

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ



ӨНЕРТАБЫСҚА
ПАТЕНТ

АСТАНА



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ

ӨНЕРТАБЫСҚА

№ 26354

ПАТЕНТ

(54) **АТАУЫ:** Қойлардың қатаралды безгегіне қарсы инактивтелген, эмульгияланған, бивалентті вакцина дайындау тәсілі

(73) **ПАТЕНТ ИЕЛЕНУШІСІ:** Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің "Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты" шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорыны

(72) **АВТОР (АВТОРЛАР):** Абдураимов Ергали Орынбасарович; Баракбаев Кайнар Базаркулович; Ершебулов Закир Джапарович; Таранов Дмитрий Сергеевич; Жугунисов Кузандык Даулетбаевич

(21) № Өтінім 2011/0685.1

(22) Өтінім берілген күн 21.06.2011

Патенттің күші Қазақстан Республикасының бүкіл аумағында, оны күшінде ұстау үшін ақы уактылы төленген жағдайда сақталады.

Қазақстан Республикасы
Әділет министрінің орынбасары

Э. Әзімова

Өзгерістер енгізу туралы мәліметтер осы патентке қосымша түрінде жеке парақта келтіріледі

001457



(19)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

(12)

ПАТЕНТ

(11)

№ 26354

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(54) **НАЗВАНИЕ:** Способ изготовления вакцины инактивированной эмульгированной бивалентной против катаральной лихорадки овец

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Абдураимов Ергали Орынбасарович; Баракбаев Кайнар Базаркулович; Ершебулов Закир Джапарович; Таранов Дмитрий Сергеевич; Жугунисов Куандык Даулетбаевич

(21) Заявка № 2011/0685.1

(22) Дата подачи заявки 21.06.2011

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

**Заместитель министра юстиции
Республики Казахстан**

Э. Азимова

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту



ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21) 2011/0685.1

(22) 21.06.2011

(45) 15.10.2015, бюл. №10

(64) A4 (KZ) №26354, бюл. №11, 15.11.2012

(72) Абдураимов Ергали Орынбасарович; Баракбаев Кайнар Базаркулович; Ершебулов Закир Джапарович; Таранов Дмитрий Сергеевич; Жугунисов Куандык Даулетбаевич

(73) Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

(56) Johansen K, Nicoll A, Ciano B. C, Kramarz P. Pandemic influenza A(H1N1) 2009 vaccines in the European Union // Euro Surveill, 2009. Vol.14(41). Pp.19361-68

US 4338296 A, 06.07.1982

SU 1822791 A1, 23.06.1993

RU 2099086 C1, 20.12.1997

(54) СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ПРОТИВ КАТАРАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКИ ОВЕЦ

(57) Изобретение относится к ветеринарной вирусологии и биотехнологии и используется для вакцинации овец против вируса катаральной лихорадки овец в угрожаемых и неблагополучных зонах против 4 и 16 серотипов.

Целью настоящего изобретения является разработка отечественных препаратов против катаральной лихорадки овец 4 и 16 серотипов для

иммунизации овец с длительным сохранением иммунитета.

Для изготовления вакцины эмульгированной бивалентной инактивированной против 4 и 16 серотипов, использовали культуры клеток ПС и Vero, соответственно, выращенные в матрасах стационарным методом. Инактивацию культурального материала вируса КЛО полученного на основе штаммов 4 и 16 серотипов проводили отдельно 0,1%-ным раствором бета-пропиолактона. Вирус инактивировали при $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 12 часов. В течение первых 6 часов суспензию перемешивали каждые 0,5-1 час. Для обеспечения гарантийного запаса инактивации, вирусный материал после инактивации выдерживали 12 часов в холодильнике при температуре плюс 4°C .

Полноту инактивации вируса КЛО определяли путем его 3-х кратного пассирования в культуре клеток ПС и Vero соответственно, по отсутствию ЦПД вируса на третьем пассаже. В качестве контроля использовали культуры клеток той же партии, в которую вносили только питательную среду.

Для получения бивалентной вакцины инактивированные суспензии двух серотипов смешивали в соотношении 1:1 затем вакцину готовили путем объединения масляного адьюванта Montanide ISA-71VG и инактивированного антигена вируса КЛО весом соотношении 7:3, путем тщательного перемешивания при помощи лабораторного миксера (4000 об/мин в течение 10-15 мин) до получения эмульсии.

Изобретение относится к ветеринарной вирусологии и биотехнологии и используется в приготовлении вакцины эмульгированной бивалентной инактивированной против 4 и 16 серотипов вируса катаральной лихорадки овец.

Известна работа автора Сливко В.В. «Усовершенствование технологии изготовления инактивированной вакцины против блютанга» (Покров, 2003.- 148 с.: ил. РГБ ОД, 61 03-16/185-0), в которой описывается изготовление бивалентной вакцины против 4-го и 9-го серотипов вируса блютанга выделенных на территории Российской Федерации. Автором в работе были использованы роллерный и суспензионный методы культивирования в культуре клеток ПСГК-60 (почки сибирского горного козерога) и ВНК-21 (почки сирийского хомячка), также использовалась без сывороточная поддерживающая среда. В качестве инактиванта автор использует А-24 и димерэтилиминин, адъювант - минеральное масло Marcol - 52 и эмульгатор КЛ-230. Вируснейтрализующие антитела в крови вакцинированных овец на 21 день после иммунизации составляет 1:8 - 1:16. Иммуитет формируется у овец, сохраняющийся у привитых животных на протяжении 6 месяцев после вакцинации.

Недостатками Российской вакцины является длительное время инактивации вирусного материала, а также приготовления адъюванта, низкая продолжительность иммуитета у привитых животных.

Отличительной особенностью от зарубежной вакцины заключается в использовании 4-го и 16-го серотипа вируса блютанга, методом культивирования вирусосодержащей суспензии стационарным методом, инактивацией вируса β -пропиолактоном и технологией эмульгирования, а также использованием масляного адъюванта Montanide ISA-71 VG. Формирование иммуитета у привитых животных сохраняется на протяжении 9 месяцев после вакцинации.

Целью настоящего изобретения является разработка отечественных препаратов против катаральной лихорадки овец 4 и 16 серотипов для иммунизации овец с длительным сохранением иммуитета.

Для изготовления вакцины эмульгированной бивалентной инактивированной против 4 и 16 серотипов, использовали культуры клеток ПС и Vero, соответственно, выращенные в матрасах стационарным методом. Монослой вышеуказанных культур клеток инфицировали в дозе 0,01-0,1 ТЦД₅₀/кл (0,1-1,4 см³) и выдерживали при температуре 37°C в течение 1 часа, для контакта монослоя с вирусом. После контакта монослоя с вирусом в матрасы (сосуды) с культурой клеток вносили поддерживающие среды ПСП и VERO соответственно, с содержанием 2% инактивированной сыворотки КРС в объеме 1/10 части матраса и культивировали в течение 3-5 сут. Ежедневно проводили визуальный контроль под световым микроскопом для обнаружения

характерных деструктивных изменений в монослое. По достижению цитопатического действия монослое культуры клеток 75-90% матрас охлаждали при 4°C.

Инактивацию культурального материала вируса КЛО полученного на основе штаммов 4 и 16 серотипов проводили раздельно.

Инактивацию вируса проводили 0,1%-ным раствором бета-пропиолактона. Перед началом инактивации pH вирусной суспензии повышали до значений 8,0-8,2 добавлением стерильного раствора бикарбоната натрия. Вирус инактивировали при 37±0,5°C в течение 12 часов. В течение первых часов суспензию перемешивали каждые 0,5-1 час. Для обеспечения гарантийного запаса инактивации вирусный материал после инактивации выдерживали 12 часов в холодильнике при температуре плюс 4°C.

Полноту инактивации вируса КЛО определяли путем его 3-х кратного пассирования в культуру клеток ПС и Vero соответственно. В стерильные флаконы вносили по 0,5 см³ инактивированного вируса и 4,5 см³ питательной среды ПСП и VERO. Содержимое флаконов перемешивали и вносили в пробирки с 2 сут культурой клеток ПС и Vero по 1 см³ в каждую. Культуру клеток выдерживали при температуре (37±0,5)°C в течение 30 мин. Затем монослой двукратно отмывали средой ПСП и VERO (по 2 см³). После этого в пробирки заливали по 1 см³ питательной среды и инкубировали в течение 6 сут при температуре (37±0,5)°C. Питательную среду меняли через сутки после заражения. Для проведения следующего пассажа испытуемую культуру клеток кратковременно замораживали при температуре минус 70°C, оттаивали при комнатной температуре и содержимое пробирок переносили в 2 сут культуру клеток ПС и Vero (2 пассажа). Инкубировали испытуемую культуру в течение 6 сут при температуре (37±0,5)°C. Третий пассаж проводили аналогично. Полноту инактивации вируса оценивали по отсутствию ЦПД вируса в третьем пассаже. В качестве контроля использовали культуру клеток той же партии, в которую вносили только питательную среду.

Для получения бивалентной вакцины инактивированные суспензии двух серотипов смешивали в соотношении 1:1 затем вакцину готовили путем объединения масляного адъюванта Montanide ISA-71VG и инактивированного антигена вируса КЛО в весовом соотношении 7:3, путем тщательного перемешивания при помощи лабораторного миксера (4000 об/мин в течение 10-15 мин) до получения эмульсии. Далее производили расфасовку при помощи дозирующего устройства в стерильные флаконы. Флаконы закрывали резиновыми пробками и закатывали алюминиевыми колпачками.

Разработка вакцины связана с внедрением отечественных препаратов против катаральной лихорадки овец 4 и 16 серотипов для иммунизации овец в Республике Казахстан. Внедрение вакцины против катаральной лихорадки овец в республике Казахстан является актуальной задачей, решением

ений в монослое
го действия в
5-90% матра
материала вирус
штаммов 4 и 16

дили 0,1%-ным
Перед началом
ии повышали до
ильного раствора
активировали при
ечение первых
аждые 0,5-1 час
аса инактивации
инактивации
подильнике при

КЛО определял
ания в культу
о. В стерильны
нактивированно
ды ПСП и VERO
али и вносили в
ок ПС и Vero п
выдерживали при
е 30 мин. Затем
дой ПСП и VERO
заливали по 1 см
и в течение 6 су
тательную сред
заражения. Для
жа испытуемы
амораживали при
и при комнатно
рок переносили
Vero (2 пассаж
ру в течение 6 су
Третий пасса
ту инактивации
ЦПД вируса н
оля использовали
которую вносили

тной вакцины
двух серотипов
затем вакцины
яного адьюванта
ованного антиген
ении 7:3, путем
при помощи
ин в течение 10
алее производил
цего устройства
оны закрывали
и алюминиевыми

с внедрением
тив катаральной
для иммунизации
едрение вакцины
вец в республике
задачей, решен

который позволит ввести в ветеринарную практику
средство профилактики катаральной
овец среди овец, а также исключить
приобретения дорогостоящих
профилактических препаратов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ изготовления вакцины
инактивированной эмульгированной бивалентной

против катаральной лихорадки овец, включающий
выбор серотипов вируса, культивирование вируса,
использование масляного адьюванта и инактиванта,
отличающийся тем, что используют 4 и 16
серотипы вируса, культивируют вирус
стационарным методом в культурах клеток ПС и
Vero, инактивируют вирус β -пропиолактоном, с
использованием масляного адьюванта Montanide
ISA-71VG.