Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **1093**
(51) C12N1/20

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

(12) Описание изобретения

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

(21) 1901377
(22) 18.12.2019
(46) Бюл. 160, 2020
(71) Институт проблем биологической безопасности Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана
(72) Махмудов К.Б. (TJ); Саттори И. (TJ); Ахмеджанова М. (TJ); Абдукосими А. (TJ); Исокова М. (TJ)
(73) Институт проблем биологической безопасности Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана

(54) **ШТАММ PASTEURELLA MULTOSIDA *МАН. К.* №02/2016 РМ TJ-02 ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

(56) 1. Урбан В.П. Проблемы ветеринарной иммунологии./В.П. Урбан.- Москва.: Агропромиздат.1985.- 215с.

2. Борисович Ю.Ф. Инфекционные болезни животных./Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кирилов. - М.:Агропромиздат,1987.с.198-199.

3. Куриленко А.Н. Лечение сельскохозяйственных животных при инфекционных болезнях./А.Н. Куриленко, В.А. Крупальник. - М. Агропромиздат,1986,с.38-46.

4. Саттори И. Изучение эпизоотологии инфекционных болезней молодняка с-х животных. / И.Саттори, К.Б. Махмудов. Душанбе, «Доклады ТАСХН» №1, 2017.с.44-47.

5. Рустамов Ю.М. Антигенные, вирулентные и иммуногенные свойства пастерелла мультоцида различных серологических вариантов (типов): Автореф. дис.… канд. вет. аук., М., 1983. -25.

6. Бирман Б.Я. Штамм Pasteurella multocida сероварианта И КМИЭВ-68 – штамм-антиген. BY 13084, 2010.

(57) Изобретение относится к ветеринарной микробиологии и штамм, выделенного от больного пастереллезом животного, имеющий высокую антигенную активность, которая используется для изготовления вакцины с целью специфической профилактики пастереллеза сельскохозяйственных животных.

Штамм Pasteurella multosida №02/2016 РМTJ-02 растет на плотных питательных средах в аэробных условиях в виде мелких, прозрачных, с ровным краем круглой формы колоний, которые флуоресцируют в проходящем свете.

На жидких питательных средах - видны умеренное помутнение, на дне слизистый осадок, при встряхивании пробирки поднимается в виде «косички». В жидких мясных питательных средах интенсивный рост штамма Pasteurella multosida №02/2016 РМTJ-02 происходит в течение 24-36 часов, часто с образованием слизи. При посеве на среды Гисса с углеводами ферментировал глюкозу, сахарозу, лактозу, дульцит, глицерин, салицин, инулин, рамнозу раффинозу, редуцирует нитраты, не образует уреазу, не обладает гемолитической активностью, продуцирует индол, не разжижает желатин и не свёртывает молоко.

Штамм Pasteurella multosida №02/2016 РМTJ-02 патогенен для белых мышей, кроликов, молодняка крупного и мелкого рогатого скота.

Изобретение относится к ветеринарной микробиологии и штамм, выделенного от больного пастереллезом животного, имеющий высокую антигенную активность, которая используется для изготовления вакцины с целью специфической профилактики пастереллеза сельскохозяйственных животных.

В настоящее время в животноводческих хозяйствах Республики Таджикистан для специфической профилактики пастереллеза сельскохозяйственных животных используется инактивированные моновакцины производства ФКП Ставропольской биофабрики Российской Федерации. Вакцины состоят из культур Пастерелла мултосида (Pasteurella multosida), инактивированных формалином и добавлением адъюванта-гидроокись алюминия.

Пастереллез - инфекционная болезнь многих видов млекопитающих и птиц, характеризующаяся при остром течении признаками септицемии, при подостром и хроническом - преимущественно поражением лёгких, и воспалительно-геморрагическими процессами в внутренних органах, на серозных и слизистых оболочках.

Возбудитель- Pasteurella multosida.

Классификация возбудителя:

Семейство: *Pasteurellaceae.*

Род: *Pasteurella.*

Вид: *Pasteurella multosida.*

Болеют многие виды сельскохозяйственных (крупный рогатый скот, овцы, козы) и диких животных, в т.ч. птицы (холера птиц).

Пастереллы широко распространены в природе и наносят значительный экономический ущерб животноводческим хозяйствам.

Известно 4 серотипов бактерий данного рода, некоторые из них обладают патогенностью для животных [1].

Также отмечены случаи заболевание пастереллезом людей [2].

Пастереллы - неподвижные, грамотрицательные, не образующие спор бактерии, располагающиеся изолированно, иногда парами и реже цепочками. При окрашивании мазков из крови и органов выявляется биполярность. Бактерии, выделенные от разных видов животных по морфологическим, культуральным свойствам сходны, но патогенность их наиболее высока для того вида животных, от которого они выделены.

Устойчивость возбудителя к воздействию внешних факторов и химических веществ невысокая. В навозе, земле и гниющих трупах пастереллы остаются жизнеспособными в течении 1-3 мес. При высушивании на открытом воздухе и солнце они погибают в течение 48 ч., под действием прямых солнечных лучей за 10-15 мин.

Все дезинфицирующие вещества в обычных концентрациях губительно действуют на бактерии в течение нескольких минут [2,3].

К факторам, способствующим эпизоотическому распространению пастереллеза среди мелкого рогатого скота, следует отнести массовые передвижения животных весной и осенью без должного учета степени благополучия фермерских, частных и крупных животноводческих хозяйств по пастереллезу, отсутствие надлежащей организации хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий в указанных хозяйствах [3].

В борьбе с указанными инфекционными болезнями важное значение имеет своевременная диагностика и специфическая профилактика-повышение иммунологической реактивности организма животных, особенно молодняка мелкого рогатого скота и проведение соответствующих санитарно-ветеринарных мероприятий.

Источник возбудителя инфекции - больные и переболевшие животные, который выделяют во внешнюю среду возбудителя при кашле, со слюной, фекалиями. Заражение животных происходит в основном через дыхательные пути или пищеварительный тракт, возможно и заражение через поврежденную кожу.

Болезнь у животных протекает в виде сверхострого, острого, подострого течения, а по локализации инфекционного процесса и клиническому проявлению - септическую, грудную, отечную и кишечную формы [3].

В последние годы в овцеводческих хозяйствах Республики Таджикистан в значительной степени возросло количество случаев возникновения инфекций, вызываемых пастереллезом. В отдельных хозяйствах Районов республиканского подчинения при изучении эпизоотологии инфекционных болезней молодняка сельскохозяйственных животных в 64 % случаях выделены пастереллы, сальмонеллы, кишечная палочка и др. [4-5].

Известен штамм Pasteurella multosida серовариантa B, исходные культуры которого обладали слабой вирулентностью: значение LD_{50} которого составляет $0{,}8x10^9$ микробных клеток после пассажа на питательные среды с добавлением 10% сыворотки крови лошади, вирулентность их также не повышалась, увеличение вирулентности достигали путем пассажа через организм белых мышей и кроликов [6].

Недостатком данного штамма является возможность реверсии к первоначальным свойствам, то есть к ослаблению вирулентности, что при изготовлении вакцин из такого штамма может привести к снижению иммуногенной активности, а следовательно, и защитных свойств.

Задачи, на решение которой направлено заявляемое изобретение, является получение штамма, обладающего высокой антигенной активностью для овец.

Поставленная задача достигается тем, что Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 для получения биологических препаратов - штамм выделен из легочной ткани больных пастереллезом овец Племенного хозяйство «Чорводор» Вахшского

района Хатлонской области экс.№ 56 от 06.09. 2013г.

Штамм Pasteurella multosida *Mah.K.* №02/2016 РМ TJ-02 в основном используется для производства биологических препаратов, в том числе ассоциированной вакцины против сальмонеллеза и пастереллеза сельскохозяйственных животных и депонирован в Центре национальной коллекций патогенных микроорганизмов Института проблем биологической безопасности Таджикской академии сельскохозяйственных наук.

Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 для получения биологических препаратов растет на плотных питательных средах в аэробных условиях в виде мелких, прозрачных, с ровным краем круглой формы колоний, которые флуоресцируют в проходящем свете.

На жидких питательных средах - видны умеренное помутнение, на дне слизистый осадок, при встряхивании пробирки поднимается в виде «косички». В жидких мясных питательных средах интенсивный рост штамма Pasteurella multosida №02/2016 РМTJ-02 происходит в течение 24-36 часов, часто с образованием слизи. При посеве на среды Гисса с углеводами ферментировал глюкозу, сахарозу, лактозу, дульцит, глицерин, салицин, инулин, рамнозу раффинозу, редуцирует нитраты, не образует уреазу, не обладает гемолитической активностью, продуцирует индол, не разжижает желатин и не свёртывает молоко.

Таксономическая принадлежность.

Данный штамм отнесен к семейству Pastereullaceae, виду Pasteurella multosida.

Патогенность для животных.

Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 для получения биологических препаратов патогенен для мелкого рогато скота и лабораторных животных.

Культурально-морфологические признаки.

Для выделения и поддержания культур используют обычные среды: МПБ, МПА, бульон и агар Хоттингера, обогащенные сывороткой кровы лошади. Оптимальная температура 37°С, ph-среды 7- 7,4. Имеет форму овоидов или коротких палочек. На жидких средах образует слабое помутнение с незначительным серо – белым осадком. На плотных средах через 24 часов, при 37°С образуют выпуклые, влажные, серовато – белые колонии диаметром 1 – 3мм.

Биохимические свойства штамма.

В биохимическом отношении штамм Pasteurella multosida №02/2016 РМTJ-02 ферментируют мальтозу, глюкозу, маннозу, галактозу, ферментируют сорбит и ксилозу. Не продуцирует ß- гемолизин, не ферментируют инозит, рамнозу и салицин.

Антигенный состав шамма Pasteurella multosida №02/2016 РМ TJ-02.

Имеет в своем составе капсульный и соматический антигены.

Способы и условия хранения.

Хранят штамм в пробирке при температуре $+2+4^0$С в МПА под вазелиновом масле или сахароза - желатиновой среде в течение одного года. Жизнеспособность поддерживается путем пересева на питательные среды - МПБ, МПА 1-раз каждый 3-6 месяца при условии хранения $+2+4^0$ С.

Антигенные свойства.

Антигенность штамма Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 составляет 6,8 Iog_2

Иммуногенность.

Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 составляет 96%.

Вирулентность.

Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 для получения биологических препаратов является вирулентным для лабораторных животных и молодняка сельскохозяйственных животных.

Чувствительность к антибиотикам.

Штамм чувствителен в более 60% случаев к антибиотикам: Нитокс-200, Амоксициллин, Доксициклин, Окситетрациклин, Тилозин-200, Осипрол, Левоэритроциклин.

Пример 1.

Штамм Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02 выделен при посеве из кусочков легких патологической ткани на мясопептоный бульон с добавлением лошадиной сыворотки 1мл на пробирку. В первые сутки выращивания отмечали легкое равномерное помутнение среды. Через 6-8 дней хранения при +2 -4 ^{0}С на дне пробирки образовывался характерный слизистый осадок с полным просветлением бульона.

Пример 2.

Антигенные свойства изучали в реакции непрямой гемагглютинации в разведении сыворотки до 1024. В качестве антигена использовали бактериальную культуру штамма Pasteurella multosida *Mah. K.* №02/2016 РМ TJ-02. Результаты реакции показали, что антигенная активность штамм а Pasteurella multosida №02/2016РМTJ-02 составляет 6,8 Iog_2.

Таким образом, штамм Pasteurella multosida №02/2016 РМ TJ-02 обладает высокой антигенной активностью-6,8 Iog_2, по сравнению с известными штаммами- антигенами (4,6Iog_2), который может быть использован для диагностических и профилактических препаратов в качестве штамма- антигена.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Штамм Pasteurella multosida *Mah.K.* №02/2016 РМ TJ-02 в основным используется для производства биологических препаратов, в частности ассоциированной вакцины против сальмонеллеза и пастереллеза сельскохозяйственных животных и депонирован в Центре национальной коллекций патогенных микроорганизмов Института проблем биологической безопасности Таджикской академии сельскохозяйственных наук.

Компьютерный набор: Назарова Дж.Д.

Заказ Тираж Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а