



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 013 445** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁵ **C 12 N 1/14, A 61 K 39/02**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 92015463/13, 30.12.1992

(46) Дата публикации: 30.05.1994

(71) Заявитель:

Всероссийский государственный
научно-исследовательский институт контроля,
стандартизации и сертификации ветеринарных
препаратов

(72) Изобретатель: Яблочник Л.М.,

Панин А.Н., Летагин К.П., Саркисов К.А.

(73) Патентообладатель:

Всероссийский государственный
научно-исследовательский институт контроля,
стандартизации и сертификации ветеринарных
препаратов

(54) **ШТАММ ГРИБА TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ ЖИВОТНЫХ**

(57) Реферат:

Использование: биотехнология, штамм
Trichophyton mentagrophytes, вакцина против
трихофитии животных. Сущность
изобретения: получен новый штамм
Trichophyton mentagrophytes N 27,
обладающий высоким уровнем спорогенеза,
однородностью состава популяции, низкой
остаточной вирулентностью и тем самым
повышающий иммуногенную активность

биопрепарата против трихофитии животных.
Штамм Tr. mentagrophytes депонирован в
коллекции микроорганизмов ВГНКИ
ветеринарных препаратов под N 27. Вакцина,
изготовленная из шт. Tr. mentagrophytes N 27
обеспечивает крупно рогатому скоту, овцам,
козам и кроликам образование стойкого
напряженного иммунитета спустя 20 - 30 дн.
после применения. Продолжительность
иммунитета не менее 5 лет. 2 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 013 445** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁵ **C 12 N 1/14, A 61 K 39/02**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 92015463/13, 30.12.1992

(46) Date of publication: 30.05.1994

(71) Applicant:
VSEROSIJSKIJ GOSUDARSTVENNYJ
NAUCHNO-ISSLEDOVATEL'SKIJ INSTITUT
KONTROLJA, STANDARTIZATSII I
SERTIFIKATSII VETERINARNYKH
PREPARATOV

(72) Inventor: JABLOCHNIK L.M.,
PANIN A.N., LETJAGIN K.P., SARKISOV K.A.

(73) Proprietor:
VSEROSIJSKIJ GOSUDARSTVENNYJ
NAUCHNO-ISSLEDOVATEL'SKIJ INSTITUT
KONTROLJA, STANDARTIZATSII I
SERTIFIKATSII VETERINARNYKH
PREPARATOV

(54) STRAIN OF TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES USED FOR PREPARATION OF ANIMAL
TRICHOPHYTOSIS VACCINE

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology. SUBSTANCE: new strain of trichophyton mentagrophytes No. 27 is produced which offers high level of sporogenesis, population homogeneity, decreased residual virulence to increase immunogenic activity of preparation against animal trichophytosis. Offered strain is

deposited in collection of microorganism of the VGNKL research institute of veterinary preparation under No 27. EFFECT: vaccine prepared from offered strain ensures stable strong immunity after 20-30 days after application for cattle, sheep, goats and rabbits; immunity duration is not less than 5 years. 2 tbl

Изобретение относится к ветеринарной микологии, в частности к получению штамма *Trichophyton mentagrophytes*, используемого для изготовления вакцины против трихофитии животных.

Известен штамм *Trichophyton mentagrophytes* N 135/1963, используемый для изготовления вакцины против трихофитии животных, в частности пушных зверей.

Данный штамм выделен от больной трихофитией лисицы в 1963 г и используется длительно для изготовления вакцины Ментавак. Вследствие снижения иммуногенных свойств используемого штамма при производстве вакцины ее эффективность снизилась. Кроме того, вакцина предназначена только для пушных зверей и кроликов и не рекомендовано ее применение другим видам животных.

Целью изобретения является получение штамма гриба *Trichophyton mentagrophytes*, обладающего высоким уровнем спорогенеза и иммуногенной активности, однородностью состава популяции и возможностью изготовления вакцины против трихофитии разных видов животных.

Штамм гриба *Trichophyton mentagrophytes* получен из эпизоотического, выделенного от белой мыши, методом ступенчатого отбора по признаку спорообразования наиболее быстрорастущих колоний с активным накоплением микроконидий. Штамм *Trichophyton mentagrophytes* депонирован в коллекции Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов и имеет регистрационный N 27.

Штамм *Trichophyton mentagrophytes* ВГНКИ N 27 характеризуется следующими признаками и свойствами.

Морфологические признаки. Мицелий не окрашен, ровный, ветвистый, септированный, может распадаться на фрагменты, терминальные гифы не всегда образуют спирали (обычно 3-5 завитков), диаметр мицелия 2,0-3,0 мкм. Микроконидии многочисленные, округлые, грушевидные, удлинённые, близкие к палочковидной форме, располагаются на поверхности мицелия гроздьями, чаще отдельно, размер 1,5-5,2 мкм. Макроконидии единичные, количество перегородок 1-5, чаще 1-2, размер 10-30 x 3-8 мкм. В культурах 20-30-дневного возраста могут наблюдаться хламидоспоры, округлой формы с двуконтурной оболочкой, всегда единичные, 3-5 мкм в диаметре. Артроспоры возникают на отдельных участках мицелия, тонкостенные, по форме напоминают овальные или палочковидные микроконидии, размером 3-9 мкм в диаметре.

Культуральные свойства. На сусло-агаре растет в виде плоской, белой, бархатистой колонии с незначительным возвышением в центре, растущий край ровный, реверс красновато-коричневый, диаметр колонии 50-90 мм (15-20-дневная культура).

На агаре Сабуро растет в виде плоской, белой, бархатистой с кремовым оттенком колонии с небольшим возвышением в центре, растущий край ровный, реверс бледно-желтый, иногда более темный в центре, диаметр колонии 50-90 мм (15-20-дневная культура). На среде Геннеберга растет в виде белой, бархатистой,

радиально складчатой колонии, растущий край паутинистый, реверс красновато-фиолетовый. Спорообразование: максимальный уровень спорогенеза на сусло-агаре 198,4-259,2 млн/см³.

Вирулентные свойства. При внутримышечном введении культуры штамма *Trichophyton mentagrophytes* N 27 у морских свинок, кроликов, овец, коз, телят, спустя 2-3 недели на месте инъекции развивается специфический локализованный поверхностный трихофитиный очажок диаметром 2,0-2,5 см, который самопроизвольно излечивается в течение 15-20 дней. Микологически выделить возбудитель не удается. При нанесении культуры штамма неиммунным животным на скарифицированную кожу в дозе 0,25 млн/см³ микроконидий на месте аппликации развивается в течение 10-20 дней типичный трихофитиный очаг, при этом у животных отмечают повышение температуры на месте введения, припухлость и общее повышение температуры тела. Выделенный из патологического материала штамм по своим свойствам соответствует исходному.

Антигенные свойства. На введение культуры штамма в организме телят, овец, кроликов образуются специфические агглютинины в титрах 1: 40-1: 1280.

Иммуногенные свойства. Введение вакцины против трихофитии животных из штамма *Trichophyton mentagrophytes* N 27 крупному рогатому скоту, овцам, козам, кроликам индуцирует у 98-100% животных спустя 20-30 дней образование стойкого напряженного иммунитета. Продолжительность иммунитета не менее 5 лет (срок наблюдения).

Пример 1. Штамм *Trichophyton mentagrophytes* N 27 ВГНКИ используют для изготовления вакцины против трихофитии животных. Для этого берут приготовленную 12-20-дневную взвесь культуры штамма гриба *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ N 27, которой засевают матрицы с сусло-агаром и культивируют в термостате при 26-28°C в течение 12-20 дней. Грибную массу снимают с поверхности питательной среды специальными скребками в банки, соблюдая условия стерильности. Полученную массу гомогенизируют в коллоидной мельнице, добавляя стерильную воду и антибиотики из расчета 100 ЕД на 1 см³. После проверки грибной суспензии на чистоту (при наличии посторонней микрофлоры автоклавируют) тщательно смешивают с равным количеством сахарозо-желатинового стабилизатора, разливают во флаконы и лиофильно высушивают. Готовый препарат представляет собой высушенную пористую массу в виде серой таблетки, сохраняющей свои иммуногенные свойства в течение от 12 до 18 месяцев. Вакцина высокоэффективна против трихофитии сельскохозяйственных животных, предохраняет от заражения и проявления клинических признаков заболевания.

Пример 2. Приготовленную по примеру 1 вакцину против трихофитии животных из штамма *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ N 27 (ТМ-27) используют для иммунизации кроликов. Кроликов вакцинируют вакциной с концентрацией микроконидий 5-20 млн/см³, которую вводят внутримышечно двукратно в объеме 1 см. В качестве контроля

для вакцинации кроликов используют известную вакцину из штамма *Trichophyton mentagrophytes* N 135 (TM-135). Через 30 дней кроликов заражают подкожно вирулентными культурами штаммов *Tr. mentagrophytes* TM-251 и TM-18. В течение 25 дней учитывают результаты заражения.

Результаты экспериментального заражения представлены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что вакцина из штамма *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ N 27 превосходит по иммуногенной активности известную из штамма *Tr. mentagrophytes* N 135 и создает у кроликов при концентрации микроконидий 10-20 млн/см³ напряженный иммунитет. Все контрольные кролики, неиммунизированные, заболели.

П р и м е р 3. Приготовленную по примеру 1 вакцину против трихофитии животных из штамма *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ N 27 (TM-27) с концентрацией микроконидий 20 млн/см³ используют для иммунизации телят. Вакцину животным 1-2-месячного возраста применяют внутримышечно двукратно в дозе 2 см³. В качестве контроля испытывают аналогично известную вакцину из штамма *Tr. mentagrophytes* N 135 (TM-135). Через 35 дней после второй иммунизации телят заражают вирулентными культурами. *Tr. mentagrophytes* N 251 (TM-251) и *Tr. sarkisovii* N 724 (TC-724).

Результаты экспериментального заражения телят представлены в табл. 2.

Из табл. 2 следует что вакцина из штамма

Tr. mentagrophytes ВГНКИ N 27 индуцирует у телят образование надежного иммунитета.

П р и м е р 4. Для иммунизации телят 1-2-месячного возраста используют вакцину из штамма *Tr. mentagrophytes* ВГНКИ N 27 с концентрацией микроконидий 10 млн/см³, которую вводят животным внутримышечно двукратно в дозе 2 см³. Аналогично примеру 3 проводят заражение животных культурами вирулентных штаммов. Через 3, 6, 9 и 12 месяцев после иммунизации все животные не заболели, что говорит об эффективности используемой дозы при концентрации микроконидий 10 млн/см³. Проведенные испытания показали, что полученный штамм *Trichophyton mentagrophytes* ВГНКИ N 27 обладает высокоиммуногенной активностью, стабильностью, низкой остаточной вирулентностью, что позволяет рекомендовать его для изготовления эффективного биопрепарата против трихофитии животных.

Экономический эффект от использования штамма для получения вакцины против трихофитии животных будет складываться за счет повышения эффективности вакцины, снижения затрат на проведение профилактических мероприятий.

Формула изобретения:

Штамм гриба *Trichophyton mentagrophytes* ВГНКИ N 27-ДЕП, используемый для изготовления вакцины против трихофитии животных.

Таблица 1

№	Количество животных в группе	Биопрепарат, используемый для иммунизации	Концентрация микрoконидий 1 см3 биопрепарата	Количество иммунизированных животных	Экспериментальное заражение	
					TM-135	TM-18
1	5	TM-27	5 млн	5	1	1
2	5	TM-27	10 млн	5	0	0
3	5	TM-27	20 млн	5	0	0
4	5	TM-135	5 млн	5	2	3
5	5	Контроль 1 TM-135	10 млн	5	1	2
6	5	Контроль 2 TM-135	20 млн	5	0	1
7	3	Контроль 3 Контроль 4	-	-	3	3

Таблица 2

№ групп	Количество животных в группе	Биопрепарат, используемый для иммунизации	Иммунизированные животные, голов	Экспериментально заражено	
				TM-251	TM-724
1	9	TM-27	9	0	0
2	7	TM-135	7	2	2
3	2	Контроль 1 Контроль 2	-	2	2