

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО**(12) Описание изобретения**
К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 2401984

(22) 19.07.2024

(46) Бюл. 227, 2026

(71) Институт ветеринарной медицины Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана (ТJ)

(72) Амирбеков М. (ТJ); Атовуллозода Р.А. (ТJ); Назруллозода С.Х. (ТJ); Рахимов Н.И. (ТJ); Раджабов Х.И. (ТJ); Расулов С.А. (ТJ); Набиева М.С. (ТJ); Разоков Ш.И. (ТJ)

(73) Институт ветеринарной медицины Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана (ТJ)

(54) **ЭМУЛЬГИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ОВЕЦ**

(56)

1. М. Амирбеков и др, «Эпизоотологическая ситуация по сальмонеллезной инфекции овец в Таджикистана».- Известия национальной академии наук Таджикистана.- Душанбе, 2022, №3(218), стр. 122-130.

2. К.Б.Бияшев, «Иммунопрофилактика сальмонеллеза сельскохозяйственных животных в Казахстане».-автор.дисс.док вет наук, Алма-Ата, 1992, 50стр.

3. В.Ф. Свириденко, А.А. Волкова, М.И. Исаков и др. «Изучение фуразолидона для профилактики и лечения сальмонеллеза овец и ягнят». – Инфекционные болезни овец, Фрунзе, 1976, стр.29-35.

4. А.К. Сугурбен, А.Ж. Мокбуз, К.Б. Орынтьев и др. «Этиология аборта овец в ряде хозяйств в Казахстана», Научный электронный журнал и меридиан, Выпуск №10(44),2020, стр.1-6.

5. М.Н.Егорова, А.К. Мусаева, Б.К. Канатов.- «Штамм бактерии В-0066 *Salmonella abortus ovis* АН,9/2, используемый для получения инактивированной вакцины против сальмонеллеза овец».- Диагностика и профилактика

2

сальмонеллезного аборта овец//. Вестник сельскохозяйственной науки .- Бишкек, 2012, №6, стр.138-243.

6. Б.А. Матвиенко, К.Б. Бияшев. «Иммунопрофилактика паратифа телят живой вакцины из аттенуированного штамм *S.dublin*», Труды АЗВИ/ инфекционные и паразитарные болезни с-х животных. Т.ХХУП.-1974, стр.27-30.

7. Р.А. Кадышев, А.А. Кунаков, В.А. Седов. «Инфекционные болезни овец». Москва, 1987, стр.148-156.

8. Патент №94036809/13,30.09.1994, авторы: И.П. Иренков, М.А. Лучко. «Инактивированная вакцина против сальмонеллеза овец».

(57) Изобретение относится к области ветеринарной микробиологии и биотехнологии вакцинных препаратов, предназначенных для профилактики сальмонеллезного аборта у овец.

Целью изобретения является повышение иммуногенных свойств вакцины и эффективности методов профилактики сальмонеллезного аборта овец с использованием местных штаммов *Salmonella abortus ovis koshon/2020*.

Поставленная цель достигается за счет использования бактериальной массы штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020* при следующем соотношении компонентов, масс. %:

Бактериальная масса штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020* 50-60

Сурковый жир с ланолиновым маслом (87:13) 17-18

Формалин 0,2-0,3

Физиологический раствор 22,7-31,8

Изобретение относится к области ветеринарной микробиологии, а именно биотехнологии вакцинных препаратов, и может быть использовано для профилактики сальмонеллезного аборта у овец.

Среди инфекционных болезней, снижающих эффективность овцеводства в Таджикистане, значительное место занимает сальмонеллезный аборт овец (*Salmonella abortus ovis*), который причиняет значительный экономический ущерб животноводству [1,2,4,6].

На текущий момент известно более 2500 серотипов сальмонелл. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), количество возбудителей этой инфекции увеличивается из года в год [1,3].

Многолетний опыт использования убитых вакцин с применением гидроокиси алюминия в качестве адьюванта показал их недостаточную эффективность. Согласно данным В.Ф. Свириденко и соавт. [3], концентрированная формалиновая вакцина против сальмонеллезного аборта овец, применяемая в многих овцеводческих хозяйствах, оказалась неэффективной. Аборты сальмонеллезной этиологии регистрировались одинаково часто как среди привитых, так и среди не привитых стад.

Известна инактивированная вакцина против сальмонеллеза овец [8], изготовленная из штаммов *Salmonella abortus ovis* № 876; *Salmonella dublin* № 1449; *Salmonella typhimurium* №159, а также в качестве иммуностимулятора штамма *Rodococcus equi* № 2.

Известна также аттенуированная (ослабленная) живая вакцина, разработанная в Казахстане, которая представляет собой ослабленную культуральную вакцину [2,6].

Недостатками этой вакцины являются высокая остаточная реактогенность и возврат клеток вакцинных штаммов к исходному вирулентному состоянию. Кроме того, отсутствуют генетические маркеры (марки), которые позволяли бы отличать их от естественных прототипов.

Для специфической профилактики сальмонеллезного аборта овец также используется поливалентная формалиново-тиомерсальная вакцина [7].

Вакцина содержит антигены трех сероваров: *Salmonella abortus ovis*; *Salmonella dublin*; *Salmonella typhimurium*, производимая Армавирской биофабрикой. Вакцину вводят дважды перед случкой и однократно ревакцинируют за 1 месяц до окота. Из-за высокой реактогенности овец не вакцинируют в последний месяц беременности и первую неделю после окота, а ягнят в возрасте до 20 дней. Эта вакцина из-за низкой иммуногенности не широко используется в практике.

Предложенная вакцина включает антигены трех сероваров сальмонелл: *Salmonella abortus ovis*, *Salmonella typhimurium*, и *S. dublin*. В дополнение содержится физиологический раствор, формалин и адьювант — маслянистая взвесь клеток родококка в

качестве иммуностимулятора. Однако, согласно данным многих исследователей, основным возбудителем сальмонеллеза овец является *Salmonella abortus ovis*, в редких случаях обнаруживается *Salmonella typhimurium*. Автор исследовал минеральное масло с безводным ланолином в соотношении 83:17 в качестве адьюванта [7].

Целью изобретения является повышение иммуногенных свойств вакцины и эффективности методов профилактики сальмонеллезного аборта овец с использованием местных штаммов *Salmonella abortus ovis koshon/2020*.

Поставленная цель достигается за счет использования бактериальной массы штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020* при следующем соотношении компонентов, масс. %:

Бактериальная масса штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020* 50-60

Сурковый жир с ланолиновым маслом (87:13) 17-18

Формалин 0,2-0,3

Физиологический раствор 22,7-31,8

Схема приготовления вакцины осуществляют следующим образом.

- Используют питательную среду для культивирования сальмонелл (бульон Хоттингера или среда Кауфмана или МПБ).

- Проводят посев штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020*.

Пример 1. Питательные среды (бульон Хоттингера или среда Кауфмана или МПБ) для культивирования штамма *Salmonella abortus ovis koshon/2020*.

Культивацию сальмонелл проводят на бульоне Хоттингера, среде Кауфмана или МПБ с добавлением сыворотки крови лошадей до конечной концентрации 5% и глюкозы до конечной концентрации 2%.

Определение бактериальной массы на 1 кубический сантиметр может достигать 1,0-2,0 миллиарда микробных клеток.

Процесс приготовления адьюванта начинают с взятия жира сурка и безводного ланолина в соотношении 87:17. Ланолин расплавляют в **необходимом количестве** и добавляют к жиру сурка. Затем смесь перемешивают и стерилизуют при температуре 115°C в течение 1 часа.

Адьювант проверяют на стерильность путем высева в 2 пробирках на каждую из следующих сред: МПА, МПБ, Китта-Тарощи и Сабуро. Посевы выдерживают при температуре 37°C в течение 10 суток (среда Сабуро при температуре 22-24°C). Не должно быть роста культур микроорганизмов на всех средах.

Пример 2. Подготовка посевного материала

Перед получением бактериальной массы необходимо пересеять культуру 3-4 раза с интервалом 1 суток на среде Кауфмана, Хоттингера или в МПБ. Культивацию осуществляют при температуре 37°C в течение 24-48 часов.

в стеклянных баллонах (20 л) или в реакторах (100 л), инаktivированных формалином до конечной концентрации 0,2% или 0,3% в течение 3 суток при температуре 37°C. В процессе использовали технический формалин согласно ГОСТу 1625-75, содержащий 37% формальдегида.

После завершения инаktivации бактериальной массы проверяли на стерильность путем посева в 2 пробирки на каждую из следующих сред: МПА, МПБ, Кит-Тароцци и Сабуру. Посевы на стерильность выдерживают при температуре 37°C в течение 10 дней (среда Сабуру при температуре 22-24°C в течение 20 дней).

Инаktivированную культуру *Salmonella abortus ovis koshon/2020* после инаktivации сохраняют при температуре от +4°C до +10°C и используют для изготовления вакцины.

Инаktivированные бактериальные суспензии концентрируют с помощью центрифугирования при скорости 5000-6000 оборотов в течение 15 минут до достижения конечной концентрации 60 миллиардов микробных клеток в 1 кубическом сантиметре.

Масло (жир сурка) и ланолиновую смесь (в соотношении 87:17) соединяют с бактериальной суспензией сальмонелл в соотношении 1:1 в бутылках. Затем смесь перемешивают в эмульгаторе со скоростью 6000 оборотов в минуту в течение 10-15 минут.

Эмульгированную вакцину разливают в бутылки для упаковки в стеклянные флаконы по ТУ 10-09-202-86 объемом 100 кубических сантиметров, которые тщательно закрывают резиновыми пробками по ТУ 38006-108-78 и запечатывают алюминиевыми колпачками по ОСТ 64-909-86.

Одна иммунизирующая доза эмульгированной вакцины для молодняка составляет 1 мл, а для овцематок — 2 мл подкожно.

Пример 3. Определение безвредности

Вакцину вводят подкожно морским свинкам с массой тела 250-300 г в объеме 0,5 мл в области спины. В течение 10 суток после введения, вакцина не должна вызывать заболеваний или приводить к гибели животных.

По данной схеме было изготовлено 4 экспериментальных серии вакцин против сальмонеллезного аборта овец. Контроль вакцин на стерильность, безопасность и активность проводился с использованием общепринятых методов. Вакцина была апробирована в экспериментальных и производственных условиях на 1540 головках мелкого рогатого скота в трех сериях опытов.

Опыты проводились на базе подсобного хозяйства «Душанбе» Министерства обороны Республики Таджикистан. В первом опыте было использовано 231 серонегативных овцематок, не имеющих антител к возбудителю сальмонеллезного аборта овец. Животные были разделены на 3 группы.

Овцематок первой группы (121 голову) вакцинировали гидроокисалюминиевой вакциной экспериментальной серии № 1, изготовленной 30.06.22 года, подкожно в дозе 2 мл.

Овцематок второй группы (100 голов) иммунизировали подкожно однократно вакциной «ОКЗ» производства ООО «Агровет» Российской Федерации, инаktivированной и в дозе 1,0 мл (прототип).

Овцематок третьей группы (10 голов) вакцинировали внутримышечно экспериментальной серией вакцины № 1, эмульгированной, изготовленной 30.06.2022 года, в дозе 2 мл.

У овцематок первой группы наблюдалось незначительное повышение температуры тела до 40,5-40,8 °C на 3-5-й сутки (см. таблица 1).

После введения вакцины "ОКЗ" от ООО "Агровет" РФ (контрольная группа), у овцематок второй группы наблюдалось незначительное повышение температуры тела до 40,2-40,8°C на 2-4-й сутки (см. таблица 2). При введении экспериментальной эмульгированной серии вакцины (третья группа), у овцематок также отмечалось незначительное повышение температуры тела до 40,2-40,9°C на 4-6-й сутки (см. таблица 3).

При серологическом исследовании сыворотки крови овцематок первой группы в реакции агглютинации (РА) были обнаружены антитела к возбудителю сальмонеллезного аборта овец в титрах от 1:25 до 1:800 у 25,6% животных.

У овцематок второй группы были обнаружены антитела в реакции агглютинации (РА) в титрах от 1:50 до 1:500 у 23% животных.

Среди овцематок третьей группы до вакцинации не было обнаружено антител к возбудителю сальмонеллезной инфекции. Все овцематки из этой группы были серонегативными до вакцинации.

У овцематок первой группы, где использовалась гидроокисалюминиевая вакцина (ГОА) в качестве контрольной, антиагглютинирующие антитела к возбудителю сальмонеллезной инфекции овец были обнаружены на 14 и 30 сутки в следующих титрах соответственно: 1:460 и 1:1480 (см. таблица 4).

При серологическом исследовании сыворотки крови овцематок второй контрольной группы были обнаружены антиагглютинины к возбудителю сальмонеллезного аборта овец на 14 и 30 сутки в следующих титрах соответственно: 1:330 и 1:1080 (см. таблица 5).

Как видно из данных таблицы 5, у 50% вакцинированных овцематок второй группы вакциной производства ООО «Агроветсервис» Российской Федерации были обнаружены антитела только в титрах 1:100 и выше.

Результаты экспериментальных исследований по специфической профилактике сальмонеллезного аборта овец с использованием инаktivированной эмульсин вакцины показали её безвредность и высокую иммуногенность для овцематок случайного возраста. Антитела в сыворотках крови животных третьей группы в реакции агглютинации (РА) на 14 и 30-е сутки достигали титров 1:740 и 1:2240 соответственно, что значительно выше, чем в двух контрольных группах.

Определение эффективности опытной серии эмульсинвакцины проводилось на беременных

7

1668

В результате исследования установлено, что среди овцематок, вакцинированных первой группой (контроль №1), случаи аборт, мертворождений и гибели произошли лишь в 14% случаев, что свидетельствует о высокой эффективности инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины (прототип) — эффективность составила 86%.

Эффективность вакцины «ОКЗ», произведённой ООО «Агровет» Российской Федерации, в данном опыте составила 84%.

Таким образом, предложенная эмульгированная вакцина, изготовленная Институте ветеринарной медицины, обладает следующими преимуществами:

- она слабореактогенна, что минимизирует негативные реакции после вакцинации;

овцематок в период с января по апрель 2023 года.

8

- обеспечивает высокий уровень иммунитета против сальмонеллезного аборта овец;

- снижает количество случаев абортов у беременных овцематок;

- предотвращает передачу сальмонеллезной инфекции на молодняк овец, обеспечивая их защиту.

Эти преимущества делают данную вакцину эффективным инструментом в борьбе с сальмонеллезным аборт и защите стада овец.

Создание данной вакцины, способствует защите овец от сальмонеллезного аборта путём использования оптимальных пропорций компонентов, включая бактериальную массу, жир и ланолин для эмульсии, формалин для инактивации и физиологический раствор для создания желаемой консистенции и стабильности вакцины.

Формула изобретения

Эмульгированная вакцина против сальмонеллезного аборта овец, содержащая бактериальную массу штамма *Salmonella abortusovis*, ланолиновое масло, формалин и физиологический раствор, **отличающаяся тем, что**, она дополнительно содержит сурковый жир при следующем соотношении компонентов, масс. %:

Бактериальная масса штамма *Salmonella abortusovis* koshon/2020 50-60

Сурковый жир с ланолиновым маслом (87:13) 17-18

Формалин 0,2-0,3

Физиологический раствор 22,7-31,8

Таблица 1. - Температура тела у овцематок первой группы до и после иммунизации

Дни до и после иммунизации							
Ин №	27.07	28.07	29.07	30.07	31.07	1.08	2.08
05306	39,2	40,2	40,5	40,6	39,7	39,4	39,6
05325	38,8	39,9	40,3	40,5	39,4	39,0	39,4
05125	39,5	39,8	40,4	40,4	40,0	39,5	39,4
05520	39,4	40,4	40,1	40,5	40,8	40,2	39,2
05340	38,5	40,3	40,8	41,0	40,6	40,2	39,4

Таблица 2. - Температура тела у животных второй группы до и после иммунизации

Дни до и после иммунизации								
№	Ин №	27.07	28.07	29.07	30.07	31.07	01.08	02.08
1	05001	39,8	40,0	40,4	40,6	40,8	40,2	39,8
2	6740	39,5	39,9	40,5	40,6	39,8	39,9	39,4
3	05388	39,8	40,6	40,8	41,0	39,6	39,7	39,6
4	0033	40,0	40,6	40,6	40,4	40,0	39,9	39,8
5	3428	39,4	40,2	40,4	40,8	39,9	39,4	39,5

Таблица 3. - Температурная кривая у овец третьей группы после вакцинации (опытная)

Дни после иммунизации								
№	ИН №	27.07	28.07	29.07	30.07	31.07	01.08	02.08
1	05623	38,9	39,2	39,8	40,2	40,6	40,9	39,2
2	05288	39,4	39,2	39,4	39,9	40,5	40,4	39,6
3	05175	38,8	38,6	39,0	40,2	40,2	40,2	40,0
4	05336	39,5	39,6	39,9	40,8	40,6	40,0	38,4
5	070059	39,0	39,4	40,6	40,6	40,4	39,6	39,4

Таблица 4. - Титры антигемагглютинирующих антител у овцематок первой группы

№	Инвентарь животных №	До иммунизации	На 14 день	На 30-6 день
Группа животных	05195	0	1:400	1:800
	05956	0	1:600	1:600
	78078	0	1:400	1:600
	05944	0	1:200	1:600
	62,3305	0	1:200	1:3200
	05416	0	1:800	1:1600
	05401	0	1:400	1:3200
	05340	0	1:400	1:800
	12330	0	1:800	1:600
	410705	0	1:400	1:800
Средний титр			1:460	1:1480

Таблица 5. - Титры антигемагглютинирующих антител у животных второй группы

№ Группа животных	Инв.№ животных		Титры антигемагглютинирующих антител в РА в динамике		
			До иммунизации	На 14 день	На 30 день
Группа 2	0956		0	1:200	1:800
	0768		0	1:400	1:1000
	05856		0	1:200	1:400
	6740	РФ	0	1:600	1:1200
	05045	000	0	1:400	1:800
	022757	Агро	0	1:400	1:600
	05001		1:200	1:200	1:2800
	05163		0	1:600	1:1200
	05179		0	1:100	1:800
	415213		1:800	1:200	1:1200
	Средний титры			1:330	1:1080

Таблица 6. - Титры антигемагглютинирующих антител у овцематок третьей группы

№ Группа животных	Инв.№ животных	Наимен. вакцины	Титры антигемагглютинирующих антител в РА в динамике		
			До иммунизации	На 14 день	На 30 день
Группа 3	034446	эмульгатор	0	1:400	1:800
	05623	вакцина	0	1:1200	1:2600
	05288	ИВМ	0	1:800	1:3600
	05175	ТАСХН	0	1:1200	1:3600
	02929		0	1:800	1:3600
	022629		0	1:1200	1:1:1800
	05336		0	1:800	1:3600
	62809		0	1:400	1:800
	05645		0	1:400	1:1200
	070059		0	1:200	1:800
	Средний титр		0	1:740	1:2240

Таблица 7. - Сравнительное изучение эффективности контрольных и опытных групп животных

№ Группа животных	Количество животных в опыте	Вид вакцины	Полученный приплод по плану				
			февраль	март	апрель	Получение приплод	Эффектив ность (%)
I	121	ГОА ИВМ РТ	110	60	8	178	86
II	100	ОКЗ РФ	90	38	3	131	84
III	10	Эмульсин вакцина ИВМ ТАСХН	6	94	0	100	90

Компьютерный набор: Газиев М.

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

Тираж

Подписное