

УДК 619:615.371:619:579.842.11:619:579.841.11:619:579.862.1:636.4.087.8

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЭШЕРИХИОЗА, ПСЕВДОМОНОЗА И ЭНТЕРОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ ПОРОСЯТ

¹А.В. Скориков, канд. биол. наук

²Е.В. Сусский, д-р биол. наук

²С.Н. Ярцев, канд. вет. наук

¹Н.Ю. Басова, д-р вет. наук

³А.Ф. Дмитриев, д-р вет. наук, профессор

¹Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт

²Федеральное казенное учреждение «Армавирская биофабрика»

³Ставропольский государственный аграрный университет

E-mail:knivi@list.ru

Ключевые слова: свиньи, эшерихиоз, псевдомоноз, энтерококковая инфекция, вакцина, микроорганизмы, технология, инаktivация, формалин, гидрат окиси алюминия.

Реферат. *Представлены результаты разработки технологии изготовления инаktivированной вакцины против эшерихиоза, псевдомоноза и энтерококковой инфекции поросят. Подобраны штаммы микроорганизмов, разработана схема культивирования и инаktivации микроорганизмов, определено оптимальное соотношение антигенов и составляющих компонентов в процессе изготовления вакцины.*

PRODUCTION TECHNOLOGY OF VACCINE AGAINST ENSHERICHIOSIS, PSEUDOMONOSIS AND ENTEROTOCOCCAL INFECTION OF PIGS

¹Scorikov A.V., Candidate of Biological Sciences

²Sussky E.V., Doctor of Biological Sciences

²Yarcev S.N., Candidate of Veterinary Sciences

¹Basova N.Y., Doctor of Veterinary Science

³Dmitriev A.F., Doctor of Veterinary Sciences, Professor

¹Krasnodar Scientific Research Veterinary Institute

²Federal State Institution "Armavirskaya Biofabrika"

³Stavropol State Agrarian University

Key words: pigs, escherichiosis, pseudomonas, enterococcal infection, vaccine, microorganisms, technology, inactivation, formalin, aluminum oxide hydrate.

Abstract. *The results of the development of inactivated vaccine production technology against escherichiosis, pseudomonosis and enterococcal infection of piglets are presented. The strains of microorganisms were selected, the scheme of cultivation and inactivation of microorganisms was developed, the optimal ratio of antigens and constituents in the vaccine manufacturing process was determined.*

Инфекционные болезни молодняка свиней бактериальной природы, наряду с заболеваниями вызываемыми рота и коронавирусами являются одной из основных проблем свиноводства, нанося данной отрасли значительный экономический ущерб [1-3]. Поэтому разработка средств специфической профилактики данных заболеваний является одним из перспективных направлений ветеринарной науки. Коммерческие вакцины, выпускаемые биологической промышленностью, несмотря на свою надежность, не всегда эффективны из-за различий в антигенной структуре, растущих процессов мутации и вариабельности штаммов микроорганизмов [3-6].

Значительное место в этиологической структуре инфекционной патологии молодняка свиней занимают различные штаммы кишечной палочки, энтерококки и псевдомонады, которые играют значительную роль в возникновении заболеваний не только среди животных, но и людей [1,7-9].

В Российской Федерации разработаны и используются вакцины для профилактики эшерихиоза, энтерококкоза и псевдомоноза животных, в том числе свиней [10, 2, 4], но вакцину, имеющую в своем составе штаммы трех вышеперечисленных микроорганизмов, с целью профилактики данных инфекций в свиноводстве биологическая промышленность РФ не выпускает.

С учетом нозологического профиля и этиологической структуры возбудителей эшерихиоза, псевдомоноза и энтерококковой инфекции поросят, циркулирующих на свиноводческих предприятиях в ряде субъектов ЮФО, в том числе в Краснодарском крае, нами была проведена работа по подбору штаммов микроорганизмов, вызывающих вышеперечисленные заболевания, с целью разработки вакцины.

Для использования в качестве антигенов при разработке технологии изготовления инактивированной вакцины нами были использованы штаммы *E.coli* серологических групп 08, 09, 078, 0138, 0139, 0141, 0147, 0149 и адгезивных антигенов K-88, K-99, 987P, F-41; *St.faecalis* штаммов №13, 356, 345, «Соколово», «Константиновский»; штаммов *P.aeruginosa* серогрупп 01, 03, 04, 011, 019.

Вышеперечисленные штаммы микроорганизмов были выделены нами из биологического материала от заболевших и павших поросят-сосунов и молодняка свиней различных половозрастных групп из хозяйств Краснодарского края при проведении мониторинга и лабораторных исследований в ГУ Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория и ГНУ Краснодарский НИВИ.

На основании проведенного изучения биологических свойств микроорганизмов для конструирования вакцины были подобраны промышленные штаммы кишечной палочки и энтеро- и стрептококков, совпавших по своим культурально-морфологическим свойствам с выделенными.

Вышеперечисленные выделенные штаммы синегнойной палочки нами были дополнительно исследованы в ФГБУ ВГНКИ, депонированы во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов и использованы для включения в качестве антигенного компонента изготавливаемой вакцины.

Изготовление вакцины производят по технологической схеме включающий следующие основные технологические процессы: приготовление питательной среды, проверка производственных штаммов, приготовление матровых расплодок, получение псевдомонозного, энтерококкового и эшерихиозного компонентов вакцины, культивирование микроорганизмов, составление серий вакцины, розлив вакцины во флаконы, укупорка флаконов, внутри цеховой контроль, контроль ОБТК, этикировка и маркировка готовой продукции и направление ее на склад (рисунок).

Производственные и контрольные штаммы культивируют на бульоне Хоттингера, хранение культур производят на полужидком агаре Хоттингера и в лиофилизированном состоянии.

Химические показатели после полного ферментативного расщепления основного перевара Хоттингера составляют: общего азота – 100-1200, аминного азота – 700-900 мг%. В бульоне Хоттингера для культивирования эшерихий и псевдомонад содержание аминного азота составляет 175-200, стрептококков – 220-250 мг %. В триптическом перевареказе и на содержание аминного азота составляет 750-900, триптофана – 200-300 мг%, рН 6,8-7,1, рН в полужидком мясопетонном агаре 7,4-7,6.



Рис. 1. Схема технологического процесса изготовления вакцины.

Работу по получению Masterseed штаммов проводят специалисты ОБТК предприятия в следующем порядке:

- из лиофилизированной культуры путём последовательного пересева на МПБ производят культивирование бактериальной массы, проверяют её по морфологическим, культуральным, ферментативным, протеолитическим свойствам и подвергают лиофилизации. Полученный материал подвергли финальной проверке, а затем отправляли на хранение в течение 5 лет при температуре не ниже минус 40° С;

- ответственный микробиолог по изготовлению вакцины проводит работы по проверке морфологических, культуральных, серологических, ферментативных свойств штаммов.

Культуры производственных штаммов, отвечающие необходимым требованиям, используют для изготовления матриксных расплодок: их рассеивают в чашки Петри на МПА и выращивают 16-18 ч. при температуре (37±0,5) °С, просматривают под микроскопом при увеличении 16-56 раз, отбирают 3-5 типичных в S-форме колоний, пересеивают на полужидкий МПА, МПБ и скошенный МПА и выращивают 16-18 ч при (37±0,5) °С. Выросшие в полужидком агаре культуры расфасовывают в пастеровские пипетки или ампулы и запаивают. Запаиваемые пипетки, ампулы (Productionseed) отправляют на хранение в соответствии с НД на штаммы при температуре от 2°С до 8°С. В последующем используют одну пипетку для каждой матриксной расплодки.

Для определения морфологических свойств используют метод микроскопии (МБ 37) фиксированных, окрашенных по Граму клеток культуры согласно СОП «Приготовление, окраска культуры микроорганизмов по методу Грама» и СОП «Микроскопия окрашенных мазков».

Производственные штаммы *Pseudomonas aeruginosa* отвечают следующим требованиям:

- морфологические свойства:

- в мазках из бульона и агара – грамотрицательные палочки, спор и капсул не образуют, подвижные. Хорошо растут при 37-38°С на МПБ и МПА, бульоне и агаре Хоттингера и Мартена (рН 7,2-7,4);

- культуральные свойства:

- все штаммы продуцируют слизь, вследствие чего через 48 ч культивирования культур штаммов жидкие питательные среды приобретают слизистую консистенцию. На плотных питательных средах все штаммы образуют круглые, разной величины колонии сероватого цвета со слегка вогнутым центром (S-форма), вокруг которых за счёт выхода в питательную среду пиоцианина образуется пигментированная зона;

- ферментативные свойства:

- на среде Гисса ферментируют без образования газа глюкозу, разжижают желатину, пептонизируют молоко, обладают каталазной активностью;

- вирулентные свойства:

иммунизирующая доза культур всех серотипов для морских свинок массой 300-350 г составляет 0,063-0,125 млрд микробных клеток суточной суспензии.

Производственные штаммы *энтерококков* имеют следующие характеристики:

– морфологические свойства:

грамположительные кокки, расположенные попарно или цепочками различной длины, штаммы *Streptococcus faecalis* 13, 345, 356, «Соколово», «Константиновский»;

– культуральные свойства:

на казеиново-дрожжевом агаре или агаре Хоттингера образуют колонии в S-форме, гладкие, розинчатые с ровными краями; на полужидком агаре растут в виде белых тяжей, пронизывающих питательную среду; в казеиново-дрожжевом бульоне или бульоне Хоттингера дают интенсивное помутнение.

– ферментативные свойства:

производственные штаммы ферментировали с образованием кислоты: глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, маннит, сорбит; не ферментируют раффинозу, арабинозу, дульцит, ксилозу.

Вирулентные свойства.

штаммы энтерококков вызывали гибель белых мышей массой 13-14 г после внутрибрюшного введения не менее 3 млрд/см³ 15-20 часовой культуры. Срок наблюдения за подопытными мышами составлял 10 суток.

Производственные штаммы эшерихий имели следующие характеристики:

– морфологические свойства: представляют собой короткие и средние грамотрицательные палочки с закруглёнными концами без спор и капсул с различной степенью подвижности. Подвижность *E.coli* определяют по характеру роста в полужидком агаре, в котором подвижные штаммы характеризуются диффузным ростом;

– культуральные свойства: эшерихии хорошо растут на обычных питательных средах (МПБ, МПА, полужидком МПА), и гидролизатных (бульон и агар на основе триптического-Хоттингера перевара с содержанием аминного азота 500-600 мг%). На МПБ вызывают равномерное помутнение среды, небольшой, легко разбивающийся осадок и пристеночное кольцо. На МПА через 16 - 18 ч эшерихии образуют гладкие, выпуклые, круглые с ровными краями колонии в S-форме, на среде Эндо – гладкие, круглые с ровными краями, малинового цвета с металлическим блеском. Колонии О и R-форм (изрезанные края, плоские, шероховатые) для работы не используют. Для исключения из производства культур в О и R- формах ставят пробы кипячения. Для этого 20-24 часовую агаровую культуру смывают стерильным физиологическим раствором, устанавливают концентрацию 1-2 млрд микробных клеток в 1 см³ по стандарту мутности ВГНКИ, прогревали в водяной бане при температуре 100 °С в течение часа. После прогревания культуры в S-форме представляют собой равномерную взвесь, культуры в О и R- формах выпадают в осадок в виде разбивающегося на хлопья и комочки «зонтика» на дне пробирки. Учет реакции производят через 24 ч после выдержки при температуре 4-6 °С.

– ферментативные свойства: производственные штаммы эшерихий ферментируют глюкозу, лактозу, маннит, сорбит, ксилозу, арабинозу; не постоянно – сахарозу, раффинозу, дульцит;

– протеолитические свойства: эшерихии свертывают молоко и не разжижают желатину. Большинство эшерихий образуют индол и не образуют сероводород;

– антигенная структура: серогрупповую принадлежность эшерихий проверяют в реакции агглютинации с изготавливаемыми биологической промышленностью агглютинирующими О-копи сыворотками:

группа: 08, 09, 078, 0147;

группа: 0138, 0139, 0149;

группа: 0141.

Реакцию агглютинации ставят в соответствии с наставлением по применению агглютинирующих О-копи сывороток для идентификации энтеропатогенных типов кишечной палочки.

Наличие адгезивных антигенов K88, K99, 987P, F41 у производственных штаммов эшерихий устанавливают в реакции агглютинации на стекле с агглютинирующими эшерихиозными сыворотками к данным адгезивным антигенам в соответствии с наставлением по их применению.

Получение расплодки псевдомонозной культуры производственного штамма во флаконах. Для получения матровых расплодок *Pseudomonas aeruginosa* по 0,5 см³ культуры с полужидкого агара засевают во флаконы объемом 200 см³, содержащие по 80-100 см³ бульона Хоттингера. Одновременно культуру засевают в пробирки на МПА и МПБ и культивируют 10-14 ч при температуре (37±1) °С. Выросшие культуры проверяли на чистоту роста путем микроскопии мазков, окрашенных по Граму, на специфичность с монорецепторными сыворотками и ферментативные свойства – высевом на короткий цветной ряд.

Получение расплодки псевдомонозной культуры производственных штаммов в бутылках. Проверяемую культуру засевают из флакона в количестве 20-30 см³ в 10-литровую бутылку с 4-5 дм³ бульона Хоттингера или 20-литровый баллон, содержащий 10-12 л бульона Хоттингера, выращивали в течение 10-12 ч при (37±1) °С и используют в качестве матровой расплодки.

Матровую расплодку перед посевом в реактор проверяют на чистоту микроскопией мазков, окрашенных по Граму, и высевом на среду Эндо или Плоскирева.

Получение расплодки культуры энтерококков производственных штаммов во флаконах. Производственные штаммы энтерококков из ампул или запаянных пипеток для приготовления матриксной расплодки засевают в пробирки с 4-5 см³ питательной среды. Посевы культивируют при (37±1) °С 6-8 ч. Для контроля на чистоту роста одновременно с посевом в пробирки культуры засевают на чашки Петри с агаром Хоттингера. Посевы культивируют при (37±0,5) °С 16-18 часов. По окончании выращивания визуально оценивают морфологию колоний и чистоту роста культуры.

Выращенные культуры энтерококков переносят во флаконы с 100-150 см³ питательной среды. Одновременно культуру засевают в пробирки с питательными средами: МПА, МПБ, МППБ, культивируют 6-8 ч при температуре (37±1) °С. Перед посевом во флаконы контролируют чистоту роста культур микроскопией мазков, окрашенных по Граму.

Получение расплодки культуры энтерококков производственных штаммов в бутылках. Культуры энтерококков из флаконов засевают в 10-20-литровые бутылки, содержащие 10-12 л питательной среды из расчета 3-7 % к её объему. Культивируют в течение 16-18 часов при (37±1) °С. Для контроля на чистоту роста одновременно с посевом в бутылки культуры засевают в пробирки с питательными средами: МПА, МПБ, МППБ, на чашки Петри с агаром Хоттингера. Посевы культивируют 16-18 ч при (37±1) °С. По окончании выращивания визуально оценивают морфологию колоний и чистоту роста культуры микроскопией.

Получение расплодки культуры эшерихий производственных штаммов во флаконах. Для получения матровых расплодок эшерихий 1-2 см³ каждого штамма с полужидкого агара засевают во флаконы объемом 200 см³, содержащие по 80-100 см³ бульона Хоттингера. Одновременно культуру по 0,1 см³ засевают в пробирки на МПА и МПБ для проверки чистоты. Посевы культивируют 8-10 часов при температуре (37±1) °С. Выросшие культуры проверяют на чистоту роста визуально и путем микроскопии мазков, окрашенных по Граму.

Получение расплодки культуры эшерихий производственных штаммов в бутылках. Чистые культуры по отдельности засевают из флаконов в количестве 50-70 см³ в 20-литровые баллоны с 5-6 л бульона Хоттингера. Параллельно вновь производят высеивание на МПА, МПБ для контроля чистоты роста. Выращивают в течение 10-12 ч при (37±1) °С, периодически встряхивая.

Матровую расплодку перед посевом в реактор проверяют на чистоту роста макроскопически, микроскопией мазков, окрашенных по Граму, и высевом на среду Эндо.

Получение псевдомонозного компонента вакцины.

Засев матричной культуры в реактор и культивирование. Культуры *Pseudomonasa eruginosa* засевают в реактор в количестве 5-10 % к объему засеваемой питательной среды выращивают 10 - 12 ч при (37 ± 1) °С при непрерывной аэрации. Через каждые 2 ч культивирования из реактора берут пробы для определения концентрации, чистоты культуры и pH.

Для улучшения роста микробов и снижения pH при повышении его до 7,6-7,8 добавляют каждые 2 ч стерильный 40 %-й раствор глюкозы.

Выращивание прекращают в конце экспоненциальной фазы роста, когда концентрация микробов больше не поднимается.

По окончании культивирования определяют концентрацию микробных тел, pH и чистоту роста культуры микроскопией мазков, окрашенных по Граму, высевом на дифференциальную среду, типируют выращенную культуру с монорецепторными псевдомонозными сыворотками.

Полученную в реакторе бактериальную массу доводят до концентрации 6 млрд/см³ стерильным физраствором.

Разведение и инаktivация культуры. Расплодку культуры *Pseudomonasa eruginosa*, содержащую 6 млрд/см микробных клеток, инаktivируют техническим формалином по ГОСТ 1625-75 с содержанием формальдегида не менее 36,0 % в конечной концентрации 0,4%. В каждой партии формалина перед использованием определяют концентрацию формальдегида.

Инаktivируют культуры в течение 15-16 с при температуре 37-38 °С.

По окончании инаktivации культуру проверяют на полноту инаktivации методом посева на питательные среды (МПБ, МПА, МППБ и скошенный агар Сабура).

Получение энтерококкового компонента вакцины.

Засев матричной культуры в реактор и культивирование. Проверенные на чистоту матричные культуры стрептококков засевают в реактор из расчета 8-10 % к объему питательной среды. Каждый штамм *Streptococcus faecalis* 13, 345, 356, «Соколово», «Константиновский» культивируют в отдельном реакторе.

Культивирование ведется при 37 °С в течение 18 - 20 ч с постоянным перемешиванием.

Начиная с третьего часа культивирования определяют концентрацию микробных тел. Выращивание прекращают в конце экспоненциальной фазы роста, когда концентрация микробных клеток перестает увеличиваться. Накопление бактериальной массы составляют не менее 10 млрд/см³.

По окончании выращивания визуально оценивают морфологию колоний и чистоту роста агаровых культур. Выращенная в реакторе культура свободна от посторонней микрофлоры, в мазках, окрашенных по Граму присутствуют грамположительные диплококки и диплострептококки.

Разведение и инаktivация культуры. Культуру *Streptococcus faecalis* (13, 345, 356, «Соколово», «Константиновский») инаktivируют формалином до 0,25 – 0,3 %-й конечной концентрации. Использовали формалин технический по ГОСТ 1625-75 с содержанием формальдегида не менее 36%.

Инаktivируют культуры 5-7 суток при температуре $(37\pm 0,5)$ °С.

По окончании инаktivации культуру проверяют на полноту инаktivации методом посева на питательные среды (МПБ, МПА, МППБ и скошенный агар Сабура).

Получение эшерихиозного компонента вакцины.

Засев матричной культуры в биореактор и культивирование. Выращенную и проверенную на чистоту роста каждую матровую культуру засевают в отдельные биореакторы через пробоотборник в количестве 8-10 % от объема питательной среды в нём.

Засев и культивирование проводят по группам:

группа: 08:K43, 09, O78:K80, 0147;

группа:0138:K81, 0139, 0149:K91:K88;

группа:0141:K85:K88.

Штаммы – продуценты адгезивных антигенов культивируют отдельно 12 - 14 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Через каждые 2 ч культивирования из реактора отбирают пробы для определения концентрации, чистоты культуры и pH.

Для улучшения роста микробов и снижения pH при повышении его до 7,6-7,8 добавляют стерильный 40 %-й раствор глюкозы.

Культивирование прекращают, когда концентрация микробов не повышается или повышается незначительно.

По окончании культивирования отбирают пробу культуры из реактора, определяют pH, чистоту микроскопией мазков, окрашенных по Граму, производят высев в пробирки со средой МПБ, МПА, на чашки Петри с дифференциальной средой Эндо.

Бактериальную массу в каждом реакторе разводят стерильным физраствором до концентрации $16,5 \text{ млрд/см}^3$.

Приготовление адгезивного антигена. В реактор со стерильным фосфатным буфером с мочевиной pH 7,0-7,4 вносят концентрированную до $100 \text{ млрд м.т/см}^3$ обеззараженную бактериальную массу эшерихий – продуцентов адгезивных антигенов, прогревают при $(65 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 20 мин.

Супернатант отделяют от бактериальных клеток повторной сепарацией. Бактериальную массу утилизируют, супернатант возвращают в реактор.

Проверку содержания адгезивных антигенов эшерихий в супернатанте проводят методом диффузной преципитации в агарозе.

Титр каждого антигена в супернатанте не менее 1:2 – 1:4.

Разведение и инаktivация культуры. Бактериальную массу *E.coli* III, IV, V групп, содержащую по $16,5 \text{ млрд/см}^3$ микробных клеток и смесь адгезивных антигенов, перекачивают в реактор по стерильной силиконовой трубке в следующих пропорциях:

- группа III из шт. 08, 09, 078, 0147-4 части;
- группа IV из шт. 0138, 0139, 0149-3 части;
- группа V из шт. 0141-141-1 часть;
- смесь адгезивных антигенов-4 части.

В полученную бактериальную массу добавляют формалин с содержанием свободного формальдегида не менее 37,0 % до конечной концентрации формальдегида в бактериальной массе 0,12 %, pH 7,6.

Инаktivируют культуры 15 - 16 суток при температуре $(37,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Через 10 суток инаktivации берут пробу для проверки на чистоту культуры (микроскопия мазков, окрашенных по Граму), полноту инаktivации культуры (посевом на питательные среды МПБ, МПА, Эндо с учетом результатов через 8 суток), для определения pH и концентрации микробных тел в 1 см^3 . При отсутствии роста на питательных средах инаktivацию культуры считают законченной. Полноту инаktivации токсинов проверяют на 5 белых мышках массой 18-19 г методом внутрибрюшинного введения $0,3 \text{ см}^3$ инаktivированной культуры. Процесс инаktivации считают завершенным при выживании всех животных в течение 3 суток наблюдения. Срок хранения бактериальной массы после инаktivации – не более 10 дней.

Составление серии вакцины. Культуры эшерихий, псевдомонад и энтерококков перекачивают в сборный реактор с соблюдением правил стерильности при непрерывной работе мешалок. Компоненты смешивают с таким расчётом, чтобы общая концентрация микробных клеток была равна 10 млрд/см^3 , а соотношение между отдельными компонентами (млрд/см^3) было следующим:

<i>Pseudomonasa eruginosa</i>	6
<i>Streptococcus faecalis</i>	2
<i>E. coli</i>	10

Розлив вакцины во флаконы. Вакцину расфасовывают при постоянно включенной мешалке в стерильные стеклянные флаконы по $100\text{см}^3 \pm 3\%$ или $200\text{см}^3 \pm 3\%$, укупоривают стерильными пробками, закатывают алюминиевыми колпачками на закаточном полуавтомате на линии розлива, укупорки и маркировки флаконов (ММ 35, СТ 36, ЛН37). На флакон наклеивают этикетку с текстом согласно СТО 00482849-0051-2011.

Внутрицеховой контроль. Готовую вакцину проверяют на стерильность методом посева $0,1 - 0,2\text{см}^3$ в две пробирки с МПА, МПБ, МППБ, агаром Сабура из 5 флаконов с вакциной. Посевы выдерживают в термостате при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 2 суток. Затем проводят пересев из жидких сред в две пробирки с МПБ, МПА, МППБ. Контроль стерильности первичных посевов проводят в течение 14 суток, вторичных – 12 суток. Среды в пробирках должны оставаться стерильными.

Готовую вакцину проверяют на безвредность на 5 белых мышах массой 18-19 г методом внутрибрюшинного введения по $0,3\text{см}^3$ препарата. Вакцину считают безвредной при выживании всех животных в течение 10 суток наблюдения.

Приёмка (проверка) каждой серии вакцины производится ОБТК в соответствии с СТО 00482849-0051-2011.

Упаковка, маркировка, отгрузка. Флаконы (по 100 штук) укладывают в ящик и (коробки) из гофрированного картона по ГОСТ 9142, обеспечивающие сохранность препарата при транспортировании.

Внутрь каждой коробки вкладывают не менее 3 экземпляров инструкции по применению вакцины и контрольный лист с указанием наименования организации-производителя, наименования вакцины, количества флаконов в ящике (коробке), номера серии, даты выпуска, даты упаковки, фамилии или номера упаковщика.

Каждый ящик (коробку) с вакциной маркируют с указанием наименования лекарственного средства, серии, даты выпуска (месяц, год), количества флаконов в ящике, наименования организации-производителя, её адреса (в том числе страны) и товарного знака, срока годности, условий хранения и перевозки.

На каждое грузовое место (транспортную тару) наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков «Верх», «Ограничение температур», «Хрупкое. Осторожно» и предупредительной надписи: «Лекарственные средства».

Совмещение транспортной маркировки и маркировки, характеризующей упакованную продукцию, на одной стороне транспортной тары не допускается.

Вакцину в организации-производителе, в торговых организациях и у потребителя рекомендуется хранить в сухом тёмном месте в коробках заводской упаковки или транспортной таре при температуре от 2°C до 15°C . Срок годности вакцины – 12 месяцев с даты выпуска. Датой выпуска вакцины считают дату окончания контроля вакцины в ОБТК.

В результате проведенной работы нами была отработана технология промышленного производства инактивированной вакцины против эшерихиоза, псевдомоноза и энтерококковой инфекции поросят. Разработана и утверждена нормативная документация по её изготовлению, контролю и применению, выпущены опытно-промышленные серии вакцины.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят / Х.З. Гафаров, А.В. Иванов, Е.А. Непоклонов [и др.]. – Казань: ФЭН, 2002. – 592 с.

2. Пруцаков С.В. Псевдомоноз продуктивных животных в регионе Северного Кавказа: автореф. дис. ... д-ра ветер.наук. – Краснодар, 2011. – 40 с.
3. Этиологическая структура массовых желудочно-кишечных и респираторных болезней поросят в крупных специализированных хозяйствах / А.Г. Шахов, Ю.Н. Бригадиров, А.Ю. Сашнина, М.И. Лебедев // Практик. – 2010. – № 1. – С. 42-45.
4. Русалиев В.С., Гнеvashev В.М., Прунтова В.М., Бактериальные вакцины в свиноводстве // Ветеринария с.-х. животных. – 2005 – № 12. – С. 21-23.
5. Scaling-up production of pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa* JY21 as biocontrol agent against certain plant pathogenic fungi / A.A. Gaber, E.W. Elsayed, M.M. Saleh, A.A. Nader // International J. Chem. Tech. Res. – 2015 – Vol.8, N9. – P. 213-224.
6. Hammerum A.M. Enterococci of animal origin and their significance for public health // Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol.18, № 7. – P. 619-625.
7. Марченко Т.В. Биологические свойства *Pseudomonasaeruginosa*, выделенной от животных, из кормов и объектов внешней среды в Краснодарском крае: дис..... канд. ветер.наук. – Краснодар, 2006. – 167 с.
8. Михайлов Н.Н., Зудилин В.А. К изучению псевдомоноза животных // Ветеринария. – 1975. – № 6. – С. 88.
9. Davies J.C. *Pseudomonasaeruginosa* in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence // Paediatric Respiratory Reviews. – 2002. – № 2. – P. 128-134.
10. Иммунобиологические свойства ассоциированной вакцины против псевдомоноза и энтерококковой инфекции нутрий / Л.В. Шевченко, А.А. Шевченко, О.Ю. Черных, Е.А. Баженова // Тр. Кубан. ГАУ. – 2013. – №40. – С. 132-135.

REFERENCES

1. Bazhenova E.A. Immunobiological properties of the associated vaccine against pseudomonosis and enterococcal infection of nutria / L.V. Shevchenko, A.A. Shevchenko, O.Yu. Chernykh, E.A. Bazhenov // Works of the Kuban State Agrarian University, – №40. – 2013 – P.132-135.
2. Gafarov H.Z. Mono- and mixed infectious diarrhea of newborn calves and piglets / H.Z. Gafarov, A.V. Ivanov, E.A. Nepoklonov [and others] // Kazan: publishing house "Fen", 2002 – 592 p.
3. Marchenko T.V. Biological properties of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from animals, from forages and objects of the environment in the Krasnodar region: dis ... Cand. Vet. Sciences. – Krasnodar, 2006 – 167 p.
4. Mikhailov N.N. To the study of pseudomonosis of animals / N.N. Mikhailov, V.A. Zudilin // Veterinary Medicine, 1975 – № 6. – P. 88.
5. Prutcafov S.V. Pseudomonosis of productive animals in the North Caucasus region: author's abstract. Dis ... Dr. Vet. Sciences. – Krasnodar, 2011 – 40 p.
6. Rusaliev V.S. Bacterial vaccines in pig production. Rusaliev, V.M. Gnevashev, V.M. Pruntova // Veterinary science of agricultural production. Animals, 2005 – No. 12. – P. 21-23.
7. Shahov A.G. The etiological structure of mass gastrointestinal and respiratory diseases of piglets in large specialized farms / A.G. Shahov, Yu.N. Brigadyrov, A.Yu. Sashnina, M.I. Lebedev // The Practitioner, 2010 – No. 1 – P. 42-45.
8. Davies J.C. *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence / J.C. Davies // Paediatric Respiratory Reviews, 2002 – № 2. – pp 128-134.
9. Gaber A.A. Scaling-up production of pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa* JY21 as biocontrol agent against certain plant pathogenic fungi / A.A. Gaber, E.W. Elsayed, M.M. Saleh, A.A. Nader // International J. Chem. Tech. Res., 2015 – Vol.8. – No.9. – pp 213-224.
10. Hammerum A.M. Enterococci of animal origin and their significance for public health / A.M. Hammerum // Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol.18. – № 7. – pp. 619-625.