



(51) МПК  
*A61K 39/02* (2006.01)  
*C12N 1/02* (2006.01)  
*C12N 1/20* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*A61K 39/02 (2017.08); C12N 1/02 (2017.08); C12N 1/20 (2017.08)*

(21)(22) Заявка: 2016112210, 31.03.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 31.03.2016

Дата регистрации:  
 24.01.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 31.03.2016

(43) Дата публикации заявки: 05.10.2017 Бюл. № 28

(45) Опубликовано: 24.01.2018 Бюл. № 3

Адрес для переписки:

196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,  
 ФГБОУ ВПО СПбГ АВМ, Сафонову Ю.К.

(72) Автор(ы):

Сухинин Александр Александрович (RU),  
 Гришина Валентина Александровна (RU),  
 Герасимов Сергей Вадимович (RU),  
 Макавчик Светлана Анатольевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
 образовательное учреждение высшего  
 образования Санкт-Петербургская  
 государственная академия ветеринарной  
 медицины (ФГБОУ ВО СПбГ АВМ) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: СУХИНИН А.А. и др.  
 Морфологические, культурально-  
 биохимические и иммуногенные свойства  
 возбудителей кампилобактериоза свиней//  
 Вет.практика, 2008; N 2. С. 22. RU 93003275  
 А, 10.01.1997. JP 10127275 А, 19.05.1998.

(54) Способ инактивации возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, иммунологии, микробиологии и ветеринарии и может быть использовано в биотехнологии при производстве инактивированной вакцины против кампилобактериоза КРС. Способ включает накопление колоний возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* путем культивирования на питательной среде, смыв колоний возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* 0,9%-ным раствором NaCl, инактивацию накопленной биомассы возбудителя

кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* инактиватором и отличается тем, что в качестве инактиватора используют теотропин при следующем соотношении компонентов, масс. %: суспензия клеток кампилобактера серогруппы *fetus subspecies fetus* в культуральной среде с концентрацией  $2 \times 10^{10}$  КОЕ\*/см<sup>3</sup> (культура возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus*) 0,5%; 0,9%-ный раствор NaCl 99,2%; теотропин 0,3%. 1 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 39/02* (2006.01)  
*C12N 1/02* (2006.01)  
*C12N 1/20* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 39/02 (2017.08); C12N 1/02 (2017.08); C12N 1/20 (2017.08)*(21)(22) Application: **2016112210, 31.03.2016**(24) Effective date for property rights:  
**31.03.2016**Registration date:  
**24.01.2018**

Priority:

(22) Date of filing: **31.03.2016**(43) Application published: **05.10.2017** Bull. № 28(45) Date of publication: **24.01.2018** Bull. № 3

Mail address:

**196084, Sankt-Peterburg, ul. Chernigovskaya, 5,  
FGBOU VPO SPbG AVM, Safonovu YU.K.**

(72) Inventor(s):

**Sukhinin Aleksandr Aleksandrovich (RU),  
Grishina Valentina Aleksandrovna (RU),  
Gerasimov Sergej Vadimovich (RU),  
Makavchik Svetlana Anatolevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya Sankt-Peterburgskaya  
gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj  
meditsiny (FGBOU VO SPbG AVM) (RU)**(54) **METHOD FOR INACTIVATION OF CATTLE CAMPILOBACTERIOSIS PATHOGEN**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: method involves accumulation of *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* cattle campilobacteriosis pathogen colonies by culturing on a nutrient medium, flushing of the *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* campilobacteriosis pathogen colonies with 0.9% NaCl solution, inactivation of the accumulated biomass of the *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* campilobacteriosis pathogen by an inactivator and differs by teotropine application as an

inactivator, with the following ratio of components, wt %: suspension of campylobacter cells of *fetus* subspecies *fetus* serogroup in a culture medium at a concentration of  $2 \times 10^{10}$  CFU\*/cm<sup>3</sup> (culture of the *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* cattle campilobacteriosis pathogen) - 0.5%; 0.9% NaCl solution - 99.2%; teotropin - 0.3%.

EFFECT: increased activity of the compound.  
1 tbl

C 2  
2 6 4 2 2 4 9  
R UR U  
2 6 4 2 2 4 9  
C 2

Изобретение относится к биотехнологии, иммунологии, микробиологии и ветеринарии и может быть использовано в биотехнологии при производстве инактивированной вакцины против кампилобактериоза КРС.

Известен способ инактивации возбудителя *Campylobacter fetus subspecies fetus* с использованием формалина в качестве инактиватора в концентрации 0,5% к биомассе возбудителя [«Современные проблемы профилактики и терапии заразных болезней сельскохозяйственных животных и птиц», Огородникова, Гришина, Горovenko, Киселева, Иванова. Опыт сравнительного изучения иммуногенности противокампилобактериозных вакцин на морских свинках, Ленинград, 1984, МСХ СССР ЛВИ, сборник научных трудов, стр. 58-59].

Недостатком известного инактиватора (формалина) являются токсические свойства, провоцирующие аллергические и воспалительные реакции в организме животного. Кроме того, требует защиты дыхательных путей и кожных покровов специалиста при работе с ним.

Техническим результатом изобретения является использование инактиватора теотропина (<http://www.findpatent.ru/patent/212/2123337.html>) в биотехнологии при производстве инактивированной вакцины против кампилобактериоза КРС.

Технический результат достигается тем, что в качестве инактивирующего вещества для *Campylobacter fetus subspecies fetus* использовался тиотропин при следующем соотношении компонентов, масс. %:

суспензия клеток кампилобактера серогруппы *fetus subspecies fetus* в культуральной среде с концентрацией  $2 \times 10^{10}$  КОЕ\*/см<sup>3</sup> (культура возбудителя *Campylobacter fetus subspecies fetus*) - 0,5%;

0,9%-ный раствор NaCl - 99,2%;

теотропин (химическое название вещества – тетраметилдиэтилентетраамин, эмпирическая формула вещества – C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>) - 0,3%.

Технологический процесс включает отдельные стадии выделения и накопления производственного штамма *Campylobacter fetus subspecies fetus* и соединения накопленной культуры кампилобактера с инактивирующим его агентом в оптимальном соотношении.

Производственный штамм *Campylobacter fetus sbsp. fetus* (суспензия клеток с концентрацией  $2 \times 10^{10}$  КОЕ\*/см<sup>3</sup>. Концентрацию микробных клеток определяют при помощи стандарта мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича), выделяют, поддерживают и культивируют на среде ПЖА в микроаэробных условиях в термостате при 37°C в течение 2 суток. После проверяют принадлежность возбудителя по его культурально-морфологическим и биохимическим свойствам.

Накопление колоний возбудителя осуществляют путем посева возбудителя с ПЖА на фабричную питательную среду Himedia для поддержки и культивирования возбудителей кампилобактериоза и культивированием возбудителя на указанной среде в микроаэробных условиях в термостате при 37°C в течение 2 суток. Смыв колоний возбудителя со среды проводится стерильным 0,9%-ным раствором натрия хлорида в стерильные флаконы по 100 мл.

Опыт по инактивации проводится с теотропином (0,3 гр. сухого вещества на 100 мл биомассы), в качестве контроля берется формалин (0,5 мл 100%-ного раствора). Инактивация проходит в бескислородных условиях при 37°C в течение 2 суток.

Контроль инактивации осуществляют путем посева экспериментальной массы на ПЖА, а также микроскопией инактивированных клеток (табл. 1).

Таблица 1. Опыт по контролю инактивации возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота

Инактиватор	Формалин	Формалин	Формалин	Формалин	Тиотропин	Тиотропин	Тиотропин
Доза, % (гр на 100 мл биомассы)	0,2	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,4
Наличие микробного роста на среде ПЖА (опыт на 10 пробирках с ПЖА)	нал. поверхность среды в виде серовато-голубоватого диска (10 пробирок с ПЖА из 10)	нал. поверхность среды в виде серовато-голубоватого диска (8 пробирок с ПЖА из 10, в 2 пробирках микробного роста нет)	нал. поверхность среды в виде серовато-голубоватого диска (3 пробирки с ПЖА из 10, в 7 пробирках микробного роста нет)	микробного роста нет (10 пробирок с ПЖА из 10)	нал. поверхность среды в виде серовато-голубоватого диска (4 пробирки с ПЖА из 10, в 6 пробирках микробного роста нет)	микробного роста нет (10 пробирок с ПЖА из 10)	микробного роста нет (10 пробирок с ПЖА из 10)
Наличие микробного роста на питательной среде Himedia для культивирования кампилобактеров (опыт на 5 чашках Петри)	на поверхности среды в виде колоний, характерных <i>Сtrpb.fetus subsp.fetus</i> (5 чашек Петри со средой из 5)	на поверхности среды в виде колоний, характерных <i>Сtrpb.fetus subsp.fetus</i> (4 чашки Петри со средой из 5, в 1 чашке Петри микробного роста нет)	на поверхности среды в виде колоний, характерных <i>Сtrpb.fetus subsp.fetus</i> (2 чашки Петри со средой из 5, в 3 чашках Петри микробного роста нет)	микробного роста нет (5 чашек Петри со средой из 5)	на поверхности среды в виде колоний, характерных <i>Сtrpb.fetus subsp.fetus</i> (3 чашки Петри со средой из 5, в 2 чашках Петри микробного роста нет)	микробного роста нет (5 чашек Петри со средой из 5)	микробного роста нет (5 чашек Петри со средой из 5)
Результат инактивации <i>Сtrpb.fetus subsp.fetus</i> в процентах	Отрицательная (0 %)	Отрицательная (20 %)	Отрицательная (65 %)	Положительная (100 %)	Отрицательная (50 %)	Положительная (100 %)	Положительная (100 %)

Установлено, что препарат тиотропин обеспечивает 100%-ную инактивацию штамма *Campylobacter fetus subspecies fetus* в концентрации от 0,3% по отношению к биомассе возбудителя (табл. 1).

Предложенный способ инактивации штамма кампилобактера крупного рогатого скота *Campylobacter fetus subspecies fetus* путем соединения с теотропином показателен и эффективен, практически более прост, безопасен и целесообразен, чем инактивация соединениями формалина.

Для сравнения - для инактивации возбудителя формалином необходимо внести не менее 0,5% компонента относительно биомассы возбудителя *Campylobacter fetus subspecies fetus*, для 100%-ной инактивации штамма тиотропином хватает 0,3%-ной концентрации. Кроме того, стоит отметить, что теотропин не вызывает у человека раздражения дыхательных путей при переводе сухого его вещества в жидкое агрегатное состояние (не выделяет токсичных паров).

Изобретение может быть использовано в биотехнологии при производстве инактивированной вакцины против кампилобактериоза крупного рогатого скота. Предложенный способ инактивации может применяться в деятельности лабораторий и в научной сфере.

#### (57) Формула изобретения

Способ инактивации возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота (КРС) *Campylobacter fetus subspecies fetus*, включающий накопление колоний возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* путем культивирования на питательной среде, смыв колоний возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* 0,9%-ным раствором NaCl, инактивацию накопленной биомассы возбудителя кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus subspecies fetus* инактиватором, отличающийся тем, что в качестве инактиватора используют теотропин при следующем соотношении компонентов, масс. %:

суспензия клеток кампилобактера серогруппы fetus  
 subspecies fetus в культуральной среде с концентрацией  
 $2 \times 10^{10}$  КОЕ\*/см<sup>3</sup> (культура возбудителя  
 кампилобактериоза КРС *Campylobacter fetus* subspecies  
*fetus*)

0,5%

5

0,9%-ный раствор NaCl  
 теотропин

99,2%

0,3%

10

15

20

25

30

35

40

45