

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491104 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.06.20

(22) Дата подачи заявки
2022.10.28

(51) Int. Cl. *A61K 39/02* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 39/112 (2006.01)
A61K 39/116 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(54) ИММУНОГЕННЫЕ ГЕЛЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ

(31) 63/263,360; 63/264,615; 63/266,984

(32) 2021.11.01; 2021.11.29; 2022.01.21

(33) US

(86) PCT/IB2022/060403

(87) WO 2023/073640 2023.05.04

(71) Заявитель:
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
Хэнсон Дэниел Брайан, Нерем Джозэл
Ли, Лейте Фернанду Лопес Лейвас,
Растволд Джастин Хауард, Спонхейм
Аманда Мари (US)

(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)

(57) Иммуногенные гелевые композиции для перорального введения и способы иммунизации животных, включающие введение животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения.

A1

202491104

202491104

A1

ИММУНОГЕННЫЕ ГЕЛЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ

5 **Уровень техники**

Lawsonia (L.) intracellularis, возбудитель пролиферативной энтеропатии свиней («РРЕ»), поражает практически всех животных, включая кроликов, хорьков, хомяков, лисиц, лошадей и других животных, столь же разнообразных, как страусы и эму. *L. intracellularis* является наиболее распространенным кишечным патогеном свиней во всем мире и вызывает значительные потери в свиноводстве во всем мире.

10 Вакцины против *L. intracellularis*, одобренные для использования в США и Европе (торговая марка Enterisol® Peitis), основаны на живых аттенуированных изолятах *L. intracellularis*, описанных в WO96/39629 A1 и WO2005/011731 A1.

Также были описаны вакцины с убитыми *L. intracellularis*, например, в WO2009144088

15 A2, WO97/20050 A1 и WO2002/26250 A2.

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis* (SC) и *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* (ST) были идентифицированы как первичные возбудители у свиней. ST является основной причиной энтеритов и субклинических

20 производственных потерь свиней при выращивании или на откорме, а также способствует загрязнению окружающей среды и туш животных. Из-за зоонозного потенциала во всем мире были созданы интервенционные программы по ST, направленные на снижение заражения туш животных с конечной целью снижения случаев сальмонеллеза у людей.

Сальмонеллезные инфекции традиционно лечат с использованием вакцин против SC,

25 например, невирулентной вакцины живой культуры *Salmonella Choleraesuis* ENTERISOL SC-54® (Boehringer Ingelheim). Этот продукт описан в патентах США US 5,436,001 и US 5,580,557, оба включены в данный документ посредством ссылки.

Изоляты *Salmonella Typhimurium* включают *Salmonella Typhimurium* 421/125 немецкой фармацевтической компании Impfstoffwerk Dessau-Tornau (IDT). Этот изолят

30 используется в качестве активного ингредиента SALMOPORC, живой вакцины против сальмонеллы, продаваемой компанией Ceva (Ceva Santé Animale). Предпочтительный ST настоящего изобретения описан в DE 2843295 и его эквиваленте в патенте US 3,856,935, оба включены сюда посредством ссылки.

Кроме того, существует живая вакцина *Salmonella Choleraesuis-Typhimurium* (Enterisol[®] Salmonella T/C), которая содержит как *Salmonella Choleraesuis*, так и *Salmonella Typhimurium*.

5 Как живые вакцины *Lawsonia intracellularis* (такие как Enterisol[®] Peitis), так и живые вакцины *Salmonella* (такие как ENTERISOL SC-54[®]) вводят перорально путем промывания полости рта или с питьевой водой.

Однако традиционное пероральное введение капель требует индивидуального обращения со свиньями, что требует больших трудозатрат и вызывает стресс у свиней. Поросят, которые еще не пьют воду, не вакцинируют с помощью введения с питьевой водой, и вакцинация с использованием питьевой воды невозможна до отлучения от свиноматки. Кроме того, введение питьевой воды включает в себя множество этапов. Однако, как правило, для эффективной защиты животных необходима ранняя вакцинация. Что касается живых бактериальных вакцин, антибиотики могут снижать эффективность указанной живой бактериальной вакцины. Поэтому было бы полезно вакцинировать животных как можно скорее после рождения, вакцинировать животных в окне, свободном от лекарств (вакцинация в то время, когда большинство свиней не получают противомикробные препараты) в подсосный период.

10 Кроме того, свиноводческая отрасль США страдает от серьезной нехватки рабочей силы, что отрицательно сказывается на фермах и перерабатывающих предприятиях (см. <https://nppc.org/issues/issue/agriculture-labor-issues/>).

20 Таким образом, существует потребность в более ранних и более эффективных способах вакцинации с меньшими затратами на индивидуальное обращение с животными, сокращением трудозатрат и снижением стресса для животных.

Описание изобретения

25 Прежде чем описывать аспекты настоящего изобретения, необходимо отметить, что при использовании в настоящем документе и в прилагаемой Формуле изобретения формы единственного числа включают ссылку на множественное число, если только контекст явно не диктует иное. Таким образом, например, ссылка на «антиген» включает множество антигенов, ссылка на «вирус» представляет собой ссылку на один или несколько вирусов и их эквивалентов, известных специалистам в данной области, и так далее. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в области техники, к которой принадлежит это изобретение. Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, могут быть

использованы на практике или в тестировании настоящего изобретения, далее описаны предпочтительные способы, устройства и материалы. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены сюда посредством ссылки с целью описания и раскрытия клеточных линий, векторов и методологий, указанных в публикациях, которые могут
5 быть использованы в связи с изобретением. Ничто здесь не должно быть истолковано как признание того, что изобретение не имеет права предшествовать такому раскрытию из-за предшествующего изобретения.

Настоящее изобретение решает проблемы, присущие предшествующему уровню техники, и обеспечивает явный прогресс в уровне техники. В целом, настоящее
10 изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, содержащую антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* и гелевую композицию, подходящую для перорального введения.

Предпочтительно, экспериментальные данные, представленные в настоящем документе, показывают, что животные потребляли гелевые композиции вакцины.
15 Усвоение живой вакцины *Lawsonia intracellularis* и гелевой вакцины *Salmonella* было даже выше, чем при обычном пероральном применении. Кроме того, гелевые композиции вакцины были столь же эффективны, как и традиционные способы применения.

Однако предпочтительно, чтобы животные были вакцинированы раньше по времени, в течение периода отсутствия лекарств (в подсосный период), при этом отсутствовало или уменьшалось индивидуальное обращение со свиньями и снижался стресс для
20 животных.

Термин «гель» хорошо известен специалисту в данной области. Кроме того, термин «гель» более подробно определен ниже. Кроме того, подходящие гели известны
25 специалистам в данной области и коммерчески доступны, например, гель Underline[®] (Animal Science Products, Nacogdoches, TX).

Термин «иммуногенная композиция» относится к композиции, которая содержит по меньшей мере один антиген, который вызывает иммунологический ответ у хозяина, которому вводят иммуногенную композицию. Такой иммунологический ответ может
30 представлять собой клеточный и/или антитело-опосредованный иммунный ответ на иммуногенную композицию согласно изобретению. Предпочтительно иммуногенная композиция индуцирует иммунный ответ и, более предпочтительно, обеспечивает защитный иммунитет против одного или нескольких клинических признаков инфекции, вызванной патогеном животного. Хозяина также называют «животным».

Обычно «иммунологический ответ» включает, помимо прочего, один или несколько из следующих эффектов: продукцию 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 согласно изобретению. Предпочтительно, чтобы у животного-хозяина проявлялся либо защитный иммунологический ответ, либо терапевтический ответ.

«Защитный иммунологический ответ» или «защитный иммунитет» будет демонстрироваться либо снижением, либо отсутствием клинических признаков, обычно проявляющихся у инфицированного хозяина, более быстрым временем выздоровления и/или снижением продолжительности инфекционности или снижением титра возбудителя в тканях или жидкостях организма или выделениях инфицированного хозяина.

В случае, когда хозяин проявляет защитный иммунологический ответ, такой, что устойчивость к новой инфекции будет повышена и/или клиническая тяжесть заболевания будет снижена, иммуногенная композиция описывается как «вакцина».

Используемый в данном документе термин «антиген» относится, помимо прочего, к компонентам, которые вызывают иммунологический ответ у хозяина на интересующую иммуногенную композицию или вакцину, содержащую такой антиген или его

иммунологически активный компонент. 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 у хозяина иммунологический ответ. Антиген может представлять собой или может содержать полноценные живые организмы либо в

исходной форме, либо в виде аттенуированных организмов в так называемой модифицированной живой вакцине (MLV). Антиген может дополнительно содержать соответствующие элементы указанных организмов (субъединичные вакцины), при этом эти элементы генерируются либо путем разрушения всего организма, либо ростовых культур таких организмов и последующих стадий очистки, дающих желаемую(ые)

структуру(ы), либо путем синтетических процессов, индуцированных соответствующим манипулированием подходящей системой, такой как бактерии, насекомые, млекопитающие или другие виды, но не ограничиваясь ими, и, необязательно, последующими процедурами выделения и очистки или индукцией указанных синтетических процессов у животного, нуждающегося в вакцине, прямым

включением генетического материала с использованием подходящих фармацевтических композиций (полинуклеотидная вакцинация). Антиген может включать целые организмы, инактивированные соответствующими методами, в так называемой убитой вакцине (KV). Если организм представляет собой бактерию, убитая вакцина называется бактерином.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает антиген *Lawsonia intracellularis* и гелевую композицию, подходящую для перорального применения.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает антиген *Salmonella spp.* и гелевую композицию, подходящую для перорального применения.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает антиген *Lawsonia intracellularis* и антиген *Salmonella spp.* и гелевую композицию, подходящую для перорального применения.

Преимущественно, экспериментальные данные, представленные в настоящем документе, показывают, что антиген *Lawsonia intracellularis* и антиген *Salmonella* могут быть объединены при введении в гелевой композиции (взаимодействия не наблюдалось).

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* представляют собой цельноклеточные бактерии.

Антиген *Lawsonia*

Термин "*Lawsonia intracellularis*" известен специалисту в данной области. *Lawsonia intracellularis* представляет собой возбудитель пролиферативной энтеропатии свиней ("PPE").

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой убитые *Lawsonia intracellularis* или модифицированные живые *Lawsonia intracellularis*.

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

Вакцины с убитыми *L. intracellularis* описаны в WO2009144088 A2, WO97/20050 A1 и WO2002/26250 A2.

Для целей настоящего изобретения можно использовать любой традиционный метод инактивации. Таким образом, инактивация может быть осуществлена химическими и/или физическими обработками, которые известны специалисту в данной области.

Предпочтительные способы инактивации включают добавление циклизированного бинарного этиленимина (ВЕI), включая добавление раствора гидробромида 2-бромэтиленамина (ВЕА), который был циклизирован до бинарного этиленимина (ВЕI). Предпочтительные дополнительные агенты химической инактивации включают, помимо прочего, Тритон X-100, дезоксихолат натрия, бромид цетилтриметиламмония, β-пропиолактон, тимеросал, фенол и формальдегид (формалин). Однако инактивация может также включать этап нейтрализации. Предпочтительные нейтрализующие агенты включают, помимо прочего, тиосульфат натрия, бисульфит натрия и т.п. Предпочтительные условия инактивации формалином включают концентрацию формалина в диапазоне от примерно 0,02% (об./об.) до 2,0% (об./об.), более предпочтительно от примерно 0,1% (об./об.) до 1,0% (об./об.), еще более предпочтительно примерно от 0,15% (об./об.) до 0,8% (об./об.), еще более предпочтительно примерно от 0,16% (об./об.) до 0,6 % (об./об.) и наиболее предпочтительно примерно от 0,2% (об./об.) до 0,4% (об./об.). Время инкубации зависит от резистентности патогена (возбудителя). Обычно процесс инактивации проводят до тех пор, пока в подходящей системе культивирования не перестанет обнаруживаться рост патогена.

Предпочтительно, чтобы инактивированные *Lawsonia intracellularis* были инактивированы формалином, предпочтительно с использованием концентраций, описанных выше.

Предпочтительные условия инактивации β-пропиолактоном включают концентрацию β-пропиолактона в пределах примерно от 0,005% (об./об.) до 4,0% (об./об.) и более предпочтительно примерно от 0,05% (об./об.) до 2,0% (об./об.). Время инкубации зависит от резистентности патогена (возбудителя). Обычно процесс инактивации проводят до тех пор, пока в подходящей системе культивирования не перестанет обнаруживаться рост патогена.

Предпочтительно, инактивированные *Lawsonia intracellularis* инактивируются 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 еще более предпочтительно от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Lawsonia intracellularis* на дозу.

Предпочтительно, иммуногенная композиция содержит количество от 25 до 2000 мкг убитых *Lawsonia intracellularis* на дозу, более предпочтительно количество от 50 до

1000 мкг убитых *Lawsonia intracellularis* на дозу и еще более предпочтительно количество от 100 до 800 мкг убитых *Lawsonia intracellularis* за дозу.

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

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой модифицированные живые *Lawsonia intracellularis*.

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой невирулентный изолят *Lawsonia intracellularis* или аттенуированные *Lawsonia intracellularis*.

Термин «аттенуированный» относится к патогену, имеющему пониженную вирулентность. В настоящем изобретении «аттенуация» является синонимом «авирулентного (невирулентного)» или «модифицированного живого». В настоящем изобретении аттенуированный (ослабленный) патоген животного (такой как *Lawsonia intracellularis* или *Salmonella spp.*) представляет собой патоген, у которого

вирулентность снижена так, что он не вызывает клинических признаков инфекции, вызванной патогеном животного (таким как *Lawsonia intracellularis* или *Salmonella spp.*), но способен индуцировать иммунный ответ у целевого животного, но может также означать, что частота или тяжесть клинических признаков снижается у

животных, инфицированных аттенуированным патогеном животного, по сравнению с «контрольной группой» животных, инфицированных не-аттенуированным патогеном животного и не получающий аттенуированные бактерии. В этом контексте термин «снижает/снижал» 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%, еще более предпочтительно на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с контрольной группой, как определено выше.

Таким образом, аттенуированный авирулентный штамм или изолят патогена животного представляет собой штамм, который пригоден для включения в иммуногенную композицию, содержащую модифицированный живой патоген животного.

Патогенные и непатогенные аттенуированные штаммы бактерий *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, WO 96/39629 описывает получение аттенуированных штаммов бактерий *L. intracellularis* и депонированного штамма ATCC 55783.

WO 05/011731 описывает получение аттенуированных штаммов бактерий *L. intracellularis* и депонированного штамма РТА-4926.

5 В одном аспекте настоящего изобретения невирулентный изолят представляет собой РТА-4926 или ATCC 55783.

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Lawsonia intracellularis* или невирулентный изолят *Lawsonia intracellularis* или аттенуированные *Lawsonia intracellularis* представляют собой антиген или изолят в Enterisol® Peitis. В основном Enterisol® Peitis вводят свиньям в возрасте трех недель или старше.

10 Рекомендуемая доза для введения восприимчивому животному предпочтительно составляет от примерно 3,0 TCID₅₀ (конечная точка 50% инфекционной дозы для тканевой культуры)/дозу до примерно 9,0 TCID₅₀/дозу и более предпочтительно от примерно 4,0 TCID₅₀/дозу до примерно 7,0 TCID₅₀/дозу.

15 В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID₅₀ модифицированных живых *Lawsonia intracellularis* на дозу.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 4,0 до примерно 7,0 TCID₅₀ модифицированных живых *Lawsonia intracellularis* на дозу.

20 Термин «на дозу», используемый в данном документе, означает, что это доза на животного. Однако иммуногенная гелевая композиция включает несколько доз, если иммуногенная гелевая композиция предназначена для введения нескольким животным в хлеве или помещении для содержания животных. Следовательно, если в хлеве находятся, например, 10 животных, подлежащих вакцинации, иммуногенная композиция должна будет содержать 10 доз. Предпочтительно, чтобы иммуногенная гелевая композиция содержала даже большее количество доз, например, 11, 12, 15 или 20 доз, чтобы гарантировать, что каждое животное получит соответствующую дозу.

Антиген *Salmonella*

30 Термин "*Salmonella* spp." известен специалисту в данной области. *Salmonella Choleraesuis* (SC) и *Salmonella enterica ser Typhimurium* (ST) были идентифицированы как основные причины энтерита и субклинических производственных потерь свиней при выращивании или на откорме. Клинический сальмонеллез свиней можно условно

разделить на сепсис, вызванный *S. Choleraesuis*, и энтероколит, связанный с *S. Typhimurium*.

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Salmonella spp.* представляет собой убитые *Salmonella spp.* или модифицированные живые *Salmonella spp.*

5 В одном аспекте настоящего изобретения указанная *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella Choleraesuis* и/или *Salmonella Typhimurium*.

В одном аспекте настоящего изобретения указанная *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis* и/или *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*.

10 В одном аспекте настоящего изобретения убитая *Salmonella spp.* представляет собой цельноклеточную убитую *Salmonella spp.*

Обычные способы инактивации были определены выше.

В одном аспекте настоящего изобретения *Salmonella spp.* представляет собой цельноклеточную убитую *Salmonella spp.*

15 В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает от 10^6 до 10^{10} убитых клеток *Salmonella spp.* на дозу или количество от 100 до 800 мкг убитых *Salmonella spp.* на дозу.

В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Salmonella spp.* представляет собой модифицированные живые *Salmonella spp.*

20 В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Salmonella spp.* представляет собой невирулентный изолят *Salmonella spp.* или аттенуированные *Salmonella spp.*

Термин “аттенуированный” определен выше.

Непатогенные аттенуированные штаммы бактерий *Salmonella Choleraesuis* и *Salmonella Typhimurium* хорошо известны из уровня техники.

25 Штаммы *Salmonella Choleraesuis* описаны в US 5,436,001 и US 5,580,557. Кроме того, коммерчески доступна невирулентная живая культура *Salmonella Choleraesuis* (ENTERISOL SC-54[®], Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.).

Изоляты *Salmonella Typhimurium* включают *Salmonella Typhimurium* 421/125 немецкой фармацевтической компании Impfstoffwerk Dessau-Tornau (IDT). Этот изолят

30 используется в качестве активного ингредиента SALMOPORC, живой вакцины против сальмонеллы, продаваемой в Европе компанией IDT Biologika GmbH.

Предпочтительный ST настоящего изобретения описан в DE 2843295 и его эквиваленте в патенте US 3,856,935, оба включены сюда посредством ссылки.

Кроме того, существует коммерчески доступная живая вакцина *Salmonella Choleraesuis-Typhimurium* (Enterisol[®] *Salmonella* T/C), которая включает как *Salmonella Choleraesuis*, так и *Salmonella Typhimurium*.

5 В одном аспекте настоящего изобретения антиген *Salmonella spp.* или невирулентный изолят *Salmonella Choleraesuis* и/или *Salmonella Typhimurium* представляет собой антиген или изолят в ENTERISOL SC-54[®] и/или SALMOPORC и/или Enterisol[®] *Salmonella* T/C.

В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 1×10^3 до примерно 1×10^{12} КОЕ *Salmonella spp.* на дозу.

10 В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 1×10^5 до примерно 1×10^{10} КОЕ *Salmonella spp.* на дозу.

Гелевая композиция

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция является вязкой.

15 В некоторых аспектах настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость по меньшей мере примерно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800 сПз (мПа·с) или выше.

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость по меньшей мере 150 мПа·с (по меньшей мере 150 сП).

20 В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость по меньшей мере 100 мПа·с (по меньшей мере 100 сП).

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость по меньшей мере 50 мПа·с или по меньшей мере 50 сП. В другом аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость от 50 сП (50 мПа·с) до 150 сП (150 мПа·с). В еще одном другом аспекте настоящего изобретения гелевая композиция

25 имеет вязкость от 50 сП (50 мПа·с) до 350 сП (350 мПа·с).

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость по меньшей мере 25 мПа·с или по меньшей мере 25 сП. В другом аспекте настоящего изобретения гелевая композиция имеет вязкость от 25 сП (25 мПа·с) до 150 сП (150 мПа·с). В еще одном другом аспекте настоящего изобретения гелевая композиция

30 имеет вязкость от 25 сП (25 мПа·с) до 350 сП (350 мПа·с).

Единица измерения вязкости представляет собой Па·с (паскаль-секунда) или мПа·с (миллипаскаль-секунда). Традиционная единица измерения — сП (сантипуаз).

Сантипуаз – это одна миллипаскаль-секунда ($1 \text{ сП} = 10^{-3} \text{ Па}\cdot\text{с} = 1 \text{ сПа}\cdot\text{с}$).

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду и/или агент, усиливающий адгезию, и/или агент, регулирующий pH, и/или стабилизатор.

В некоторых аспектах настоящего изобретения указанные композиции, содержащие агент, усиливающий адгезию, являются вязкими.

5 В одном аспекте агент, усиливающий адгезию, представляет собой поливинилпирролидон. В других аспектах агент, усиливающий адгезию, представляет собой гидрофильный полимер или сополимер, который является линейным или разветвленным, сшитым, не является биоразлагаемым или выбран из группы, состоящей из ксантана, гуара, пектинов, камеди, производных гуара, хитозана, 10 декстрана, мальтодекстрина, каррагинанов, крахмала, полиэтиленгликоля, альбумина, эфиров целлюлозы, гиалуроновой кислоты, карбоксиметилгидроксиэтилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, желатина, винилацетатов, сополимеров поливинилпирролидона и винилацетата, поливиниловых спиртов, полифосфоэфиров, сополимеров N-(2-гидроксиптопил)метакриламида (HPMA), полиакриловых кислот, 15 полиакриламидов, полиоксазолинов, дивиниловый эфир-малеинового ангидрида, полифосфазенов, включая производные и заменители и соли любого из вышеперечисленного, и их комбинации. В другом аспекте агент, усиливающий адгезию, представляет собой целлюлозу, которая включает одну или несколько из гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMC), гидроксипропилцеллюлозы (HPC), 20 гидроксипропилцеллюлозы (HEC) и карбоксиметилцеллюлозы (CMC) и их солей. В некоторых аспектах агент, усиливающий адгезию, находится в конечной концентрации (мас./об.) примерно 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 25 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48% или 49%, или любых диапазонах между ними, включая, например, от примерно 0,5% до 15% мас./об., от примерно 0,5% до 10% мас./об., от примерно 0,5% до 5% мас./об., от примерно 0,5% до 2% мас./об.

В одном аспекте агент, усиливающий адгезию, находится в конечной концентрации 30 (мас./об.) от примерно 0,5% до 15% мас./об.

В некоторых аспектах агент, усиливающий адгезию, представляет собой гидрофильный полимер или сополимер, который является линейным или разветвленным, сшитым и/или не биоразлагаемым. Подходящие агенты, усиливающие адгезию, включают поливинилпирролидон, сополимеры поливинилпирролидона и винилацетата, воски,

минеральное масло, пластигель (смесь минерального масла и полиэтилена), вазелин, белый вазелин, шеллак, версагель (смесь жидкого парафина, бутен этилен/стирол гидрированного сополимера), полиэтиленовые воски, микрокристаллические воски, полиизобутен, сополимеры поливинилпирролидона и винилацетата и нерастворимые сополимеры полиакрилата, ксантан, гуар, пектины, камеди, производные гуара, хитозан, декстран, мальтодекстрин, каррагинаны, крахмал, полиэтиленгликоль, альбумин, эфиры целлюлозы, гиалуроновую кислоту, карбоксиметилгидроксиэтилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, желатины, винилацетаты, сополимеры поливинилпирролидона и винилацетата, поливиниловые спирты, полифосфоэфиры, сополимеры N-(2-гидроксипропил)метакриламида (HPMA), полиакриловые кислоты, полиакриламиды, полиоксазолины, дивиниловый эфир-малеиновый ангидрид, полифосфазены, включая производные и заменители, и их комбинации.

Предпочтительно агент, усиливающий адгезию, представляет собой мальтодекстрин и/или целлюлозу и/или крахмал и/или камедь.

В одном аспекте агент, усиливающий адгезию, представляет собой усилитель адгезии на основе крахмала или целлюлозы.

«Агент, регулирующий pH», обычно добавляют для доведения pH композиции до желаемого значения. Желательные значения pH составляют от примерно 6 до примерно 8. Таким образом, композиции по настоящему изобретению могут быть составлены таким образом, чтобы иметь значение pH в диапазоне от примерно 6 до примерно 8 или от примерно 6,5 до примерно 7,5. Подходящие агенты для регулирования pH включают, не ограничиваясь перечисленными, одну или несколько адипиновых кислот, глицины, лимонные кислоты, гидроксиды кальция, алюмометасиликаты магния, динатрийфосфат, фосфат натрия, фосфат калия, хлорид калия, цитрат натрия, лактат кальция, сукцинат натрия, глутамат натрия, бикарбонат натрия и бикарбонат калия и их комбинации.

Используемый в данном документе термин «стабилизатор» представляет собой агент, который помогает стабилизировать активный агент в композиции. Стабилизатор включает, помимо прочего, восстановители. Стабилизаторы, которые можно использовать, включают тиосульфат натрия, метабисульфит натрия, бисульфит натрия, сульфит натрия, диоксид серы, бисульфит аммония и тиосульфат аммония.

Предпочтителен тиосульфат натрия, поскольку он обладает высокой нейтрализующей способностью и считается безопасным и некоррозионно-активным веществом.

Термин «стабилизатор» также включает хелатирующие агенты. Хелатирующие агенты необязательно добавляют к композициям описываемого изобретения для усиления консерванта или консервирующей системы. Предпочтительными хелатирующими агентами являются мягкие агенты, такие как, например, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), производные ЭДТА или любая их комбинация.

5
10
Подходящие стабилизаторы или консерванты для использования в композициях по настоящему изобретению включают, помимо прочего, один или несколько алканолов, динатрий ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), соли ЭДТА, конъюгаты ЭДТА с жирными кислотами, изотиазолинон, парабены, такие как метилпарабен и пропилпарабен, пропиленгликоли, сорбаты, производные мочевины, такие как диазолиндинилмочевина, или любые их комбинации.

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду, агент, усиливающий адгезию, и стабилизатор.

15
В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду, агент, усиливающий адгезию, и стабилизатор и агент, регулирующий pH.

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция дополнительно содержит ароматизатор и/или краситель.

20
Термин «краситель» также может использоваться в композициях по описанному изобретению для предоставления визуальных сигналов пороссятам и/или визуальной проверки для лиц, осуществляющих уход за животными, что композиция присутствует, равномерно нанесена и надлежащим образом прилипает. Красители хорошо известны специалисту в данной области и включают пигменты или красители или их комбинацию. Подходящие красители включают, помимо прочего, красители FD&C, такие как FD&C Blue No. 1, FD&C Blue No. 2, FD&C Green No. 3, Orange B, Citrus
25 FD&C Red No. 2, FD&C Red No. 2, FD&C Red No. 3. FD&C Red No.40, FD&C Yellow No. 5 и FD&C Yellow No.6.

30
Термин «ароматизатор», используемый в данном документе, относится к одному или нескольким соединениям или смесям, которые улучшают вкусовые качества и/или вкус для животных или свиней. Ароматизаторы хорошо известны специалисту в данной области. Ароматизаторы включают, помимо прочего, питательные и некалорийные подсластители, вкусоароматические добавки, побочные продукты и альтернативные ингредиенты. В качестве примера подходящие ароматизаторы включают, помимо прочего, сахарозу, глюкозу, сахарин натрия, цикламат натрия, ксилит, периллартиен, сукралозу, D-триптофан, аспартам, дигидрохалконы и т.п., искусственные фруктовые

ароматизаторы (например, клубничный ароматизатор), белок плазмы (например, высушенный распылением белок плазмы), сырнющие и сыроподобные ароматизаторы, сухое молоко, шоколад и шоколадные субпродукты.

5 В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, целлюлозу, камедь и стабилизатор, предпочтительно стабилизатор представляет собой пропиленгликоль.

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, акациевую камедь и пропиленгликоль.

10 В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, водостабилизирующие соединения, акациевую камедь, пропиленгликоль и искусственные красители.

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

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

«Разбавитель» может включать воду, физиологический раствор, декстрозу, этанол, глицерин и т.п. Изотонические агенты могут включать, среди прочего, хлорид натрия, декстрозу, маннит, сорбит и лактозу. Стабилизаторы включают, среди прочего, альбумин и щелочные соли этилендиаминтетрауксусной кислоты.

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

В одном аспекте настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель представляет собой фосфат-забуференный солевой раствор.

25 Предпочтительно, иммуногенная композиция дополнительно содержит сахарозно-желатиновый стабилизатор.

Предпочтительно, иммуногенная композиция может дополнительно содержать один или несколько других иммуномодулирующих агентов, таких как, например, интерлейкины, интерфероны или другие цитокины. Количества и концентрации адъювантов и добавок, полезных в контексте настоящего изобретения, могут легко
30 определить квалифицированные специалисты.

В одном аспекте настоящего изобретения 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, стимуляторов иммунитета и их комбинаций.

В некоторых аспектах иммуногенная композиция по настоящему изобретению содержит адьювант. «Адьюванты», используемые в данном документе, могут включать

5 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 (марки для Европейской Фармакопеи); изопреноидное масло, такое

10 как сквалан или сквален; масло, полученное в результате олигомеризации алкенов, в частности изобутена или децена; сложные эфиры кислот или спиртов, содержащие линейную алкильную группу, более конкретно растительные масла, этилолеат, ди-(каприлат/капрат) пропиленгликоля, глицерина три-(каприлат/капрат) или пропиленгликоля диолеат; сложные эфиры разветвленных жирных кислот или спиртов,

15 в частности сложные эфиры изостеариновой кислоты. Масло используют в комбинации с эмульгаторами для образования эмульсии. Эмульгаторы предпочтительно представляют собой неионогенные поверхностно-активные вещества, в частности сложные эфиры сорбитана, маннида (например, олеат ангидроманнита), гликоля, полиглицерина, пропиленгликоля и олеиновой, изостеариновой, рицинолевой или

20 гидроксистеариновой кислоты, которые необязательно этоксилированы, и блоки сополимера полиоксипропилена-полиоксиэтилена, в частности продукты Pluronic, особенно L121. См. Hunter *et al.*, The Theory and Practice Application of Adjuvants (ред. Stewart-Tull, D.E.S.), JohnWiley and Sons, NY, стр. 51-94 (1995) и Todd *et al.*, Vaccine 15:564-570 (1997). Типичными адьювантами являются эмульсия SPT, описанная на

25 странице 147 книги “Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach” под редакцией М. Powell и М. Newman, Plenum Press, 1995, и эмульсия MF59, описанная на странице 183 той же книги.

Еще одним примером адьюванта является соединение, выбранное из полимеров акриловой или метакриловой кислоты и сополимеров малеинового ангидрида и

30 алкенильного производного. Преимущественными адьювантами являются полимеры акриловой или метакриловой кислоты, которые сшиты, в частности, полиалкениловыми эфирами сахаров или полиспиртов. Эти соединения известны под термином карбомер (Pharmеuropa том 8, No. 2, июнь 1996 г.). Специалисты в данной области техники могут также обратиться к патенту США № 2909462, в котором

описаны такие акриловые полимеры, сшитые полигидроксильированным соединением, имеющим по меньшей мере 3 гидроксильные группы, предпочтительно не более 8, при этом атомы водорода по меньшей мере трех гидроксильных групп заменены на ненасыщенные алифатические радикалы, имеющие по меньшей мере 2 атома углерода.

5 Предпочтительными радикалами являются радикалы, содержащие от 2 до 4 атомов углерода, например, винилы, аллилы и другие этиленненасыщенные группы.

Ненасыщенные радикалы сами могут содержать другие заместители, например, метил. Продукты, продаваемые под названием Carborol; (BF Goodrich, Ohio, USA), являются особенно подходящими. Они сшиты аллилсахарозой или аллилпентаэритритолом.

10 Среди них можно упомянуть Carborol 974P, 934P и 971P. Наиболее предпочтительным является использование Carborol 971P. К числу сополимеров малеинового ангидрида и алкенильного производного относятся сополимеры ЕМА (Monsanto), которые представляют собой сополимеры малеинового ангидрида и этилена. Растворение этих полимеров в воде приводит к образованию кислотного раствора, который будет
15 нейтрализован, предпочтительно до физиологического рН, чтобы получить раствор адьюванта, в который будет включена сама иммуногенная, иммунологическая или вакцинная композиция.

Дополнительные подходящие адьюванты включают, помимо прочего, адьювантную систему RIBI (Ribi Inc.), блок-сополимер (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron,
20 Emeryville CA), монофосфориллипид А, Авридин липид-аминный адьювант, термолабильный энтеротоксин из *E. coli* (рекомбинантный или другой), холерный токсин, IMS 1314 или мурамилдипептид, или встречающиеся в природе или рекомбинантные цитокины или их аналоги, или стимуляторы высвобождения эндогенных цитокинов, среди многих других.

25 Ожидается, что адьювант может быть добавлен в количестве от около 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, предпочтительно в количестве от около 100 мкг до примерно 10 мг на дозу, более предпочтительно в количестве около 500 мкг примерно до 5 мг на дозу, еще более предпочтительно в количестве примерно от 750 мкг до примерно 2,5 мг на дозу и наиболее предпочтительно в количестве примерно 1 мг на дозу.

30 Альтернативно, адьювант может находиться в концентрации примерно от 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% по объему 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-сополимера, SAF-M, монофосфориллипида А, Авридина липид-амин, термолабильного энтеротоксина из *E. coli* (рекомбинантный или другой), холерного токсина, IMS 1314, мурамилдипептида и их комбинаций.
- 5
- 10 В одном аспекте настоящего изобретения указанный ветеринарно-приемлемый носитель представляет собой эмульсию «вода в масле в воде» или карбомер. В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины.
- Требования касательно способа лечения
- 15 Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ иммунизации животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, содержащую антиген патогена животного и гелевую композицию, для перорального введения для применения в способе иммунизации животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества указанной иммуногенной гелевой композиции.
- 20
- 25 Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или предотвращения клинических признаков, вызванных патогеном животного у животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального применения. Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, содержащую антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения, для применения в способе лечения или профилактики клинических признаков, вызванных патогеном животного у животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества указанной иммуногенной гелевой композиции.
- 30

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ иммунизации животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.

- 5 Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, как описано в настоящем документе, для применения в способе иммунизации животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества указанной иммуногенной гелевой композиции.
- 10 Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или предотвращения клинических признаков, вызванных *Lawsonia intracellularis* и/или *Salmonella spp.* у животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.
- 15 Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, описанную в настоящем документе, для применения в способе лечения или профилактики клинических признаков, вызванных *Lawsonia intracellularis* и/или *Salmonella spp.* у животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества указанной иммуногенной гелевой
- 20 композиции.
- Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ уменьшения поражений кишечника у животного по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает введение указанному животному эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано
- 25 в данном документе.
- Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, описанную в настоящем документе, для применения в способе уменьшения поражений кишечника у животного по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида, причем способ включает
- 30 введение указанному животному терапевтически эффективного количества указанной иммуногенной гелевой композиции.
- Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает способ увеличения среднесуточного привеса животного по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной

группы того же вида, причем способ включает введение указанному животному эффективного количества иммуногенной гелевой композиции.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает иммуногенную гелевую композицию, описанную в настоящем документе, для применения в способе

5 увеличения среднесуточного привеса животного, причем способ включает введение указанному животному эффективного количества иммуногенной гелевой композиции.

Преимущественно экспериментальные данные, представленные в настоящем документе, показывают, что животные усваивали гелевые композиции вакцины.

10 Усвоение живых сальмонелл и антигена *Lawsonia intracellularis* из гелевой композиции вакцины было даже выше, чем при обычном пероральном способе введения жидкой лекарственной формы для перорального введения. Кроме того, гелевые композиции вакцины были столь же эффективны, как и традиционные способы применения.

15 Однако, преимущественно животные были вакцинированы раньше по времени, в течение периода отсутствия лекарственных препаратов (в подсосный период), с отсутствием или уменьшением индивидуального обращения со свиньями, с уменьшением трудозатрат и уменьшением стресса для животных.

20 Термин «профилактика» обычно включает введение эффективного количества иммуногенной гелевой композиции по настоящему изобретению животному или стаду животных, которые нуждаются или которые могли бы получить пользу от такого лечения/профилактики. Термин «лечение» относится к введению эффективного количества иммуногенной композиции после того, как животное или, по меньшей мере, некоторые животные стада уже инфицированы таким патогеном животного, и при этом у таких животных уже проявляются некоторые клинические признаки, вызванные или

25 связанные с заражением таким патогеном животного. Термин «профилактика» относится к введению животному до любого заражения такого животного патогеном животного происхождения 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 заражением таким патогеном животного. Термины

30 «предотвращение» и «лечение и/или профилактика» используются в данной заявке как взаимозаменяемые.

В настоящем документе термин «эффективное количество» означает в контексте композиции количество иммуногенной гелевой композиции, способной индуцировать иммунный ответ, который снижает частоту или уменьшает тяжесть инфекции или

заболеваемости у животного. Такое эффективное количество способно снизить частоту заражения конкретным патогеном животного в стаде или уменьшить тяжесть клинических признаков инфицирования конкретным патогеном животного. В частности, эффективное количество относится к дозе TCID₅₀. Альтернативно, в контексте терапии термин «эффективное количество» относится к количеству терапевтического средства, которое достаточно для уменьшения или облегчения тяжести или продолжительности заболевания или расстройства или одного или нескольких их симптомов, предотвращения развития заболевания или расстройства, вызывания регрессии заболевания или расстройства, предотвращения рецидива, развития, появления или прогрессирования одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, или усиления или улучшения профилактики или лечения другого терапевтического средства или терапевтического агента.

Термин «клинические признаки» инфекции *Lawsonia intracellularis*, используемый в настоящем документе, включает, помимо прочего, снижение среднесуточного привеса (ADWG), повышенную вариабельность привеса, повышенный коэффициент усвоения корма (коэффициент кормоотдачи), грубые поражения подвздошной кишки и/или тонкой и/или слепой и/или ободочной кишки, диарею, смерть, определяемую бактериальную нагрузку, выделение *Lawsonia intracellularis* или их комбинации.

Термин «клинические признаки» инфекции *Salmonella spp.*, используемый в настоящем документе, включает, помимо прочего, снижение среднесуточного привеса (ADWG), повышенную вариабельность привеса, повышенный коэффициент усвоения корма (коэффициент кормоотдачи), грубые поражения подвздошной кишки и/или тонкой и/или слепой и/или ободочной кишки, диарею, ухудшение состояния организма, депрессивное или вялое поведение, обнаруживаемую бактериальную нагрузку, выделение сальмонеллы или их комбинации.

Предпочтительно, частота или тяжесть клинических признаков снижается по меньшей мере на 10%, более предпочтительно по меньшей мере на 20%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с животными, которых либо не лечили, либо

лечили иммуногенной композицией, которая была доступна до настоящего изобретения, но впоследствии инфицированы конкретным патогеном животного. Однако «снижение частоты и/или тяжести клинических признаков» или «уменьшение клинических симптомов» означает, помимо прочего, уменьшение количества инфицированных животных в группе, уменьшение или устранение количества животных, проявляющих клинические признаки инфекции или снижение тяжести любых клинических признаков, присутствующих у одного или нескольких животных, по сравнению с инфекцией дикого типа.

5 В одном аспекте настоящего изобретения патоген животного представляет собой патоген свиней, лошадей или крупного рогатого скота.

В одном аспекте настоящего изобретения патоген животного представляет собой бактериальный патоген свиней или крупного рогатого скота.

В одном аспекте настоящего изобретения патоген животного представляет собой бактерию, вызывающую кишечные заболевания, или бактерию, вызывающую заболевания слизистых оболочек.

Бактерии, вызывающие кишечные заболевания, или бактерии, вызывающие заболевания слизистых оболочек, хорошо известны в данной области техники и, например, включают *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Lawsonia intracellularis* и *Brachyspira spp.*

В одном аспекте настоящего изобретения патоген животного представляет собой *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira spp.* или *Clostridium spp.*

В одном аспекте настоящего изобретения указанный антиген патогена животного представляет собой активный антиген слизистой оболочки или кишечника, или активную живую иммуногенную композицию для слизистой оболочки или кишечника, или активную живую вакцину для слизистой оболочки или кишечника.

25 Термин «активный антиген слизистой оболочки или кишечника» означает, что указанный антиген будет вызывать иммунный ответ в слизистой оболочке и/или эпителиальных клетках и/или энтероцитах или будет активировать иммунную систему слизистой оболочки или желудочно-кишечного тракта.

В одном аспекте настоящего изобретения указанный антиген патогена животного представляет собой активный антиген слизистой оболочки или кишечника свиней или крупного рогатого скота.

Термин «животное» предпочтительно относится к млекопитающим, таким как мыши, крысы, морские свинки, кролики, хомяки, свиньи, овцы, собаки, кошки, лошади,

обезьяны или крупный рогатый скот. Более предпочтительно животное представляет собой свинью.

Следует понимать, что термин «свинья» включает поросят, свиноматок, ремсвинок, хряков и т.п.

- 5 В одном аспекте настоящего изобретения животное представляет собой свинью, лошадь или крупный рогатый скот.
- В одном аспекте настоящего изобретения животное представляет собой свинью, поросенка, свиноматку или хряка.
- В одном аспекте настоящего изобретения животное представляет собой
- 10 новорожденного поросенка или поросенка до отлучения от свиноматки.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят животному в возрасте одного дня и старше, трех дней и старше, или одной недели и старше, или двухнедельного возраста и старше, или трехнедельного возраста и старше.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят
- 15 животному в возрасте одного дня и старше, трех дней и старше, или одной недели и старше, или двухнедельного возраста и старше.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят животному в возрасте от одной недели до трехнедельного возраста.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят
- 20 животному от 6-дневного до 20-дневного возраста.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят животному от 8-дневного до 18-дневного возраста или от 10-дневного до 16-дневного возраста.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция
- 25 дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят одной или двумя дозами.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят несколькими дозами.
- 30 Кроме того, было показано, что введение одной дозы иммуногенной гелевой композиции по настоящему изобретению является эффективным.
- В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенную гелевую композицию вводят пероральным и/или мукозальным путем.

Термин «применение» или «введение», используемый в настоящем документе, означает, что иммуногенную гелевую композицию вводят животным опосредованно. Иммуногенную гелевую композицию применяют непосредственно где-нибудь в хлеве или в помещении для содержания животных, чтобы позволить указанному животному
5 потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию. Иммуногенную гелевую композицию можно также применять к животному-матке, чтобы позволить указанному животному потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

Преимуществом этого способа является то, что животных вакцинируют раньше по времени, в пределах окна, свободного от лекарств (в подсосный период), при
10 отсутствии или уменьшении индивидуального ухода за свиньями, уменьшении трудозатрат и уменьшении стресса для животных.

Предпочтительно используют аппликатор или дозатор для перорального введения. Предпочтительно используют аппликатор или дозатор для перорального введения объемом 60 мл, 120 мл или больше. Использование такого аппликатора или дозатора
15 для перорального введения позволяет легко наносить определенные количества иммуногенной гелевой композиции на животное (например, на линию живота) или в хлеву (например, на подстилку).

В одном аспекте настоящего изобретения способ включает применение иммуногенной гелевой композиции в хлеве или помещении для содержания животных, чтобы
20 позволить указанному животному потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

Следует понимать, что иммуногенная гелевая композиция может быть помещена в любое место в среде обитания животных или внутри хлева, что позволяет указанному животному потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

В одном аспекте настоящего изобретения способ включает нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на линию живота матки или вымя животного-матки, на подстилку внутри хлева или в чашку или сосуд внутри хлева.

Предпочтительно иммуногенную гелевую композицию наносят на подстилку.

Нанесение иммуногенной гелевой композиции на подстилку является
30 предпочтительным, поскольку обращение с ней происходит легко и быстро, без необходимости индивидуального обращения со свиньями, что снижает трудозатраты и снижает стресс для животных.

В одном аспекте настоящего изобретения способ включает нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на подстилку внутри хлева.

В одном аспекте настоящего изобретения способ включает местное применение иммуногенной гелевой композиции к животному-матке и предоставление возможности новорожденному животному или животному до отъема от матки потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

5 В одном аспекте настоящего изобретения способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на нижнюю линию живота матки или при этом способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на по меньшей мере один сосок матки.

В одном аспекте настоящего изобретения матка представляет собой свинью.

10 В одном аспекте настоящего изобретения новорожденное животное представляет собой новорожденного поросенка.

В одном аспекте настоящего изобретения животное до отъема от матки представляет собою поросенка до отъема от свиноматки.

15 В одном аспекте настоящего изобретения указанный способ приводит к улучшению параметра эффективности, выбранного из группы, состоящей из: снижения потери веса, снижения бактериальной нагрузки, уменьшения поражений кишечника, уменьшения поражений толстой кишки, уменьшения поражений подвздошной и/или тонкой кишки, снижение выделения патогена, уменьшение диареи или их комбинации по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида.

20 Предпочтительно, указанные поражения означают макроскопические и/или микроскопические поражения.

Термин «снижение» или «уменьшение» означает, что частота и/или тяжесть конкретных клинических признаков снижается по меньшей мере на 10%, предпочтительно по меньшей мере на 20%, более предпочтительно по меньшей мере на 25 30%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 60%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 70%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 95% и наиболее предпочтительно на 100% по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида.

30 В одном аспекте настоящего изобретения иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины.

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

В одном аспекте настоящего изобретения гелевая композиция представляет собой гелевую композицию, описанную в данном документе.

- 5 Кроме того, настоящее изобретение предлагает подстилку, содержащую гелевую композицию, как описано в настоящем документе.

Описание

Описание дополнительно включает:

- 10 иммуногенную гелевую композицию, содержащую антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* и гелевую композицию, подходящую для перорального применения.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанный антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* представляют собой цельноклеточную бактерию.

- 15 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанный антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой модифицированные живые *Lawsonia intracellularis*.

- 20 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанный антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой невирулентный изолят *Lawsonia intracellularis* или аттенуированные *Lawsonia intracellularis*.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная иммуногенная гелевая композиция содержит от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID₅₀ модифицированных живых *Lawsonia intracellularis* на дозу.

- 25 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанный антиген *Salmonella spp.* представляет собой модифицированные живые *Salmonella spp.*

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella Choleraesuis* и/или *Salmonella Typhimurium*.

- 30 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis* и/или *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium*.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная иммуногенная гелевая композиция содержит от примерно 1×10^5 до примерно 1×10^{10} КОЕ *Salmonella spp.* на дозу.

5 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция является вязкой или имеет вязкость по меньшей мере 50 мПа·с или по меньшей мере 50 сП.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция содержит воду и/или агент, усиливающий адгезию, и/или агент, регулирующий рН, и/или стабилизатор.

10 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция содержит воду, агент, усиливающий адгезию, и стабилизатор.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция дополнительно содержит ароматизатор и/или краситель.

15 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, целлюлозу, камедь и стабилизатор, предпочтительно стабилизатором является пропиленгликоль.

20 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, акациевую камедь и пропиленгликоль.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, водостабилизирующие соединения, акациевую камедь, пропиленгликоль и искусственный краситель.

25 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная иммуногенная гелевая композиция дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель.

30 В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанная иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины.

В любом из представленных выше описаний иммуногенной гелевой композиции указанное

Описание дополнительно включает:

Способ иммунизации животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения.

5 Описание дополнительно включает:

Способ лечения или профилактики клинических признаков, вызванных патогеном животного, у животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения.

10

Описание дополнительно включает:

Способ иммунизации животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.

15 Описание дополнительно включает:

Способ лечения или профилактики клинических признаков, вызванных *Lawsonia intracellularis* и/или *Salmonella spp.* у животного, причем способ включает введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.

20 Описание дополнительно включает:

Способ уменьшения поражений кишечника у животного по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.

25 Описание дополнительно включает:

Способ увеличения среднесуточного привеса животного по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида, включающий введение указанному животному эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, как описано в настоящем документе.

30 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный патоген животного представляет собой патоген свиньи, лошади или крупного рогатого скота.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанный патоген животного представляет собой бактериальный патоген свиньи или крупного рогатого скота.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанный патоген животного представляет собой бактерии, вызывающие кишечные заболевания, или бактерии, вызывающие заболевания слизистых оболочек.

5 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный антиген патогена животного представляет собой активный антиген слизистой оболочки или кишечника, или активную живую иммуногенную композицию для слизистой оболочки или кишечника, или активную живую вакцину для слизистой оболочки или кишечника.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанное животное представляет собой свинью, лошадь или крупный рогатый скот.

10 В любом из упомянутых выше описаний способа указанное животное представляет собой свинью, поросенка, свиноматку или хряка.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанное животное представляет собой новорожденного поросенка или поросенка до отлучения от свиноматки.

15 В любом из упомянутых выше описаний способа указанную иммуногенную гелевую композицию вводят животному в возрасте одного дня и старше, трех дней и старше, или одной недели и старше, или двухнедельного возраста и старше, или трехнедельного возраста и старше, или при этом иммуногенную гелевую композицию вводят животному в возрасте от 6 дней до 20-дней.

20 В любом из упомянутых выше описаний способа указанная иммуногенная гелевая композиция дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанную иммуногенную гелевую композицию вводят одной или двумя дозами.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанную иммуногенную гелевую композицию вводят пероральным и/или мукозальным путем.

25 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ включает применение иммуногенной гелевой композиции в условиях хлева или помещения для содержания животных, чтобы позволить указанному животному потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

30 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ включает нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на линию живота животного-матки или вымя животного-матки, на коврик внутри хлева или в чашку или сосуд внутри хлева.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ включает нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на подстилку внутри хлева.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ включает местное применение иммуногенной гелевой композиции к животному-матке и предоставление возможности новорожденному животному или животному до отъема от матки потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию.

- 5 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на линию живота животного-матки или при этом способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на по меньшей мере один сосок матки.

- 10 В любом из упомянутых выше описаний способа указанная матка представляет собой свинью и/или указанное новорожденное животное представляет собой новорожденного поросенка и/или указанное животное до отъема от матки представляет собою поросенка до отъема от свиноматки.

- 15 В любом из упомянутых выше описаний способа указанный способ приводит к улучшению параметра эффективности, выбранного из группы, состоящей из: снижения потери веса, снижения бактериальной нагрузки, уменьшения поражений кишечника, уменьшения поражений толстой кишки, уменьшения поражений слепой кишки, уменьшения поражений подвздошной и/или тонкой кишки, снижение выделения патогена, уменьшение диареи или их комбинации по сравнению с животным из неиммунизированной контрольной группы того же вида.

- 20 В любом из упомянутых выше описаний способа указанная иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины.

В любом из упомянутых выше описаний способа указанная иммуногенная гелевая композиция дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель.

- 25 В любом из упомянутых выше описаний способа указанная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию, описанную в данном документе.

Описание дополнительно включает:

Подстилку, содержащую гелевую композицию, описанную в данном документе.

ПРИМЕРЫ

- 30 Следующие примеры предназначены только для иллюстрации настоящего изобретения. Они никоим образом не ограничивают объем Формулы изобретения.

Пример 1

Оценка усвоения гелевой вакцины путем оценки выделения вакцины после различных форм введения MLV *Lawsonia Intracellularis* или *Salmonella*

Цель данного исследования состоит в том, чтобы оценить, эффективно ли усваивается животными пероральная вакцина, введенная в виде гелевого состава, нанесенного в различных местах содержания животных, и её сравнение с традиционным способом перорального введения пероральной композиции.

5 Enterisol® Peitis (коммерчески доступную живую вакцину *Lawsonia intracellularis*) смешивают с гелевой композицией (гель Underline® является коммерчески доступным и содержит воду, мальтодекстрины, пропиленгликоль, экстракт гемицеллюлозы, однако подходят и другие гелевые композиции).

Группы лечения (40 свиней на группу):

10 Группа 1: Enterisol® Peitis наносят в виде геля на вымя свиноматки.

Группа 2: Enterisol® Peitis применяют в виде геля в чашке.

Группа 3: Enterisol® Peitis наносят в виде геля на подстилку.

Группа 4: Enterisol® Peitis применяют перорально.

Группа 5: Невакцинированный негативный контроль.

15 Поскольку Enterisol® Peitis представляет собой пероральную MLV (модифицированные живые вакцины) вакцину *Lawsonia*, бактерии *Lawsonia* выделяются через фекалии. Эффективность усвоения вакцины оценивают путем измерения выделения *Lawsonia intracellularis* с фекалиями вакцинированных свиней с помощью количественной ПЦР, которая является стандартной процедурой в данной
20 области.

Таблица 1

Группа лечения	Выделение в %
Группа 1: Enterisol® Peitis наносят в виде геля на вымя свиноматки	46,15
Группа 2: Enterisol® Peitis применяют в виде геля в чашке	44,40
Группа 3: Enterisol® Peitis наносят в виде геля на подстилку	33,3
Группа 4: Enterisol® Peitis применяют перорально	15,79
Группа 5: Невакцинированный, негативный контроль	0

25 В следующем эксперименте тестируют введение в виде геля другой пероральной MLV (модифицированной живой вакцины). Enterisol® *Salmonella* T/C (T/C) (коммерчески доступная живая вакцина против сальмонеллы) смешивают с гелевой композицией (гель Underline®, коммерчески доступный от Animal Science Products, Inc.,

Nacogdoches, TX). Вакцину вводят в виде геля или через рот, а эффективность применения вакцины оценивают путем измерения выделения бактерий сальмонеллы с фекалиями.

Группы лечения (24 свиней на группу):

- 5 Группа 1: Невакцинированный негативный контроль.
 Группа 2: Enterisol® Salmonella T/C наносят в виде геля на подстилку.
 Группа 3: Enterisol® Salmonella T/C применяют перорально.

Таблица 2

Группа лечения	Выделение в %
Группа 1: Невакцинированный негативный контроль	0%
Группа 2: Enterisol Salmonella T/C наносят в виде геля на подстилку	33%
Группа 3: Enterisol Salmonella T/C применяют перорально	4%

10

Заключение:

Пероральные вакцины, вводимые в виде геля, эффективно усваиваются животными. Усвоение MLV *Lawsonia intracellularis* или MLV *Salmonella*, введенных в гелевой композиции, было неожиданно даже выше по сравнению со стандартным пероральным введением.

15

Пример 2

Оценка эффективности MLV *Lawsonia Intracellularis* при пероральном введении в виде геля с *Lawsonia Intracellularis*

20

Целью данного исследования является оценка эффективности гелевой композиции в качестве средства для перорального введения вакцин Enterisol. Для проверки этого подхода эффективность вакцины при пероральном введении в виде геля оценивается экспериментальным путем. Enterisol® Peitis (коммерчески доступную живую вакцину *Lawsonia intracellularis*) смешивают с гелевой композицией (гель Underline®, коммерчески доступный) и наносят на подстилку станка для подсосных свиноматок в возрасте поросят 14-16 дней. Свиней заражают с помощью *Lawsonia intracellularis* через 49 дней после вакцинации. Эффективность измеряют с использованием индивидуальных различий свиней в макроскопических поражениях, микроскопических поражениях, баллах ИНС в качестве основных переменных.

25

30

Свиноматки являются ПЦР-отрицательными на *Lawsonia intracellularis*. Группы лечения с невакцинированными пометами содержат в отдельном помещении для

опороса от вакцинированных групп лечения, для контроля и предотвращения воздействия вакцины. Каждая группа лечения включает 6 поросят, выбранных из 4 пометов. В исследовании оценивают гель Underline для введения Enterisol Pleitis (EI). Для этой цели используют три различные группы лечения: 1) невакцинированная контрольная группа, зараженная с помощью *Lawsonia intracellularis*, 2) введение геля с EI, 3) введение геля с EI, 4) пероральное введение EI.

Таблица 3

Группы лечения

Лечение	Название лечения	Описание лечения	Лечебная доза	Путь введения
1	Невакцинированная контрольная группа, зараженная с <i>L. intracellularis</i>	Невакцинированные контрольные зараженные группы	NA	NA
2	Введение геля Underline® с Enterisol® Pleitis	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Pleitis с помощью геля Underline®, нанесенного на подстилку в возрасте поросят 14-16 дней, подвергшиеся заражению через 49 дней	120 мл на станок для опороса, примерно 10 мл на поросенка при условии, что на помет приходится 12 поросят; полная доза	Пероральный
3	Введение геля Underline® с Enterisol® Pleitis	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Pleitis с помощью геля Underline®, нанесенного на подстилку в возрасте поросят 14-16 дней, подвергшиеся заражению через 49 дней	120 мл на станок для опороса, примерно 10 мл на поросенка при условии, что на помет приходится 12 поросят; полная доза	Пероральный
4	Пероральное введение Enterisol® Pleitis	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Pleitis с помощью перорального введения в возрасте поросят 14-16 дней, подвергшиеся заражению через 49 дней	1 мл, полная доза	Пероральный

10

Вакцину вводят поросятам в возрасте 14-16 дней. Поросят отнимают от свиноматки в возрасте 21-24 дней. Заражение кишечным гомогенатом *Lawsonia* проводят через 7 недель после вакцинации изолятом дикого типа (заражающая доза $2,76 \times 10^{10}$ микроорганизмов *L. intracellularis*/свинью). Эффективность вакцины оценивают по макроскопическим и микроскопическим поражениям. Тонкую, подвздошную, слепую и ободочную кишку исследуют и оценивают на предмет макроскопических поражений, характерных для кишечных заболеваний и инфекции *Lawsonia*. Макроскопические поражения оцениваются по следующим критериям: 0 = отсутствие обширных поражений; 1 = легкий отек и гиперемия слизистой или серозной оболочки; 2 = отек,

15

гиперемия, сетчатая серозная оболочка и слизистая оболочка (утолщение); 3 = отек, гиперемия, сетчатая серозная оболочка и слизистая оболочка и обширное утолщение слизистой оболочки; 4 = сильное утолщение, кровоизлияние или некроз слизистой оболочки. Также регистрируется длина макроскопических поражений. Дистальный отдел подвздошной кишки фиксируют формалином для микроскопической гистопатологии, а иммуногистохимическое окрашивание (ИНС) на *Lawsonia intracellularis* оценивают по пятибалльной шкале следующим образом: 0 = отсутствие антигена *Lawsonia*; 1 = 0-25% крипт с антигеном; 2 = 25-50% крипт с антигеном; 3 = 50-75% крипт с антигеном; 4 = 75-100% крипт с антигеном. Окрашивание гематоксилином и эозином оценивают по следующим критериям: 0 = нет поражений; 1 = очаговые поражения; 2 = многоочаговые поражения, 3 = диффузные поражения.

Таблица 4

Итоговый средний балл обширных поражений по группам лечения

Средний балл	Лечение 1: контроль	Лечение 2: EI Vx гель	Лечение 3: EI Vx гель	Лечение 4: EI Vx пероральное введение
Подвздошная кишка	0,90±0,29	0,79±0,27	0,50±0,20	0,57±0,23
Тонкая кишка	0,62±0,28	0,67±0,26	0,17±0,13	0,48±0,20
Слепая кишка	0,38±0,19	0,33±0,17	0,25±0,17	0±0
Ободочная кишка	0,14±0,10	0,08±0,08	0±0	0±0

15 Vx = вакцина

Таблица 5

Итоговая средняя длина обширных поражений по группам лечения

Средняя длина	Лечение 1: контроль	Лечение 2: EI Vx гель	Лечение 3: EI Vx гель	Лечение 4: EI Vx пероральное введение
Длина подвздошной кишки, см	6,33±1,98	5,83±1,82	3,17±1,30	4,35±1,76
Длина тонкой кишки, см	26,90±11,59	11,67±7,02	10,13±9,70	12,26±8,26
Длина слепой кишки, см	2,38±1,18	1,67±0,78	0,83±0,58	0±0
Длина ободочной кишки, см	2,62±2,17	0,83±0,83	0±0	0±0

Таблица 6

Итоговые ИНС и Н&Е баллы

Средний балл	Лечение 1: Контроль	Лечение 2: EI Vx гель	Лечение 3: EI Vx гель	Лечение 4: EI Vx пероральное введение
ИНС	3,52±0,16	2,63±0,25	2,50±0,26	1,74±0,33
Н&Е	2,76±0,14	2,17±0,22	2,25±0,21	1,30±0,26

Заключение:

- 5 Модифицированные живые *Lawsonia intracellularis* можно вводить с помощью гелевых композиций для иммунизации свиней. Enterisol® Ileitis, вводимый как перорально, так и в виде геля, уменьшает обширные поражения и снижает баллы ИНС по сравнению с невакцинированной зараженной контрольной группой.

10 Пример 3

Оценка эффективности MLV Salmonella T/C, вводимой перорально с помощью геля с *Salmonella Typhimurium*

- 15 Целью данного исследования является оценка эффективности Enterisol® Salmonella T/C (T/C), вводимого с помощью геля Underline®. Композицию наносят на подстилку для станка для подсосных свиноматок в возрасте поросят 14-дней. Через 28 дней после вакцинации свиней заражают *Salmonella Typhimurium*. Эффективность измеряют с использованием индивидуальных различий свиней по обширным поражениям, клиническим признакам и ADWG.

- 20 Пометы невакцинированных групп лечения размещают в отдельном помещении для опороса от вакцинированных групп лечения, это обеспечивает строгий контроль и предотвращение любого потенциального воздействия вакцины. В этом исследовании оценивают гель Underline для перорального введения Enterisol Salmonella T/C на свиноферме. Для этой цели используют три различные группы лечения: 1) невакцинированная контрольная группа, зараженная сальмонеллой, 2) введение геля Enterisol Salmonella T/C, 3) пероральное введение Enterisol Salmonella T/C.
- 25

Таблица 7

Лечение	Название лечения	Описание лечение	Лечебная доза	Путь введения
1	Невакцинированная контрольная группа, зараженная <i>Salmonella</i>	Невакцинированные зараженные контрольные группы	NA	NA
2	Введение геля Underline® с Enterisol® Salmonella T/C	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Peitis с помощью геля Underline®, нанесенного на подстилку, в возрасте поросят 14-16 дней, подвергающиеся заражению через 49 дней	120 мл на станок для опороса, примерно 10 мл на поросенка при условии, что на помет приходится 12 поросят; полная доза	Пероральный
3	Пероральное введение Enterisol® Salmonella T/C	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Salmonella T/C пероральным путем в возрасте поросят 14-16 дней, подвергающиеся заражению через 28 дней	1 мл; полная доза	Пероральный

Свиноматки являются отрицательными в ПЦР анализе на *Salmonella spp.* Вакцину вводят поросятам в 14-16-дневном возрасте. Поросят снимают от свиноматки в возрасте 21-24 дней. Заражение сальмонеллой (*Typhimurium*) проводят через 4 недели после вакцинации (*Salmonella enterica Serovar Typhimurium* UK-1, доза $3,5 \times 10^{10}$ КОЕ/мл, 1 мл интраназально (0,5 мл на ноздрю)). Эффективность вакцины оценивают по уменьшению клинических проявлений и уменьшению поражений кишечника.

10 Таблица 8

Показатель оценки макроскопических поражений при сальмонеллезе

Оценка	Мезентериальный и илеоцекальный лимфатический узел (по одному баллу за каждый)	Тонкая, подвздошная, слепая, ободочная кишки (по одному баллу на орган)
0	Нет обширных поражений	Нет обширных поражений
1	>2X-5X нормального размера	Легкая гиперемия, без аномальной консистенции
2	>5X нормального размера	Аномальное содержимое просвета, умеренная гиперемия и/или отек, единичные очаговые поражения или изъязвления желудочно-кишечного тракта
3		Утолщенная слизистая оболочка, множественные или сливающиеся поражения и/или изъязвления желудочно-кишечного тракта, прилипшие остатки слизистой оболочки

Таблица 9

Итоговые средние баллы обширных поражений

Средний балл	Лечение 1: контроль	Лечение 2: Т/С Vx гель	Лечение 3: Т/С Vx пероральное введение	P-значение
Подвздошная кишка	-	-	-	-
Тонкая кишка	-	-	-	-
Слепая кишка	0,04±0,04	0,09±0,09	0,04±0,04	0,995
Ободочная кишка	0,40±0,14 ^b	0,09±0,09 ^a	0,04±0,04 ^a	0,001
Мезентериальные лимфоузлы	0,25±0,09	0,23±0,09	0,22±0,09	0,96
Илеоцекальные лимфоузлы	0	0,05±0,05	0,04±0,04	0,58

Vx = вакцина

5 Таблица 10

Результаты роста (ADWG)

	Лечение 1: контроль	Лечение 2: Т/С Vx гель	Лечение 3: Vx перор. введение	P-значение
Количество свиней	24	24	24	-
Масса при распределении, фунтов	10,61	9,52	9,90	0,32
Масса до заражения, фунтов	26,88	25,73	26,65	0,69
Масса при вскрытии, фунтов	29,34	34,05	34,99	0,08
ADG от распределения до заражения	0,60	0,62	0,65	0,46
ADG от заражения до вскрытия	0,27 ^b	0,82 ^a	0,83 ^a	0,006
ADG от распределения до вскрытия	0,52 ^b	0,68 ^a	0,70 ^a	0,02

Заключение:

- 10 Модифицированные живые *Salmonella* можно вводить с помощью гелевых композиций для иммунизации свиней. Enterisol® *Salmonella* Т/С, вводимая перорально или в виде геля, уменьшает количество поражений ободочной кишки (обширных) по сравнению с невакцинированными контрольными свиньями. Кроме того, наблюдается значительно больший среднесуточный привес по сравнению с невакцинированными контрольными свиньями.

Пример 4

Оценка эффективности MLV *Lawsonia intracellularis*, вводимой перорально в виде геля, с носителем заражения *Lawsonia intracellularis*, в комбинации с MLV-вакциной *Salmonella* и по сравнению с обычным введением через воду.

- 5 Целью данного исследования является оценка эффективности гелевой композиции для перорального введения Enterisol® Peitis (коммерчески доступная вакцина *Lawsonia intracellularis*). Чтобы подтвердить этот подход, эффективность вакцины при пероральном введении через гель (гель Underline®, коммерчески доступный), нанесенный на подстилку для опороса свиным в возрасте 14-19 дней, будет оценена
- 10 путем экспериментального заражения путем взаимодействия со свиньями-носителями, зараженными кишечным гомогенатом, содержащим вирулентную *Lawsonia intracellularis* в возрасте 12 недель. Вторая цель исследования состоит в изучении смеси Enterisol® Peitis с Enterisol Salmonella T/C Salmonella T/C (коммерчески доступной вакциной *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Choleraesuis*), которую наносят с
- 15 помощью геля (гель Underline®, коммерчески доступный) на подстилку для опороса свиным в возрасте 14-19 дней с последующим экспериментальным заражением путем взаимодействия со свиньями-носителями, зараженными кишечным гомогенатом, содержащим вирулентную *Lawsonia intracellularis* в возрасте 12 недель. Группу
- 20 лечения введением геля сравнивают с невакцинированной контрольной группой, а также с вакцинацией с Enterisol® Peitis путем обычного перорального введения с водой, предоставляемой в возрасте 6 недель. Эффективность вакцины измеряют по различиям в привесе и смертности отдельных свиней.

Таблица 11

25 Группы лечения:

Лечение	Название лечения	Кол-во повтор.	Описание лечения	Лечебная доза	Путь применения
1	Невакцинированный, зараженный с <i>L. intracellularis</i> контроль	540 свиней	Невакцинированные зараженные контроли	NA	NA
2	Гель Enterisol® Peitis (в возрасте 14-19 дней)	540 свиней	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Peitis через гель, нанесенный на подстилку, в возрасте 14-19 дней, подвергшиеся взаимодействию со свиньями-носителями через 70 дней	120 мл на станок для опороса, примерно 10 мл на поросенка при условии, что на помёт приходится 12 поросят; полная доза	Пероральный

Лече-ние	Название лечения	Кол-во повтор.	Описание лечения	Лечебная доза	Путь приме-нения
3	Вода Enterisol® Pleitis (в возрасте 6 недель)	540 свиной	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Pleitis через воду в возрасте 6 недель, подвергшиеся взаимодействию со свиньями-носителями через 42 дня	Полная доза	Перо-ральный
4	Гель Enterisol® Pleitis + Enterisol® Salmonella T/C (в возрасте 14-19 дней)	540 свиной	Свиньи, вакцинированные Enterisol® Pleitis + Enterisol® Salmonella T/C через гель, нанесенный на подстилку, в возрасте 14-19 дней, подвергшиеся взаимодействию со свиньями-носителями через 70 дней	120 мл на станок для опороса, примерно 10 мл на поросенка при условии, что на помёт приходится 12 поросят; полная доза	Перо-ральный

Перед заражением невакцинированные группы, вакцинированные водой группы и свиной, предназначенных стать свиньями-носителями, содержали в отдельном помещении от групп лечения, вакцинированных гелем, чтобы предотвратить

5 воздействие вакцины MLV. Вакцинированные группы лечения были разделены несколькими загонами с датской биозащитой между группами. Все поросята были вакцинированы 3FLEX® после отъема от свиноматки. Для заражения с помощью свиной-носителей, свиной-носителей оставляли в исходных загонах, и им стелили резиновые подстилки в течение 14 дней после введения контрольной дозы примерно

10 $3,7 \times 10^{10}$ организмов *Lawsonia intracellularis* перорально на свинью. Для заражения групп лечения через 48 дней после отъема от свиноматки (70-й день исследования) свиной из четырех групп лечения смешивали по 6-7 свиной на группу лечения в каждом конечном загоне, при этом обработанные группы были сбалансированы в каждом

15 загоне. В каждый загон помещали по три свиной-носителя вместе с резиновыми подстилками, чтобы способствовать заражению свиной *Lawsonia intracellularis*. Взаимодействие со свиньями-носителями и заражение групп лечения проводили через 70 дней после вакцинации гелем и через 42 дня после вакцинации водой. Смертность измеряли после заражения и смешивания свиной до конечной точки исследования веса. Также измеряли отстраненных от испытания свиной или свиной с серьезными

20 проблемами со здоровьем. Всех свиной взвешивали при распределении в каждую группу лечения в возрасте 14 дней до вакцинации (день исследования 0), при смешивании групп лечения в возрасте 84 дней (день исследования 70) и в продажном возрасте 162 дня (день исследования 148).

Таблица 12

Результаты набора веса по группам лечения

Параметр	Лечение 1: Невакцинированный, зараженный с <i>L.</i> <i>intracellularis</i> контроль	Лечение 2: гель Enterisol® Peitis (14- 19 DOA)	Лечение 3: вода Enterisol® Peitis (6 WOA)	Лечение 4: гель Enterisol® Peitis + Salmonella T/C (14-19 DOA)	P- значение	Смешанный вес
Распределительный вес, фунты	10,39 ± 0,09	10,39 ± 0,10	10,33 ± 0,10	10,34 ± 0,09	0,96	-
Смешанный вес, фунты	83,12 ± 0,66 ^c	90,13 ± 0,68 ^a	83,56 ± 0,69 ^{bc}	86,02 ± 0,67 ^b	<0,0001	-
Конечный вес, фунты	223,42 ± 1,78 ^c	248,17 ± 1,80 ^a	239,74 ± 1,80 ^b	242,85 ± 1,76 ^{ab}	<0,0001	-
Конечный вес, фунты	227,96 ± 1,28 ^b	240,09 ± 1,31 ^a	243,36 ± 1,30 ^a	242,39 ± 1,27 ^a	<0,0001	<0,0001
ADG (распределение на смешанный), фунт./день	1,04 ± 0,009 ^c	1,14 ± 0,009 ^a	1,05 ± 0,009 ^c	1,08 ± 0,009 ^b	<0,0001	-
ADG (распределение на конечный), фунт./день	1,45 ± 0,01 ^c	1,62 ± 0,01 ^a	1,56 ± 0,01 ^b	1,58 ± 0,01 ^{ab}	<0,0001	-
ADG (распределение на конечный), фунт./день	1,82 ± 0,02 ^b	2,05 ± 0,02 ^a	2,02 ± 0,02 ^a	2,03 ± 0,02 ^a	<0,0001	-
ADG (распределение на конечный), фунт./день ⁱ	1,84 ± 0,02 ^b	2,00 ± 0,02 ^a	2,04 ± 0,02 ^a	2,03 ± 0,02 ^a	<0,0001	<0,0001

ⁱ Смешанный вес, используемый в качестве ковариаты в модели.

5 Различные надстрочные буквы (a,b,c) указывают на статистическую значимость.

ADG = среднесуточный прирост веса; DOA = возраст в днях; WOA = возраст в неделях.

Таблица 13

Результаты смертности и отстраненных от испытания свиней по группам лечения после заражения

10

Параметр	Лечение 1: Невакцинированный, зараженный с <i>L.</i> <i>intracellularis</i> контроль	Лечение 2: гель Enterisol® Peitis (14-19 DOA)	Лечение 3: вода Enterisol® Peitis (6 WOA)	Лечение 4: гель Enterisol® Peitis FF + Salmonella T/C (14-19 DOA)	P- значение
Отстраненные, %	1,53 ± 0,43	0,62 ± 0,44	1,22 ± 0,44	0,60 ± 0,44	0,34
Смертность, %	5,93 ± 0,82 ^b	3,69 ± 0,85 ^{ab}	2,88 ± 0,85 ^a	2,57 ± 0,84 ^a	0,02
Отстраненные и смертность, %	7,45 ± 0,92 ^b	4,31 ± 0,95 ^a	4,11 ± 0,95 ^a	3,17 ± 0,93 ^a	0,007

Различные надстрочные буквы (a,b,c) указывают на статистическую значимость.

ADG = среднесуточный прирост веса; DOA = возраст в днях; WOA = возраст в неделях.

5 Enterisol® Peitis, вводимый в виде геля в возрасте 14-19 дней, был эффективным и приводил к значительному увеличению веса, большему среднесуточному приросту веса и меньшей смертности по сравнению с невакцинированной зараженной группой. Этот уровень эффективности был аналогичен, если не улучшен, по сравнению с обычным водным введением Enterisol® Peitis. Кроме того, когда Enterisol® Peitis смешивали в геле с Enterisol Salmonella T/C, полученная комбинация вакцин также была

10 эффективной (никаких помех не наблюдалось).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Иммуногенная гелевая композиция, содержащая антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* и гелевую композицию, подходящую для перорального применения.
5
2. Иммуногенная гелевая композиция по п. 1, в которой антиген *Lawsonia intracellularis* и/или антиген *Salmonella spp.* представляют собой цельноклеточную бактерию.
3. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 или 2, в которой антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой модифицированные живые *Lawsonia intracellularis* или в которой антиген *Lawsonia intracellularis* представляет собой невирулентный изолят *Lawsonia intracellularis* или аттенуированные *Lawsonia intracellularis*.
10
4. Иммуногенная гелевая композиция по п. 1, в которой антиген *Salmonella spp.* представляет собой модифицированные живые *Salmonella spp.*
15
5. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 или 4, в которой указанная *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella Choleraesuis* и/или *Salmonella Typhimurium* и/или в которой *Salmonella spp.* представляет собой *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis* и/или *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium*.
20
6. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 - 5, причем иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 3,0 до примерно 9,0 TCID₅₀ модифицированных живых *Lawsonia intracellularis* на дозу и/или иммуногенная гелевая композиция включает от примерно 1×10^5 до примерно 1×10^{10} КОЕ *Salmonella spp.* на дозу.
25
7. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 - 6, причем гелевая композиция является вязкой или имеет вязкость по меньшей мере 50 мПа·с или по меньшей мере 50 сП и/или гелевая композиция дополнительно содержит ароматизатор и/или краситель.
8. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 - 7, причем гелевая композиция содержит воду и/или агент, усиливающий адгезию, и/или агент, регулирующий pH, и/или стабилизатор и/или причем гелевая композиция содержит воду, агент, усиливающий адгезию, и стабилизатор.
30

9. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 - 8, причем гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, целлюлоза, камедь и стабилизатор, предпочтительно стабилизатором является пропиленгликоль и/или причем гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, акациевую камедь и пропиленгликоль и/или причем гелевая композиция содержит воду, мальтодекстрины, экстракт гемицеллюлозы, водостабилизирующие соединения, акациевую камедь, пропиленгликоль и искусственный краситель.
10. Иммуногенная гелевая композиция по любому из п.п. 1 - 9, причем иммуногенная гелевая композиция дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель и/или причем иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины.
11. Способ иммунизации животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения.
12. Способ лечения или профилактики клинических признаков, вызванных патогеном животного, у животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции, содержащей антиген патогена животного и гелевую композицию для перорального введения.
13. Способ иммунизации животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции по любому из п.п. 1 - 10.
14. Способ лечения или профилактики клинических признаков, вызванных *Lawsonia intracellularis* и/или *Salmonella spp.* у животного, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции по любому из п.п. 1 - 10.
15. Способ уменьшения поражений кишечника у животного по сравнению с животным неиммунизированной контрольной группы того же вида, включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции по любому из п.п. 1 - 10.
16. Способ увеличения среднесуточного привеса животного по сравнению с животным неиммунизированной контрольной группы того же вида,

включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества иммуногенной гелевой композиции по любому из п.п. 1 - 10.

- 5 17. Способ по любому из п.п. 11 или 12, в котором патоген животного представляет собой патоген свиней, лошадей или крупного рогатого скота и/или в котором патоген животного представляет собой бактериальный патоген свиньи или крупного рогатого скота и/или в котором патоген животного представляет собой бактерию, вызывающую кишечные заболевания, или бактерию, вызывающую заболевания слизистых оболочек.
- 10 18. Способ по любому из п.п. 11, 12 и 17, в котором указанный антиген патогена животного представляет собой активный антиген слизистой оболочки или кишечника, или активную живую иммуногенную композицию для слизистой оболочки или кишечника, или активную живую вакцину для слизистой оболочки или кишечника.
- 15 19. Способ по любому из п.п. 11, 12, 17 или 18, в котором животное представляет собой свинью, лошадь или крупный рогатый скот.
- 20 20. Способ по любому из п.п. 13 - 16, в котором животное представляет собой свинью, поросенка, свиноматку или хряка и/или, в котором животное представляет собой новорожденного поросенка или поросенка до отлучения от свиноматки.
- 25 21. Способ по любому из п.п. 11 - 20, в котором иммуногенную гелевую композицию вводят животному в возрасте одного дня и старше, трех дней и старше, или одной недели и старше, или двухнедельного возраста и старше, или трехнедельного возраста и старше, или в котором иммуногенную гелевую композицию вводят животному от 6-дневного до 20-дневного возраста.
- 30 22. Способ по любому из п.п. 11 - 21, в котором иммуногенную гелевую композицию вводят пероральным и/или мукозальным путем.
23. Способ по любому из п.п. 11 - 22, причем указанный способ включает применение иммуногенной гелевой композиции в хлеве или в помещении для содержания животных, чтобы позволить указанному животному потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию и/или причем указанный способ включает нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на линию живота животного-матки или вымя животного-матки, на подстилку внутри хлева или в чашку или сосуд внутри хлева.

24. Способ по любому из п.п. 11 - 23, причем указанный способ включает местное нанесение иммуногенной гелевой композиции на животное-матку и позволение животному в послеродовом периоде или животному до отъема от матки потреблять указанную иммуногенную гелевую композицию и/или причем указанный способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции на линию живота животного-матки или указанный способ включает местное нанесение указанной иммуногенной гелевой композиции по меньшей мере на один сосок животного-матки.
25. Способ по любому из п.п. 23 или 24, в котором животное-матка представляет собой свиноматку и/или животное в послеродовом периоде представляет собой поросенка в послеродовом периоде и/или животное до отъема от матки представляет собой поросенка до отъема от свиноматки.
26. Способ по любому из п.п. 11 - 25, в котором иммуногенная гелевая композиция представляет собой гелевую композицию вакцины и/или в котором иммуногенная гелевая композиция дополнительно содержит ветеринарно-приемлемый носитель.
27. Способ по любому из п.п. 11 - 26, в котором гелевая композиция представляет собой гелевую композицию по любому из п.п. 7 - 10.
28. Подстилка, содержащая гелевую композицию по любому из п.п. 1 - 10.