

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046060**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.02

(51) Int. Cl. **A61K 39/00** (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)

(21) Номер заявки
202091994

(22) Дата подачи заявки
2019.02.25

(54) **СПОСОБ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПОЯВЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ЗАПАХА
СВИНИНЫ У ЖИВОТНОГО**

(31) **18159151.2**

(32) **2018.02.28**

(33) **EP**

(43) **2020.12.25**

(86) **PCT/EP2019/054570**

(87) **WO 2019/166362 2019.09.06**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Моки Рёуйти, Сакамото Эйго,
Ямагути Такеси (DE)**

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) **WO-A1-9639629
WO-A1-9720050
WO-A2-0226250
WO-A1-2005011731
WO-A2-2009144088**

**SKRLEP MARTIN ET AL: "Elevated fat
skatole levels in immunocastrated, surgically castrated
and entire male pigs with acute dysentery",
VETERINARY JOURNAL, vol. 194, no. 3, December
2012 (2012-12), pages 417-419, XP002780977,
abstract, page 419, left-hand column, paragraph 2 -
paragraph 4**

**WO-A1-2004084644
VISSCHER C. ET AL.: "Dietary approaches
reducing boar taint-Importance of Lawsonia
intracellularis colonisation for interpreting results",
JOURNAL OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND
ANIMAL NUTRITION APR 2018, vol. 102 Suppl
1, April 2018 (2018-04), pages 3-15, XP002780978,
ISSN: 143.9-0396, the whole document**

(57) Изобретение относится к способу предотвращения появления специфического запаха свинины у животного, включающему введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*, в котором животное представляет собой свинью, в котором антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую *Lawsonia intracellularis* или модифицированную живую *Lawsonia intracellularis* и в котором иммуногенная композиция представляет собой вакцину.

B1

046060

046060

B1

Уровень техники

Lawsonia (L.) *intracellularis*, возбудитель пролиферативной энтеропатии свиней ("PPE"), поражает практически всех животных, включая кроликов, хорьков, хомяков, лис, лошадей и других животных, таких как страусы и эму. *L. intracellularis* является наиболее распространенным кишечным патогеном представителей семейства свиные во всем мире и вызывает значительные потери в свиноводстве во всем мире.

Вакцины на основе *L. intracellularis*, одобренные для использования в Соединенных Штатах и Европе (торговая марка Enterisol® Ileitis), основаны на живых аттенуированных изолятах *L. intracellularis*, описанных в WO 96/39629 A1 и WO 2005/011731 A1.

Убитые вакцины на основе *L. intracellularis* также описаны, например, в WO 2009/144088 A2, WO 97/20050 A1 и WO 2002/26250 A2.

Специфический запах свинины - это специфический запах или вкус, которые могут быть заметны во время приготовления или употребления свинины. Есть несколько соединений, влияющих на запах свинины, наиболее важными из которых являются андростенон, скатол и индол.

Андростенон (мужской стероидный феромон) вырабатывается в семенниках самцов свиней. Самцы свиней, выращиваемых для производства мяса, часто кастрируют вскоре после рождения, чтобы предотвратить развитие неприятного запаха кабана (специфического запаха свинины) у животного.

Напротив, скатол и индол являются продуктами метаболизма триптофана как у самцов, так и у самок свиней. Такие высокие концентрации скатола и индола в жировой ткани могут вызывать указанный неприятный запах или вкус.

Количество скатола, хранящегося в жировой ткани, зависит от нескольких аспектов, таких как скорость образования скатола, время прохождения содержимого через кишечник, всасывание в кишечнике и метаболизм в печени. Производство скатола происходит в кишечнике за счет микробного расщепления аминокислоты триптофана, происходящего из пищевого или эндогенного белка. Большая часть доступного скатола, продуцируемого в кишечнике, всасывается через стенку кишечника и транспортируется с кровью в печень, где большая часть разлагается. Однако разложение скатола в печени тормозится андростеноном. Затем продукты разложения выводятся с мочой. Фекалии содержат лишь незначительное количество скатола. Неразрушенный скатол откладывается в жире и мышцах.

На количество скатола у животного влияют несколько параметров. Пищевые ингредиенты влияют на концентрации скатола в жире. Кроме того, в производстве скатола играют роль и другие методы управления. Например, свиньи при более высоких показателях поголовья имеют более высокие концентрации скатола в жире, чем свиньи, содержащиеся в чистоте при более низких показателях поголовья.

В документе Skrler et al., 2012 (*The Veterinary Journal*; 194; pages 417-419) описано, что специфический запах свинины может возникать даже у кастрированных свиней, страдающих кишечной инфекцией. Skrler et al., 2012 изучили свиней, у которых возникла вспышка острой дизентерии, вызванной *Lawsonia intracellularis* и *Brachyspira hyodysenteriae*, которая привела к кахексии и высокой смертности.

Важно отметить, что было описано, что диеты с добавлением антибиотиков (тилозин или виригинамицин) или кормовых добавок с антибиотиками в целом не влияют на концентрацию скатола в жире (Hawe et al., 1992; *Anim Prod.*; 54: pages 413-419; Hansen et al., 1994; *Livest Prod. Sci.*; 39: pages 269-274; Xue et al., 1997; *JSHAP*; 5(4); pages 151-158). Только для одного антибиотика (бацитрацин) наблюдалось снижение уровня скатола (Hansen et al., 1997; *Animal Science*, 64, 351-363). Из указанных исследований неясно, оказывает ли лечение бактериальных инфекций кишечника антибиотиками какое-либо или по крайней мере существенное положительное действие на уровни скатола или индола в жировой ткани.

Взятые вместе, на уровни скатола или индола в жировой ткани свиней влияют несколько параметров, таких как всасывание скатола или индола в кишечнике, метаболизм в печени, пищевые ингредиенты, показатели поголовья свиней, кастрация кабанов, кишечные инфекции и т.д. Однако корм с антибиотиками в целом не влиял на концентрацию скатола или индола в жире.

Следовательно, существует потребность в новых способах снижения уровней скатола или индола у представителей семейства свиные и уменьшении специфического запаха свинины у представителей семейства свиные соответственно.

Описание изобретения

Перед описанием аспектов настоящего изобретения необходимо отметить, что используемые в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают множественное число, если контекст явно не диктует иное. Таким образом, например, ссылка на "антиген" включает множество антигенов, ссылка на "вирус" относится к одному или более вирусам и их эквивалентам, известным специалистам в данной области техники, и т.д. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются средним специалистом в данной области техники, к которой принадлежит данное изобретение. Хотя любые методы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, могут использоваться на практике или при тестировании данного изобретения, далее описаны предпочтительные методы, устройства и материалы. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены в него посредством ссылки с целью описания и раскрытия клеточных линий, векторов и методологий, как указано

в публикациях, которые могут быть использованы в связи с данным изобретением. Ничто в данном документе не должно толковаться как признание того, что данное изобретение не имеет права на более раннюю дату такого раскрытия на основании более раннего изобретения.

Настоящее изобретение решает проблемы, присущие предшествующему уровню техники, и обеспечивает явное преимущество в уровне техники. В общем, в настоящем изобретении предложен способ снижения концентрации или количества скатола и/или индола у животного, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен способ предотвращения появления специфического запаха свинины у животного, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*.

Преимущественно экспериментальные данные, предоставленные в настоящем изобретении, показывают, что с помощью способа по настоящему изобретению уровни скатола и/или индола в тканях свиней могут быть снижены. Кроме того, за счет снижения уровня скатола и/или индола в тканях свиней уменьшается специфический запах свинины или неприятный запах кабана.

Термин "снижение" означает, что концентрация или количество скатола и/или индола снижается по меньшей мере на 10%, предпочтительно по меньшей мере на 20%, более предпочтительно по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 40%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 50%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 60%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 70%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 90%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с субъектом неиммунизированной контрольной группы того же вида. Специалисту в данной области техники известно, как измерить концентрацию скатола и/или индола. Например, концентрацию скатола и/или индола можно измерить с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Термин "скатол и/или индол" хорошо известен специалисту в данной области техники. Скатол также известен как 3-метилиндол. Как скатол, так и индол являются продуктами метаболизма триптофана как у самцов, так и у самок свиней.

Термин "количество" взаимозаменяем с термином "концентрация".

Термин "предотвращение" обычно включает введение эффективного количества иммуногенной композиции по настоящему изобретению субъекту или стаду субъектов, нуждающихся в таком лечении/профилактике или которым могло бы помочь такое лечение/профилактика.

Термин "лечение" относится к введению эффективного количества иммуногенной композиции после того, как субъект или по крайней мере некоторые животные стада уже инфицированы *Lawsonia intracellularis*, и при этом у таких животных уже проявляются некоторые клинические признаки, вызванные или связанные с такой инфекцией, вызванной *Lawsonia intracellularis*.

Термин "профилактика" относится к введению субъекту до инфицирования такого субъекта *Lawsonia intracellularis* или по крайней мере когда такое животное или ни одно из животных в группе животных не проявляет каких-либо клинических признаков, вызванных или связанных с инфекцией, вызванной *Lawsonia intracellularis*.

Термины "предотвращение" и "лечение и/или профилактика" взаимозаменяемы в данном документе.

Термин "нуждающийся" или "который нуждается" в контексте настоящего описания означает, что введение/лечение связано с усилением или улучшением состояния здоровья или клинических признаков или любым другим положительным лечебным влиянием на здоровье животных, которые получают иммуногенную композицию в соответствии с настоящим изобретением.

Используемый здесь термин "эффективное количество" в контексте композиции означает количество иммуногенной композиции, способное вызывать иммунный ответ, который снижает частоту случаев или снижает тяжесть инфекции или заболеваемости у животного и, таким образом, снижает количество скатола и/или индола у указанного животного. Такое эффективное количество способно снизить частоту случаев конкретной инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*, в стаде или уменьшить тяжесть клинических признаков конкретной инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*, и, таким образом, снизить количество скатола и/или индола у указанного животного. В частности, эффективное количество относится к TCID₅₀ на дозу. Альтернативно, в контексте терапии термин "эффективное количество" относится к количеству терапии, которое достаточно для уменьшения или облегчения тяжести или продолжительности заболевания или расстройства или одного или более их симптомов, предотвращения развития заболевания или расстройства, вызова регрессии заболевания или расстройства, предотвращения рецидива, развития, начала или прогрессирования одного или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, или усиления или улучшения профилактики или лечения другой терапией или терапевтическим средством.

Термин "иммуногенная композиция" относится к композиции, которая содержит по меньшей мере один антиген, который вызывает иммунную реакцию у хозяина, которому вводят иммуногенную компо-

зицию. Такая иммунная реакция может быть клеточным и/или антитело-опосредованным иммунным ответом на иммуногенную композицию по изобретению. Предпочтительно иммуногенная композиция вызывает иммунный ответ и более предпочтительно обеспечивает защитный иммунитет против одного или более клинических признаков инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*. Хозяин также описывается как "субъект". Предпочтительно, чтобы любой хозяин или субъект, описанный или упомянутый в данном документе, был животным.

Обычно "иммунная реакция" включает один или более из следующих эффектов: продуцирование или активацию антител, В-клеток, хелперных Т-клеток, супрессорных Т-клеток и/или цитотоксических Т-клеток и/или гамма-дельта Т-клеток, специфически направленных на антиген или антигены, включенные в иммуногенную композицию по данному изобретению, но не ограничивается ими. Предпочтительно хозяин будет проявлять либо защитную иммунную реакцию, либо терапевтический ответ.

"Защитная иммунная реакция" или "защитный иммунитет" будет демонстрироваться либо уменьшением, либо отсутствием клинических признаков, которые обычно проявляются у инфицированного хозяина, более быстрым временем выздоровления и/или уменьшением продолжительности инфекции или снижением титра патогенов в тканях или биологических жидкостях, или выделениях инфицированного хозяина.

В случае, когда хозяин проявляет защитную иммунную реакцию, такую что устойчивость к новой инфекции будет повышена и/или будет снижена клиническая тяжесть заболевания, иммуногенная композиция описывается как "вакцина".

Термин "*Lawsonia intracellularis*" известен специалисту в данной области техники. *Lawsonia intracellularis* является возбудителем пролиферативной энтеропатии свиней ("PPE").

Используемый в данном документе термин "антиген" относится к компонентам, которые вызывают иммунную реакцию у хозяина на представляющую интерес иммуногенную композицию или вакцину, содержащую такой антиген или его иммунологически активный компонент, но не ограничивается ими. Антиген или иммунологически активный компонент может представлять собой целый микроорганизм (в инактивированной или модифицированной живой форме) или любой его фрагмент или фракцию, которые при введении хозяину могут вызывать иммунную реакцию у хозяина. Антиген может представлять собой или может включать полные живые организмы либо в их естественной форме, либо в виде аттенуированных организмов в так называемой модифицированной живой вакцине (MLV).

Антиген может дополнительно включать соответствующие элементы указанных организмов (субъединичные вакцины), при этом эти элементы получены либо путем разрушения цельного организма, либо путем стадий выращивания культур таких организмов и последующей очистки, дающих желаемую структуру(ы), или искусственными процессами, индуцированными соответствующими манипуляциями с подходящей системой, такой как бактерии, насекомые, млекопитающие или другие виды, но не ограничиваясь ими, и, необязательно, путем последующих процедур выделения и очистки, или путем индукции указанных искусственных процессов у животного, нуждающегося в вакцине, путем прямого введения генетического материала с использованием подходящих фармацевтических композиций (полинуклеотидная вакцинация). Антиген может включать цельные организмы, инактивированные соответствующими методами, в так называемой убитой вакцине (KV). Если организм представляет собой бактерию, убитая вакцина называется бактерином.

Антиген *Lawsonia*.

В одном из аспектов настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую *Lawsonia intracellularis* или модифицированную живую *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения убитая *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую цельную клетку *Lawsonia intracellularis*.

Убитые вакцины на основе *L. intracellularis* описаны в WO 2009/144088 A2, WO 97/20050 A1 и WO 2002/26250 A2.

Для целей настоящего изобретения можно использовать любой традиционный способ инактивации. Таким образом, инактивацию можно проводить с помощью химических и/или физических обработок, которые известны специалисту в данной области техники. Предпочтительные способы инактивации включают добавление циклизованного бинарного этиленимина (BEI), включая добавление раствора 2-бромэтиленамин гидробромида (BEA), который подвергался циклизации до бинарного этиленимина (BEI). Предпочтительные другие химические агенты инактивации включают тритон X-100, дезоксихолат натрия, бромид цетилтриметиламмония, β-пропиолактон, тимеросал, фенол и формальдегид (формалин), но не ограничиваются ими. Однако, инактивация может также включать стадию нейтрализации.

Предпочтительные нейтрализующие агенты включают тиосульфат натрия, бисульфит натрия и т.п., но не ограничиваются ими.

Предпочтительные условия инактивации формалином включают концентрацию формалина от примерно 0,02 до примерно 2,0% (об./об.), более предпочтительно от примерно 0,1 до примерно 1,0% (об./об.), еще более предпочтительно от примерно 0,15 до примерно 0,8% (об./об.), еще более предпочтительно от примерно 0,16 до примерно 0,6% (об./об.) и наиболее предпочтительно от примерно 0,2 до примерно 0,4% (об./об.). Время инкубации зависит от устойчивости *Lawsonia intracellularis*. Как

правило, процесс инактивации продолжается до тех пор, пока рост *Lawsonia intracellularis* нельзя будет обнаружить в подходящей системе культивирования.

Предпочтительно, чтобы инактивированная *Lawsonia intracellularis* была инактивирована формалином, предпочтительно с использованием концентраций, описанных выше.

Предпочтительные условия инактивации β -пропиолактоном включают концентрацию β -пропиолактона от примерно 0,005 до примерно 4,0% (об./об.) и более предпочтительно от примерно 0,05 до примерно 2,0% (об./об.). Время инкубации зависит от устойчивости *Lawsonia intracellularis*. Как правило, процесс инактивации продолжается до тех пор, пока рост *Lawsonia intracellularis* нельзя будет обнаружить в подходящей системе культивирования.

Предпочтительно, чтобы инактивированная *Lawsonia intracellularis* была инактивирована β -пропиолактоном, предпочтительно с использованием концентраций, описанных выше.

Предпочтительно иммуногенная композиция содержит от 10^2 до 10^{14} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу, более предпочтительно от 10^4 до 10^{12} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу и даже более предпочтительно от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу.

Предпочтительно иммуногенная композиция содержит количество от 25 до 2000 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу, более предпочтительно количество от 50 до 1000 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу и еще более предпочтительно количество от 100 до 800 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция содержит от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу или количество от 100 до 800 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

В одном из аспектов настоящего изобретения модифицированная живая *Lawsonia intracellularis* представляет собой авирулентный изолят или *Lawsonia intracellularis* является аттенуированной.

Термин "аттенуированный" относится к патогену, имеющему пониженную вирулентность. В настоящем изобретении "аттенуация" является синонимом "авирулентного". В настоящем изобретении аттенуированная *Lawsonia intracellularis* представляет собой *Lawsonia intracellularis*, вирулентность которой снижена, так что она не вызывает клинических признаков инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*, но способна вызывать иммунный ответ у целевого животного, но также может означать, что клинические признаки снижены по частоте случаев или степени тяжести у животных, инфицированных аттенуированной *Lawsonia intracellularis*, по сравнению с "контрольной группой" животных, инфицированных неаттенуированной *Lawsonia intracellularis* и не получавших аттенуированные бактерии. В этом контексте термин "снижать/сниженный" означает снижение по меньшей мере на 10%, предпочтительно на 25%, еще более предпочтительно на 50%, еще более предпочтительно на 60%, еще более предпочтительно на 70%, еще более предпочтительно на 80%, еще более предпочтительно на 90%, даже более предпочтительно на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с контрольной группой, как определено выше. Таким образом, аттенуированный авирулентный штамм или изолят *Lawsonia intracellularis* является таким, который пригоден для включения в иммуногенную композицию, содержащую модифицированную живую *Lawsonia intracellularis*.

Патогенные и непатогенные аттенуированные бактериальные штаммы *L. intracellularis* хорошо известны из уровня техники. Например, в WO 96/39629 и WO 05/011731 описаны непатогенные аттенуированные штаммы *L. intracellularis* и способы их получения.

В частности, в WO 96/39629 описано получение аттенуированных бактериальных штаммов *L. intracellularis* и депонированного штамма ATCC 55783.

В WO 05/011731 описано получение аттенуированных бактериальных штаммов *L. intracellularis* и депонированного штамма РТА-4926.

В одном из аспектов настоящего изобретения авирулентный изолят представляет собой РТА-4926 или ATCC 55783.

В одном из аспектов настоящего изобретения авирулентный изолят *Lawsonia intracellularis* или аттенуированная *Lawsonia intracellularis* представляют собой Enterisol®/Ileitis.

Рекомендуемая доза для введения восприимчивому животному составляет предпочтительно от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID₅₀ (предел дозы, инфицирующей 50% культуры ткани)/дозу и более предпочтительно от примерно 4,0 до примерно 7,0 TCID₅₀/дозу.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция содержит от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID₅₀ модифицированной живой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция содержит от примерно 4,0 до примерно 7,0 TCID₅₀ модифицированной живой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

Животное.

Термин "животное" предпочтительно относится к млекопитающим, таким как мыши, крысы, морские свинки, кролики, хомяки, представители семейства свиньи, овцы, собаки, кошки, лошади, обезьяны или крупный рогатый скот. Более предпочтительно животное является представителем семейства свиньи.

В одном аспекте настоящего изобретения животное является млекопитающим.

В одном аспекте настоящего изобретения животное представляет собой свинью.

Следует понимать, что термин "свинья" включает поросят, свиноматок, кастрированных хряков, кабанов и тому подобное.

В одном из аспектов настоящего изобретения животное или свинья является самцом или самкой.

В одном из аспектов настоящего изобретения животное или свинья является самцом.

В одном из аспектов настоящего изобретения самец животного или свиньи кастрирован или не кастрирован.

В одном аспекте настоящего изобретения животное представляет собой свинью-самку или кастрированного свинью-самца.

Кишечная инфекция или инфекция, вызванная *Lawsonia*.

В одном аспекте настоящего изобретения у животного присутствует желудочно-кишечная инфекция.

В одном аспекте настоящего изобретения у животного присутствует кишечная инфекция.

Используемый в данном документе термин "желудочно-кишечная инфекция" или "кишечная инфекция" относится к вирусной, бактериальной или паразитарной инфекции в желудочно-кишечном тракте или кишечнике указанного животного. Указанная инфекция может вызывать клиническое или субклиническое кишечное заболевание у указанного животного.

В одном аспекте настоящего изобретения у животного присутствует инфекция, вызванная кишечным патогеном. Предпочтительно кишечный патоген выбран из списка, состоящего из: *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira* spp., патогенная *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *B. hamptonii* и *B. murdochii*, но не ограничиваясь ими.

В одном из аспектов настоящего изобретения у животного присутствует инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis*.

В одном из аспектов настоящего изобретения у животного присутствует инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis* и *Brachyspira hyodysenteriae*.

Ткани.

В одном из аспектов настоящего изобретения скатол представляет собой 3-метилиндол.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола и/или индола снижена в кишечнике, жире, мышцах, мясе или ткани печени.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола и/или индола снижена в жире, мышцах или мясе.

В одном из аспектов настоящего изобретения способ уменьшает специфический запах свинины или неприятный запах кабана.

Специфический запах свинины.

Используемый в данном документе термин "специфический запах свинины" или "неприятный запах кабана" относится к запаху и/или вкусу свинины, который обычно проявляется во время приготовления или употребления указанной свинины. Указанный запах и/или вкус могут быть до такой степени выражены, что мясо неприемлемо для потребления человеком. У самцов свиней в целом и в меньшей степени у самок и кастрированных самцов также наблюдаются явления, связанные с неприятным запахом кабана или специфическим запахом свиньи. Есть несколько соединений, влияющих на запах свинины, наиболее важными из которых являются андростенон, скатол и индол. Сенсорный порог скатола в жировой ткани/жидком жире составляет 0,2 мкг/г (как пример см. Skrlep et al., 2012 (The Veterinary Journal; 194; pages 417-419)). Сенсорный порог индола в жировой ткани/жидком жире составляет 0,3 мкг/г.

В одном из аспектов настоящего изобретения способ снижает клинические признаки инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*.

Термин "клинические признаки" инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*, используемый в данном документе, включает сниженный среднесуточный прирост массы (ADWG), повышенную вариабельность прироста массы, повышенный коэффициент конверсии корма, грубые поражения подвздошной, слепой и толстой кишки, диарею, обнаруживаемую бактериальную нагрузку, выделение *Lawsonia intracellularis* или их комбинации, но не ограничивается ими.

Таким образом, в одном аспекте настоящего изобретения указанный способ приводит к улучшению параметра эффективности, выбранного из группы, состоящей из увеличенного среднесуточного прироста массы (ADWG), уменьшения вариабельность прироста массы, оптимизированного коэффициента конверсии корма, уменьшения грубых повреждений подвздошной, слепой и толстой кишки, уменьшения диареи, снижения бактериальной нагрузки, уменьшения выделения *Lawsonia intracellularis* или их комбинаций по сравнению с неиммунизированным животным того же вида.

Предпочтительно, клинические признаки снижены по частоте случаев или тяжести по меньшей мере на 10%, более предпочтительно по меньшей мере на 20%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 40%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно по крайней мере на 60%, даже более предпочтительно по крайней мере на 70%, еще более предпочтительно по крайней мере на 80%, даже более предпочти-

тельно по крайней мере на 90%, даже более предпочтительно по крайней мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с субъектами, которых либо не лечили, либо лечили иммуногенной композицией, которая была доступна до настоящего изобретения, но впоследствии инфицированных конкретной *Lawsonia intracellularis*.

Снижение концентрации скатола.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола в жировой ткани снижена по меньшей мере на 50% по сравнению с животным из невакцинированной контрольной группы, инфицированным *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола снижена менее чем до 0,2 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола снижена менее чем до 0,15 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола снижена менее чем до 0,1 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация скатола снижена ниже сенсорного порога в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

Снижение концентрации индола.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация индола в жировой ткани снижена по меньшей мере на 50% по сравнению с животным из невакцинированной контрольной группы, инфицированным *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация индола снижена менее чем до 0,3 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация индола снижена менее чем до 0,15 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация индола снижена менее чем до 0,05 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения концентрация индола снижена ниже сенсорного порога в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

Возраст животных.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от трех недель.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от 10 дней.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от одного дня и старше.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная композиция дополнительно содержит ветеринарно приемлемый носитель.

В одном аспекте настоящего изобретения ветеринарно приемлемый носитель представляет собой разбавитель.

Термин "разбавитель" может включать воду, физиологический раствор, декстрозу, этанол, глицерин и т.п. Изотонические агенты могут включать, среди прочего, хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбитол и лактозу. Стабилизаторы включают, среди прочего, альбумин и соли щелочных металлов этилендиаминтетрауксусной кислоты.

В одном аспекте настоящего изобретения ветеринарно приемлемый носитель представляет собой физиологический буфер.

В одном из аспектов настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель представляет собой забуференный фосфатом физиологический раствор.

Предпочтительно иммуногенная композиция дополнительно содержит сахарозно-желатиновый стабилизатор.

Предпочтительно иммуногенная композиция может дополнительно включать один или более других иммуномодулирующих агентов, таких как, например, интерлейкины, интерфероны или другие цитокины. Количества и концентрации адъювантов и добавок, пригодных в контексте настоящего изобретения, может легко определить специалист в данной области.

Указанный ветеринарно приемлемый носитель выбран из группы, состоящей из растворителей, дисперсионных сред, покрытий, стабилизирующих агентов, разбавителей, консервантов, антибактериальных и противогрибковых агентов, изотонических агентов, агентов, замедляющих адсорбцию, адъювантов, иммуностимуляторов и их комбинации.

В некоторых аспектах иммуногенная композиция по настоящему изобретению содержит адъювант. Термин "адъюванты", используемый в данном документе, может включать гидроксид алюминия и фосфат алюминия, сапонины, например Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), эмульсию вода-в-масле, эмульсию масло-в-воде, эмульсию вода-в-масле-в-воде. Эмульсия может быть основана, в частности, на легком жидком парафиновом

масле (по типу Европейской Фармакопеи); изопреноидном масле, таком как сквалан или сквален; масле, полученном в результате олигомеризации алкенов, в частности изобутена или децена; сложных эфирах кислот или спиртов, содержащих линейную алкильную группу, в частности, растительных маслах, этилолеате, ди-(каприлат/капрат) пропиленгликоле, три-(каприлат/капрат) глицерине или диолеате пропиленгликоля; сложных эфиров разветвленных жирных кислот или спиртов, в частности сложных эфиров изостеариновой кислоты. Масло используется в сочетании с эмульгаторами для образования эмульсии. Эмульгаторы предпочтительно представляют собой неионные поверхностно-активные вещества, в частности сложные эфиры сорбитана, маннида (например, ангидроманнитололеат), гликоля, полиглицерина, пропиленгликоля и олеиновой, изостеариновой, рицинолевой или гидроксистеариновой кислоты, которые необязательно являются этоксилированными, и полиоксипропилен-полиоксиэтиленовые блок-сополимеры, в частности продукты плуроник, особенно L121. См. Hunter et al., *The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D.E.S.), John Wiley and Sons, NY, p. 51-94 (1995) и Todd et al., *Vaccine*, 15:564-570 (1997). Иллюстративные адъюванты представляют собой эмульсию SPT, описанную на странице 147 в "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" edited by M. Powell and M. Newman, Plenum Press, 1995, и эмульсию MF59, описанную на странице 183 этой же книги.

Еще одним примером адъюванта является соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного. Предпочтительными адъювантными соединениями являются полимеры акриловой или метакриловой кислоты, которые являются поперечно сшитыми, особенно с полиалкениловыми эфирами сахаров или многоатомных спиртов. Эти соединения известны под названием карбомер (Phameuropa, Vol. 8, No. 2, June 1996). Специалисты в данной области техники могут также обратиться к патенту США № 2909462, в котором описаны такие акриловые полимеры, поперечно сшитые с полигидроксилированным соединением, имеющим по меньшей мере 3 гидроксильные группы, предпочтительно не более 8, причем атомы водорода по меньшей мере трех гидроксильных замещены ненасыщенными алифатическими радикалами, содержащими не менее 2 атомов углерода. Предпочтительными радикалами являются радикалы, содержащие от 2 до 4 атомов углерода, например винилы, аллиллы и другие этилен-ненасыщенные группы. Ненасыщенные радикалы могут сами содержать другие заместители, такие как метил. Особенно подходит продукция, продаваемая под названием Carbopol (BF Goodrich, Ohio, USA). Они являются поперечно сшитыми с аллилсахарозой или аллилпентаэритритом. Среди них можно упомянуть Carbopol 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным является использование Carbopol 971P. Среди сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного есть сополимеры ЕМА (Monsanto), которые представляют собой сополимеры малеинового ангидрида и этилена. Растворение этих полимеров в воде приводит к получению кислотного раствора, который будет нейтрализован, предпочтительно до физиологического pH, чтобы получить раствор адъюванта, в который будет включена сама иммуногенная, иммунологическая или вакцинная композиция.

Дополнительные подходящие адъюванты включают адъювантную систему RIBI (Ribi Inc.), блок-сополимеры (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), монофосфориллипид А, адъювант авридин липид амин, термолабильный энтеротоксин из *E. coli* (рекомбинантный или другой), холерный токсин, IMS 1314 или мурамилдипептид, или природные или рекомбинантные цитокины или их аналоги, или стимуляторы высвобождения эндогенных цитокинов, среди многих других, но не ограничиваются ими.

Ожидается, что адъювант может быть добавлен в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, предпочтительно в количестве от примерно 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, более предпочтительно в количестве от примерно 500 мкг до примерно 5 мг на дозу, даже более предпочтительно в количестве от примерно 750 мкг до примерно 2,5 мг на дозу и наиболее предпочтительно в количестве примерно 1 мг на дозу. В качестве альтернативы адъювант может находиться в концентрации от примерно 0,01 до 50%, предпочтительно в концентрации примерно от 2 до 30%, более предпочтительно в концентрации примерно от 5 до 25%, еще более предпочтительно в концентрации примерно от 7 до 22% и наиболее предпочтительно в концентрации от 10 до 20% от объема конечного продукта.

В одном аспекте настоящего изобретения указанный ветеринарно приемлемый носитель представляет собой адъювант, выбранный из группы, состоящей из гидроксида алюминия, фосфата алюминия, сапонинов, эмульсии вода-в-масле, эмульсии масло-в-воде, эмульсии вода-в-масле-в-воде, полимеров акриловой или метакриловой кислоты, сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного, адъювантной системы RIBI, блок-сополимеров, SAF-M, монофосфориллипид А, авридина липид-амина, термолабильного энтеротоксина из *E. coli* (рекомбинантного или другого), холерного токсина, IMS 1314, мурамилдипептида и их комбинации.

В одном аспекте настоящего изобретения указанный ветеринарно приемлемый носитель представляет собой эмульсию вода-в-масле-в-воде или карбомер.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят однократно.

Кроме того, было показано, что одна доза иммуногенной композиции по настоящему изобретению эффективна после введения такой разовой дозы такой иммуногенной композиции.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция составлена для введения

разовой дозы.

Предпочтительно разовая доза имеет общий объем от примерно 0,1 до 2,5 мл, более предпочтительно от примерно 0,2 до 2,0 мл, даже более предпочтительно от примерно 0,2 до 1,75 мл, еще более предпочтительно от примерно 0,2 до 1,5 мл, еще более предпочтительно от примерно 0,4 до 1,25 мл, еще более предпочтительно от примерно 0,4 до 1,0 мл, причем наиболее предпочтительной является разовая доза 0,5 или доза 1,0 мл. Наиболее предпочтительно, чтобы разовая доза имела общий объем 0,5, 1, 1,5 или 2 мл.

Однако иммуногенная композиция может вводиться в двух или более дозах, причем первая доза вводится до введения второй (бустерной) дозы. Предпочтительно вторую дозу вводят по крайней мере через 15 дней после первой дозы. Более предпочтительно вторую дозу вводят через 15-40 дней после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят по крайней мере через 17 дней после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят через 17-30 дней после первой дозы. Даже более предпочтительно вторую дозу вводят по крайней мере через 19 дней после первой дозы. Еще более предпочтительно вторую дозу вводят через 19-25 дней после первой дозы. Наиболее предпочтительно вторую дозу вводят по крайней мере через 21 дней после первой дозы. В предпочтительном аспекте схемы двукратного введения и первая, и вторая дозы иммуногенной композиции вводятся в одинаковом количестве. Предпочтительно каждая доза находится в предпочтительных количествах, указанных выше, причем наиболее предпочтительной является доза 1 мл для первой и второй доз. В дополнение к схеме введения первой и второй доз, альтернативный вариант осуществления включает дополнительные последующие дозы. Например, в этих аспектах может быть введена третья, четвертая или пятая дозы. Предпочтительно по схемам введения последующих доз третья, четвертую и пятую дозы вводят в том же количестве, что и первую дозу, при этом временные рамки между дозами соответствуют времени между первой и второй дозами, упомянутыми выше.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция вводят в двух дозах.

Иммуногенная композиция предпочтительно вводится местно или системно. Подходящими обычно используемыми способами введения являются пероральное или парентеральное введение, такое как интраназальное, внутривенное, внутримышечное, внутривнутрибрюшинное, подкожное, а также ингаляцией. Однако, в зависимости от природы и механизма действия соединения, иммуногенная композиция также может вводиться другими способами. Однако наиболее предпочтительно иммуногенная композиция вводится интраназально или перорально, например, с питьевой водой или пероральным вливанием.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенную композицию вводят внутримышечно, подкожно, интраназально или перорально.

В одном из аспектов настоящего изобретения убитую *Lawsonia intracellularis* вводят внутримышечно или подкожно.

В одном из аспектов настоящего изобретения модифицированную живую *Lawsonia intracellularis* вводят перорально или интраназально.

В одном из аспектов настоящего изобретения иммуногенная композиция представляет собой вакцину.

Подробное описание изобретения

Изобретение предполагает следующие варианты осуществления.

1. Способ снижения концентрации или количества скатола и/или индола у животного, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*.

2. Иммуногенная композиция, содержащая антиген *Lawsonia intracellularis*, для применения в способе снижения концентрации или количества скатола и/или индола у животного, включающем введение указанному животному эффективного количества указанной иммуногенной композиции.

3. Способ предотвращения появления специфического запаха свинины у животного, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*.

4. Иммуногенная композиция, содержащая антиген *Lawsonia intracellularis*, для применения в способе предотвращения появления специфического запаха свинины у животного, включающем введение указанному животному эффективного количества указанной иммуногенной композиции.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую *Lawsonia intracellularis* или модифицированную живую *Lawsonia intracellularis*.

6. Способ по п.5, в котором убитая *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую цельную клетку *Lawsonia intracellularis*.

7. Способ по п.6, в котором иммуногенная композиция содержит от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу или количество от 100 до 800 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

8. Способ по п.5, в котором модифицированная живая *Lawsonia intracellularis* представляет собой авирулентный изолят или *Lawsonia intracellularis* является аттенуированной.

9. Способ по п.8, в котором авирулентный изолят представляет собой РТА-4926 или АТСС 55783.

10. Способ по п.8 или 9, в котором иммуногенная композиция содержит от примерно 3,0 до при-

мерно 9,0 TCID50 модифицированной живой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

11. Способ по любому из пп.8-10, в котором иммуногенная композиция содержит от примерно 4,0 до примерно 7,0 TCID50 модифицированной живой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

12. Способ по любому из пп.1-11, в котором животное представляет собой свинью.

13. Способ по любому из пп.1-12, в котором животное или свинья является самцом или самкой.

14. Способ по любому из пп.1-13, в котором животное или свинья является самцом.

15. Способ по п.14, в котором самец животного или свиньи кастрирован или не кастрирован.

16. Способ по любому из пп.1-15, в котором у животного присутствует кишечная инфекция.

17. Способ по любому из пп.1-16, в котором у животного присутствует инфекция, вызванная кишечным патогеном.

18. Способ по любому из пп.1-17, в котором у животного присутствует инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis*, или инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis* и *Brachyspira hyodysenteriae*.

19. Способ по любому из пп.1, 2 или 5-18, в котором скатол представляет собой 3-метилиндол.

20. Способ по любому из пп.1-19, в котором концентрация скатола и/или индола снижена в кишечнике, жире, мышцах, мясе или ткани печени.

21. Способ по любому из пп.1-20, в котором концентрация скатола и/или индола снижена в жире, мышцах или мясе.

22. Способ по любому из пп.1-21, в котором указанный способ уменьшает специфический запах свинины или неприятный запах кабана.

23. Способ по любому из пп.1-22, в котором указанный способ снижает клинические признаки инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*.

24. Способ по любому из пп.1-23, в котором концентрация скатола в жировой ткани снижена по меньшей мере на 50% по сравнению с животным из невакцинированной контрольной группы, инфицированным *Lawsonia intracellularis*.

25. Способ по любому из пп.1-24, в котором концентрация скатола снижена менее чем до 0,2 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

26. Способ по любому из пп.1-24, в котором концентрация скатола снижена менее чем до 0,15 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

27. Способ по любому из пп.1-24, в котором концентрация скатола снижена менее чем до 0,1 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

28. Способ по любому из пп.1-27, в котором концентрация скатола снижена ниже сенсорного порога в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

29. Способ по любому из пп.1-28, в котором концентрация индола в жировой ткани снижена по меньшей мере на 50% по сравнению с животным из невакцинированной контрольной группы, инфицированным *Lawsonia intracellularis*.

30. Способ по любому из пп.1-29, в котором концентрация индола снижена менее чем до 0,3 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

31. Способ по любому из пп.1-29, в котором концентрация индола снижена менее чем до 0,15 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

32. Способ по любому из пп.1-29, в котором концентрация индола снижена менее чем до 0,05 мкг/г в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

33. Способ по любому из пп.1-32, в котором концентрация индола снижена ниже сенсорного порога в жировой ткани животных, инфицированных *Lawsonia intracellularis*.

34. Способ по любому из пп.1-33, в котором иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от трех недель.

35. Способ по любому из пп.1-34, в котором иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от 10 дней.

36. Способ по любому из пп.1-35, в котором иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от одного дня и старше.

37. Способ по любому из пп.1-36, в котором иммуногенная композиция дополнительно содержит ветеринарно приемлемый носитель.

38. Способ по п.37, в котором указанный ветеринарно приемлемый носитель выбран из группы, состоящей из растворителей, дисперсионных сред, покрытий, стабилизирующих агентов, разбавителей, консервантов, антибактериальных и противогрибковых агентов, изотонических агентов, агентов, замедляющих адсорбцию, адьювантов, иммуностимуляторов и их комбинации.

39. Способ по п.37 или 38, в котором ветеринарно приемлемый носитель представляет собой адьювант или физиологический буфер.

40. Способ по любому из пп.37-39, в котором указанный ветеринарно приемлемый носитель представляет собой адьювант, выбранный из группы, состоящей из гидроксида алюминия, фосфата алюминия, сапонинов, эмульсии вода-в-масле, эмульсии масло-в-воде, эмульсии вода-в-масле-в-воде, полимеров акриловой или метакриловой кислоты, сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного, адьювантной системы RIBI, блок-сополимеров, SAF-M, монофосфориллипида А, авридина ли-

пид-амина, термолабильного энтеротоксина из *E. coli* (рекомбинантного или другого), холерного токсина, IMS 1314, мурамилдипептида и их комбинации.

41. Способ по любому из пп.37-40, в котором указанный ветеринарно приемлемый носитель представляет собой эмульсию вода-в-масле-в-воде или карбомер.

42. Способ по любому из пп.1-41, в котором иммуногенную композицию вводят однократно.

43. Способ по любому из пп.1-41, в котором иммуногенную композицию вводят в двух дозах.

44. Способ по любому из пп.1-43, в котором иммуногенную композицию вводят внутримышечно, подкожно, интраназально или перорально.

45. Способ по любому из пп.1-7 и 12-44, в котором убитую *Lawsonia intracellularis* вводят внутримышечно или подкожно.

46. Способ по любому из пп.1-5 и 8-44, в котором модифицированную живую *Lawsonia intracellularis* вводят перорально или интраназально.

47. Способ по любому из пп.1-46, в котором иммуногенная композиция представляет собой вакцину.

Краткое описание графических материалов

Следующий чертеж составляет часть настоящего описания и включен для дополнительной демонстрации определенных аспектов настоящего изобретения. Изобретение можно лучше понять, если обратиться к этому чертежу в сочетании с подробным описанием конкретных вариантов осуществления, представленных в данном документе.

На фигуре показаны концентрации скатола и индола в образцах хребтового жира. N: невакцинированные с проблемами специфического запаха, V: вакцинированные.

Примеры

Следующие примеры предназначены только для иллюстрации настоящего изобретения. Они никоим образом не ограничивают объем притязаний заявленного изобретения.

Черная дегтеобразная диарея и внезапная смерть наблюдались у 500 свиноматок на поздних стадиях откорма на ферме от опороса до финишной стадии откорма, что указывало на заболевание, вызванное инфицированием *Lawsonia intracellularis*. Шлангоподобное утолщение слизистой оболочки подвздошной кишки, покрытое псевдомембраной, было обнаружено при вскрытии, что подтверждает клинический диагноз (данные не представлены). Кроме того, была диагностирована инфекция, вызванная *Brachyspira hyodysenteriae* (данные не представлены). Кроме того, образцы сыворотки были протестированы на антитела к Li (*Lawsonia intracellularis*) (bioScreen Pleitis antibody-ИФА), подтверждая сероконверсию в возрасте 120 дней (данные не представлены). Примерно в то же время пункты продажи свинины сообщили, что их клиенты жалуются на специфический запах свинины. Эта свинина была из партии, в которой возникли проблемы с PPE. Семь образцов туш из партии были отправлены в научно-исследовательский центр NH Foods Ltd. для определения концентраций скатола и индола в хребтовом жире. Концентрация скатола составляла 0,04-0,53 мкг/г (в среднем 0,22 мкг/г), три образца (42%) превышали сенсорный порог 0,2 мкг/г (см. фиг. 1). Концентрация индола была ниже сенсорного порога 0,3 мкг/г, в пределах 0,03-0,15 мкг/г (в среднем 0,09 мкг/г) (см. фиг. 1).

Вакцинацию пероральной вакциной на основе живой аттенуированной *Lawsonia intracellularis* (Enterisol® Pleitis, Boehringer Ingelheim) проводили в возрасте 40 дней в соответствии с инструкциями производителя. Через пять месяцев после проведения вакцинации, когда вакцинированные свиньи поступили в продажу, в шести образцах были измерены концентрации скатола и индола в хребтовом жире, и снова был проведен тест на антитела к Li, подтверждающий, что Li все еще присутствует на ферме (данные не представлены). Средние концентрации скатола и индола составляли 0,07 мкг/г и 0,02 мкг/г соответственно, что на 68 и 78% меньше, чем до вакцинации. Ни один из образцов не превысил сенсорный порог (см. фигуру).

Скатол, побочный продукт микробного расщепления триптофана в кишечнике, имеет сильный специфический запах. Нерасщепленный скатол, отложившийся в жире, был повышен. Однако вакцинация против инфекции, вызванной Li, улучшила клинические симптомы, а также специфический запах свинины. Авторы изобретения предполагают, что инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis*, может привести к повышению аномальной ферментации или повышению кишечной абсорбции, что вызвало повышенную выработку скатола в кишечнике.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предотвращения появления специфического запаха свинины у животного, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной композиции, содержащей антиген *Lawsonia intracellularis*, в котором животное представляет собой свинью, в котором антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитую *Lawsonia intracellularis* или модифицированную живую *Lawsonia intracellularis* и в котором иммуногенная композиция представляет собой вакцину.

2. Способ по п.1, в котором иммуногенная композиция содержит от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу или количество от 100 до 800 мкг убитой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

3. Способ по п.1 или 2, в котором модифицированная живая *Lawsonia intracellularis* представляет собой авирулентный изолят или *Lawsonia intracellularis* является аттенуированной.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором иммуногенная композиция содержит от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID50 модифицированной живой *Lawsonia intracellularis* на дозу.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором у животного присутствует кишечная инфекция.

6. Способ по любому из пп.1-5, в котором у животного присутствует кишечная инфекция, вызванная *Lawsonia intracellularis*.

7. Способ по любому из пп.1-6, в котором скатол представляет собой 3-метилиндол.

8. Способ по любому из пп.1-7, в котором концентрация скатола и/или индола снижена в кишечнике, жире, мышцах, мясе или ткани печени.

9. Способ по любому из пп.1-8, в котором указанный способ уменьшает специфический запах свинины или неприятный запах кабана.

10. Способ по любому из пп.1-9, в котором указанный способ снижает клинические признаки инфекции, вызванной *Lawsonia intracellularis*.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором иммуногенная композиция вводится животному в возрасте от одного дня и старше.

12. Способ по любому из пп.1-11, в котором иммуногенная композиция дополнительно содержит ветеринарно приемлемый носитель.

13. Способ по любому из пп.1-12, в котором иммуногенную композицию вводят однократно или в двух дозах.

14. Способ по любому из пп.1-13, в котором иммуногенную композицию вводят внутримышечно, подкожно, интраназально или перорально.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2