



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12N 7/00 (2021.02)

(21)(22) Заявка: 2020120767, 23.06.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.06.2020

Дата регистрации:
05.05.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 23.06.2020

(45) Опубликовано: 05.05.2021 Бюл. № 13

Адрес для переписки:
141142, Московская обл., Щелковский р-он, п.
Биокомбината, Щелковский биокомбинат, и.о.
директора Г.А. Бачерикову

(72) Автор(ы):
Матвеева Ирина Николаевна (RU),
Богомолова Олеся Анатольевна (RU),
Крюкова Елена Николаевна (RU),
Ельников Василий Викторович (RU),
Литенкова Ирина Юрьевна (RU),
Хаустова Наталья Владимировна (RU),
Бабина Екатерина Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное казенное предприятие
"Щелковский биокомбинат" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2493254 C2, 20.09.2013. RU
2214276 C1, 20.10.2003. RU 2236253 C2,
20.09.2004. DONG LI, et al. The comparison of
the efficacy of swine FMD vaccine emulsified
with oil adjuvant of ISA 201 VG or ISA 206 VG",
Journal of Biosciences and Medicines 01(03):22-
25-January 2013 with 203 Rea.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЦИРКОВИРУСА СВИНЕЙ (ВАРИАНТЫ)

(57) Реферат:

Изобретение относится к ветеринарной биотехнологии и касается применения штамма цирковируса свиней 2 типа для производства профилактических и диагностических препаратов, используемых в научно-исследовательских институтах и предприятиях биологической промышленности при конструировании биопрепаратов, в частности вакцин против цирковируса свиней 2 типа. Изобретение представляет собой способ получения вакцины против цирковируса свиней, включающий получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешивание его с адьювантом, в качестве вирусосодержащего материала вакцина содержит вирусосодержащий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием

с адьювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001 - 0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адьюванта используют масляный адьювант, при определенном соотношении компонентов, причем для инактивации в полученную композицию добавляют 4-5% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием с последующей стерилизацией целевого продукта. Также в способе получения вакцины против цирковируса свиней, где получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешивание его с адьювантом, в качестве вирусосодержащего материала вакцина содержит

вирусодержущий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием с адьювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при рН 7,6-7,8 и температуре 35-39°С в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адьюванта используют масляный адьювант, дополнительно содержит стабилизатор хитозан при определенном соотношении компонентов, причем для инактивации в полученную композицию добавляют 4-5% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной

концентрации 0,001-0,005% при рН 7,6-7,8 и температуре 35-39°С в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием с последующей стерилизацией целевого продукта. Также в способе получения вакцины против цирковируса свиней, включающем получение вирусодержущего материала из штамма вируса и адьюванта и его инактивацию, в качестве адьюванта используют масляный адьювант ISA 201 VG, или ISA 206 VG, или масляный адьювант ВНИИЗЖ. Технический результат: повышение качества целевого продукта за счет увеличения его иммуногенности против цирковируса свиней 2 типа. 2 н. и 1 з.п. ф-лы, 1 табл., 13 пр.

RU 2747468 C1

RU 2747468 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C12N 7/00 (2021.02)

(21)(22) Application: **2020120767, 23.06.2020**

(24) Effective date for property rights:
23.06.2020

Registration date:
05.05.2021

Priority:

(22) Date of filing: **23.06.2020**

(45) Date of publication: **05.05.2021** Bull. № 13

Mail address:

**141142, Moskovskaya obl., Shchelkovskij r-on, p.
Biokombinata, Shchelkovskij biokombinat, i.o.
direktora G.A. Bacherikovu**

(72) Inventor(s):

**Matveeva Irina Nikolaevna (RU),
Bogomolova Olesya Anatolevna (RU),
Kryukova Elena Nikolaevna (RU),
Elnikov Vasilij Viktorovich (RU),
Litenkova Irina Yurevna (RU),
Khaustova Natalya Vladimirovna (RU),
Babina Ekaterina Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe kazennoe predpriyatie
"Shchelkovskij biokombinat" (RU)**

(54) **METHOD FOR PRODUCING VACCINE AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS (OPTIONS)**

(57) Abstract:

FIELD: veterinary biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to veterinary biotechnology and concerns the use of a strain of porcine circovirus type 2 for the production of preventive and diagnostic drugs used in research institutes and enterprises of the biological industry in the design of biological products, in particular vaccines against porcine circovirus type 2. The invention is a method for producing a vaccine against porcine circovirus, including obtaining a virus-containing material from a virus strain and mixing it with an adjuvant. The vaccine contains a virus-containing material from the "PCV2/SHBC" strain with an infectious activity of 4.0-7.0 lg TCID₅₀/cm³ as a virus-containing material, which is inactivated before mixing with the adjuvant by adding 4-5% aminoethylethylenimine solution to a final concentration of 0.001 - 0.005% at a pH of 7.6-7.8 and a temperature of 35-39°C for 20-22 hours with periodic mixing. An oil adjuvant is used as an adjuvant, at a certain ratio of components, and for inactivation, a 4-5% solution of

aminoethylethylenimine is added to the resulting composition to a final concentration of 0.001-0.005% at a pH of 7.6-7.8 and a temperature of 35-39°C for 20-22 hours with periodic mixing followed by sterilization of the target product. Additionally, it contains a chitosan stabilizer at a certain ratio of components, and for inactivation, a 4-5% solution of aminoethylethylenimine is added to the resulting composition to a final concentration of 0.001-0.005% at a pH of 7.6-7.8 and a temperature of 35-39°C for 20-22 hours with periodic mixing followed by sterilization of the target product. Also in the method of producing a vaccine against porcine circovirus, which includes producing a virus-containing material from a virus strain and an adjuvant and inactivating it, the oil adjuvant ISA 201 VG, or ISA 206 VG, or the oil adjuvant of All-Russian Research Institute for Animal Health (ARRIAH) is used as an adjuvant.

EFFECT: invention is aimed at improving target product quality by increasing its immunogenicity against porcine circovirus type 2.

3 cl, 1 tbl, 13 ex

RU 2 747 468 C1

RU 2 747 468 C1

Изобретение относится к области ветеринарии, ветеринарной биотехнологии и касается применения штамма цирковируса свиней 2 типа для производства профилактических препаратов, используемый в научно-исследовательских институтах и предприятиях биологической промышленности при конструировании биопрепаратов, в частности вакцин против цирковируса свиней 2 типа.

Известен способ получения вакцины против цирковируса свиней, включающий получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешиванием его с адьювантом [Патент РФ №2493254, Способы и композиции для иммунизации свиней против свиного цирковируса, МПК C12N15/34; C12N7/00; A61K39/12; C12Q 1/68; опубликовано: 27.01.2012, Бюл. №3].

Недостатком данной вакцины является ее недостаточный срок хранения с сохранением качества целевого продукта.

Техническим решением предлагаемого изобретения является повышение качества целевого продукта за счет увеличения его иммуногенности против цирковируса свиней 2 типа.

Предложена группа изобретений, объединенная единым изобретательским замыслом с достижением единого технического результата.

Поставленная задача решается в способе получения вакцины против цирковируса свиней, включающем получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешиванием его с адьювантом тем, что в качестве вирусосодержащего материала вакцина содержит вирусосодержащий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием с адьювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адьюванта используют масляный адьювант, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма	
цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	50,00-60,0
Масляный адьювант	остальное.

Поставленная задача решается также в способе получения вакцины против цирковируса свиней, включающем получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешиванием его с адьювантом с тем, что в качестве вирусосодержащего материала вакцина содержит вирусосодержащий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием с адьювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адьюванта используют масляный адьювант, дополнительно содержит стабилизатор хитозан, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Хитозан	5,0-10,0
Смесь инактивированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адьюванта,	

Поставленная задача решается также в способе получения вакцины против цирковируса свиней по п. 1 и 2, тем, что в качестве адъюванта используют масляный адъювант ISA 201 VG, или ISA 206 VG, или масляный адъювант ВНИИЗЖ.

5 Известен штамм «PCV2/SHBC» цирковируса свиней, семейства Circoviridae, депонированный в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» под №2845, для производства профилактических и диагностических
10 препаратов (см. приложение - удостоверение). Вирус выделен из суспензии клеток селезенки свиньи в 2015 году в частном хозяйстве Владимирской области. Штамм является новым, ранее неизвестным, выделен в Российской Федерации.

Известен аминоктилэтиленимин (АЭЭИ) [Патент РФ №2214276, Инактивированная эмульсионная вакцина против парвовирусной инфекции свиней, МПК А61К39/23,
15 С12N7/00, опубликовано: 20.10.2003 Бюл. №29].

Известен масляный адъювант ВНИИЗЖ (Патент РФ №2236253, Вакцина эмульсионная инактивированная против репродуктивно-респираторного синдрома свиней, МПК А61К39/23, С12N7/00, опубликовано: 20.09.2004, Бюл. №26).

Известен также масляный адъювант ISA 201 VG и ISA 206 VG («The comparison of the
20 efficacy of swine FMD vaccine emulsified with oil adjuvant of ISA 201 VG or ISA 206 VG", Journal of Biosciences and Medicines 01(03):22-25-January 2013 with 203 Rea).

В патентной и научно-технической литературе неизвестны технические решения аналогичные заявляемому, т.е. предложение соответствует критерию изобретения «новизна».

25 Заявленная композиция решает актуальную проблему ветеринарии - профилактики цирковируса свиней, т.е. предложение «промышленно применимо».

В отечественной литературе не известно, что использование штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» для получения вакцины против цирковируса свиней. Нами впервые
30 показано, что сочетанное использование вышеуказанных отличительных признаков, взятых в определенных соотношениях компонентов, увеличивает сроки хранения целевого продукта с сохранением его иммуногенности против цирковируса свиней, что приводит к достижению технического результата. Следовательно, изобретение соответствует критерию «изобретательский уровень».

Изобретение иллюстрируется на следующих примерах:

35 Пример 1. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка Sus scrofa РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка sus scrofa рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом.

40 Для инактивации в полученную композицию добавляют 4% раствор аминоктилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре 35°C в течение 20 часов с периодическим перемешиванием.

К 50 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 50 кг
45 масляного адъюванта ISA 206 VG, получая состав 1 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма

цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	50,00
Масляный адъювант	остальное

5 Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 2. Вирусосодержащий материал готовят из посевной раскладки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре 39°C в течение 22 часов с периодическим перемешиванием

15 К 60 кг полученного инактивированного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 40 кг масляного адъюванта ISA 206 VG, получая состав 2 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

20 Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью	
4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	60,0
Масляный адъювант	остальное

25 Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 3. Вирусосодержащий материал готовят из посевной раскладки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 4% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре 35°C в течение 20 часов с периодическим перемешиванием.

35 К 50 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 50 кг масляного адъюванта ISA 201 VG, получая состав 3 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

40 Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	50,00
Масляный адъювант	остальное

45 Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 4. Вирусосодержащий материал готовят из посевной раскладки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток

почки поросенка *sus scrofa* рк-15/а11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N5/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор

аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре

39°C в течение 22 часов с периодическим перемешиванием.
 К 60 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 40 кг масляного адьюванта ISA 201 VG, получая состав 4 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	60,0
Масляный адьювант	остальное

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 5. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/А11 [Патент РФ №2201966, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/а11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N5/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 4% раствор

аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре

35°C в течение 20 часов с периодическим перемешиванием.
 К 50 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 50 кг масляного адьюванта ВНИИЗЖ, получая состав 5 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	50,00
Масляный адьювант	остальное

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 6. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/А11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/а11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор

аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре

39°C в течение 22 часов с периодическим перемешиванием.
 К 60 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ добавляют 40 кг масляного адьюванта ВНИИЗЖ, получая состав 6 при следующем соотношении

КОМПОНЕНТОВ, мас. %:

5	Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	60,0
	Масляный адъювант	остальное

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

10 Пример 7. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 4% раствор
15 аминоктилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре 35°С в течение 20 часов с периодическим перемешиванием

К 90 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адъюванта
20 ISA 206 VG, взятых в соотношении 1:1, соответственно, добавляют 5,0 кг хитозана, получая состав 7 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

25	Хитозан	5,0
	Смесь инактивированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адъюванта, взятых в соотношении 1:1, соответственно	остальное,

30 Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

35 Пример 8. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор
40 аминоктилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре 39°С в течение 22 часов с периодическим перемешиванием

К 90-95 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адъюванта
45 ISA 206 VG, взятых в соотношении 1,5, соответственно, добавляют 10,0 кг хитозана, получая состав 8 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

45	Хитозан	10,0
	Смесь инактивированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адъюванта, взятых в соотношении 1,5, соответственно	остальное,

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 9. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 4% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре 35°C в течение 20 часов с периодическим перемешиванием К 90 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адьюванта ISA 201 VG, взятых в соотношении 1:1, соответственно, добавляют 5,0 кг хитозана, получая состав 9 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Хитозан	5,0
Смесь инаktivированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адьюванта, взятых в соотношении 1:1, соответственно	остальное,

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 10. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/a11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре 39°C в течение 22 часов с периодическим перемешиванием

К 90-95 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адьюванта ISA 201 VG, взятых в соотношении 1,5, соответственно, добавляют 10,0 кг хитозана, получая состав 10 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Хитозан	10,0
Смесь инаktivированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адьюванта, взятых в соотношении 1,5, соответственно	остальное,

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 11. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/A11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых

клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/а11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 4% раствор аминоксилэтиленимина до конечной концентрации 0,001% при рН 7,6 и температуре

35°С в течение 20 часов с периодическим перемешиванием

К 90 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адьюванта ВНИИЗЖ, взятых в соотношении 1:1, соответственно, добавляют 5,0 кг хитозана, получая состав 11 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

10	Хитозан	5,0
	Смесь инаktivированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адьюванта, взятых в соотношении 1:1, соответственно	
15		остальное,

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 12. Вирусосодержащий материал готовят из посевной расплодки вируса штамма «PCV2/SHBC», выращенного в перевиваемой культуре перевиваемых клеток почки поросенка *Sus scrofa* РК-15/А11 [Патент РФ №2201960, Штамм перевиваемых клеток почки поросенка *sus scrofa* рк-15/а11, используемый для вирусологических исследований, МПК С12N5/06, С12N7/00, опубликовано: 10.04.2003 Бюл. №10] известным способом. Для инактивации к вирусосодержащему материалу добавляют 5% раствор аминоксилэтиленимина до конечной концентрации 0,005% при рН 7,8 и температуре

39°С в течение 22 часов с периодическим перемешиванием.

К 90-95 кг полученного вирусосодержащего материала штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД₅₀/см³ и масляного адьюванта ВНИИЗЖ, взятых в соотношении 1,5, соответственно, добавляют 10,0 кг хитозана, получая состав 12 при следующем соотношении компонентов, мас. %:

35	Хитозан	10,0
	Смесь инаktivированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адьюванта, взятых в соотношении 1,5, соответственно	
40		остальное,

Приготовленная таким образом вакцина представляет собой эмульсию бледно-розового цвета.

Пример 13. Иммуногенную активность полученной вакцины определяли на подсвинках живой массой 20-25 кг 6-8 недельного возраста, свободных от антител к вирусу PCV2. Вакцину вводили по 2,0 см³ внутримышечно в области шеи. Были сформированы 14 групп животных по 10 голов: из них опытных (с первого по двенадцатый номер) - 12 групп, которым вводили вакцины 1-12, полученные по примерам 1-12) и две группы контрольные (контрольная группа 1 - невакцинированные животные, контрольная группа 2 - вакцинированные вакциной-прототипом). У животных до вакцинации и через 21 день после вакцинации были отобраны пробы крови и

исследованы в ИФА набора «ИФА тест-набор для определения антител к Цирковирусу свиней PCV2» («Semi-quantitative ELISA for detection of all antibodies induced by the different Porcine Circovirus type 2 strains») производства «BioChek» (Нидерланды) на наличие специфических антител. Их оценка проводилась по значению величины s/p против
5 цирковируса свиней (см. данные таблицы 1).

Таким образом, полученная вакцина инактивированная эмульсионная из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» является стерильным, безвредным препаратом и обладает высокой иммуногенной активностью. Однократное введение вакцины обеспечивает высокий уровень антител в сыворотке крови у привитых животных
10 (уровень антител в группах опытных животных в 2,3-3,35 раза выше, чем в группе животных, которым вводили известную вакцину). Процент заражения после применения предлагаемой вакцины снижается на 36%.

15

20

25

30

35

40

45

Таблица 1.

Иммуногенная активность вакцины против цирковируса свиней,
изготовленной на основе штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC».

№№ групп подсвинков	Уровень антител		Результаты контрольного заражения вирусом через 29 сут после вакцинации (в количестве голов)
	До вакцинации	После вакцинации на 21 сут	
	величины s/p против цирковируса свиней (в ИФА)	величины s/p против цирковируса свиней (в ИФА)	
1	0,107 (-)	1,981 (+)	0
2	0,207 (-)	1,398 (+)	0
3	0,162(-)	2,026 (+)	1
4	0,203(-)	1,729 (+)	0
5	0,143 (-)	1,672 (+)	0
6	0,167 (-)	1,464 (+)	0
7	0,162(-)	1,426 (+)	0
8	0,205(-)	2,012 (+)	0
9	0,126 (-)	1,892 (+)	0
10	0,172 (-)	2,012 (+)	1
11	0,142(-)	1,728 (+)	0
12	0,206(-)	1,526 (+)	0
контрольная группа 1 (без вакцинации)	0,124 (-)	0,162(-)	10
контрольная группа 2	0,162 (-)	0,603(+)	4

Примечание к таблице 1:

значение s/p в ИФА <0,5 - специфические антитела отсутствуют;

s/p \geq 0,5 - наличие специфических антител.

«+» - положительный результат;

«-» - отрицательный результат.

(57) Формула изобретения

1. Способ получения вакцины против цирковируса свиней, включающий получение вирусодержащего материала из штамма вируса и смешивание его с адьювантом, отличающийся тем, что в качестве вирусодержащего материала вакцина содержит вирусодержащий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием с адьювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адьюванта используют масляный адьювант, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Инактивированный вирусосодержащий материал из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³	50,0-60,0
Масляный адъювант	остальное

5 2. Способ получения вакцины против цирковируса свиней, включающий получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и смешивание его с адъювантом, отличающийся тем, что в качестве вирусосодержащего материала вакцина содержит вирусосодержащий материал из штамма «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью
10 4,0-7,0 lg ТЦИД₅₀/см³, который перед смешиванием с адъювантом инактивируют добавлением 4-5% раствора аминоэтилэтиленимина до конечной концентрации 0,001-0,005% при pH 7,6-7,8 и температуре 35-39°C в течение 20-22 часов с периодическим перемешиванием, а в качестве адъюванта используют масляный адъювант, дополнительно содержит стабилизатор хитозан, при следующем соотношении
15 компонентов, мас. %:

Хитозан	5,0-10,0
Смесь инактивированного вирусосодержащего материала из штамма цирковируса свиней «PCV2/SHBC» с инфекционной активностью 4,0-7,0 lg ТЦИД ₅₀ /см ³ и масляного адъюванта, взятых в соотношении 1:1-1,5 соответственно	остальное

25 3. Способ получения вакцины против цирковируса свиней по пп. 1 и 2, включающий получение вирусосодержащего материала из штамма вируса и адъюванта и его инактивацию, отличающийся тем, что в качестве адъюванта используют масляный адъювант ISA 201 VG, или ISA 206 VG, или масляный адъювант ВНИИЗЖ.

30

35

40

45