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/Ё CLSTJ-03Ё ферментирует мальтозу, глюкозу и фруктозу, не разлагает лактозу и сахарозу. Разжижает же-

латин и свернутую сыворотку, вырабатывает сероводород и индол, образует уреазу. В процессе роста производят микроскопию культур. В мазках должны быть палочки типичные для *Clostridium sordellii*.

Способ хранения штамма: (t^0 , питательная среда)

Штамм хранят на среде Китта-Тароцци при температуре $+4+6^0\text{C}$.

Периодичность пересевов на питательных средах.

Один раз в 6 месяца при хранении на среде Китта-Тароцци и раз в три года при хранении в лиофилизированном виде.

Вирулентность.

Вирулентность выделенного штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/Ё CLSTJ-03Ё составляет от 0,5 до 1 см³ при внутримышечном введении морским свинкам.

Пример.

Безвредность опытной серии вакцины проверяли на базе Национального центра ветеринарной диагностики СГВН на 3 овцах. Вакцину первоначально вводили внутримышечно в дозе 2–3 мл. Ревакцинацию проводили через 15 дней после вакцинации. У вакцинированных животных отмечали кратковременное повышение температуры тела, других отклонений от физиологической нормы не наблюдалось. При применении вакцины в соответствии с инструкцией побочных явлений и осложнений не было выявлено.

Формула изобретения

Штамм *Clostridium sordellii* №03/2016/Ё CLSTJ-03Ё депонирован в Центре национальной коллекции патогенных микроорганизмов Института проблем биологической безопасности Таджикской

академии сельскохозяйственных наук для приготовления вакцины против клостридиозов мелкого рогатого скота.

Компьютерный набор: Нигораи А.

Заказ	Тираж	Подписное
Национальный патентно-информационный центр РТ 734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а		