



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 125901

(13) C2

(51) МПК

A61K 39/108 (2006.01)

A61K 39/116 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

|                                                                       |                      |                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки:                                                    | а 2018 12977         | (72) Винахідник(и):                                   | Марков Ігор Семенович (UA),<br>Марков Артем Ігоревич (UA)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| (22) Дата подання<br>заявки:                                          | 27.12.2018           | (73) Володілець (володільці):                         | Марков Ігор Семенович,<br>просп. Героїв Сталінграда, 4, корп. 1, кв. 54, м.<br>Київ, 04210 (UA)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| (24) Дата, з якої є<br>чинними права<br>інтелектуальної<br>власності: | 07.07.2022           | (74) Представник:                                     | Лісна Тетяна Леонідівна, реєстр. №286                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (41) Публікація<br>відомостей про<br>заявку:                          | 12.05.2020, Бюл.№ 9  | (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: | RU 2316345 C1, 10.02.2008<br>RU 2538158 C1, 10.01.2015<br>RU 2429012 C1, 20.09.2011<br>RU 2650628 C1, 17.04.2018<br>RU 94019810 A1, 27.05.1996<br>RU 2650604 C1, 16.04. 2018<br>СОЛКОУРОВАК. Інструкція для медичного<br>застосування лікарського засобу<br>[Знайдено в інтернет], URL:<br><a href="https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?%5B28232%5D">https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?%5B28232%5D</a><br>(знайдено Wayback machine 29.12.2014, знайдено<br>в інтернет 13.10.2021)<br>US 5976525 A, 02.11.1999 |
| (46) Публікація<br>відомостей про<br>державну<br>реєстрацію:          | 06.07.2022, Бюл.№ 27 |                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

**(54) ЕСШЕРИХІОЗНО-ЕНТЕРОКОКОВА ІНАКТИВОВАНА РІДКА ВАКЦИНА ПРОТИ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ ТА ЕНТЕРОКОКА, СПОСІБ ЇЇ ВИГОТОВЛЕННЯ ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ І ПРОФІЛАКТИКИ НЕЮ****(57) Реферат:**

Винахід належить до ешерихіозно-ентерококової інактивованої рідкої вакцини проти кишкової палички та ентерокока, що включає штами бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* та додатково містить штами бактерій *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli*-9, *Enterococcus faecalis*-8, *Enterococcus faecium*-3, *Enterococcus durans*-2 певної локації, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології, з різним ступенем резистентності до антибіотиків, включно з госпітальними штамми зі 100 %-ою антибіотикорезистентністю, в тому числі штами бактерій, депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України: *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7621; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7622; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7662; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7733; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7748; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7628; *Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7784; *Escherichia coli*, депонований під

UA 125901 C2

реєстраційним номером В-7802; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7632; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7660; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7661; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7631; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7708; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7788; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7800; *Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7801; *Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7713; *Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7729; *Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7789; *Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером В-7749; *Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером В-7769. Винахід також належить до способу виготовлення ешерихіозно-ентерококової інактивованої рідкої вакцини та способу лікування і профілактики ешерихіозно-ентерококовою інактивованою рідкою вакциною проти кишкової палички та ентерокока.

Група винаходів належить до медичної мікробіології, фармацевтичної промисловості, зокрема до вакцинних препаратів, а саме до вакцин проти кишкових ентеробактерій та ентерококу, способів їх виготовлення і способів лікування та профілактики, і може бути використана для лікування та профілактики локальних і системних, гострих і хронічних захворювань бактеріальної етіології у дітей та дорослих: носа, додаткових пазух носа, глотки, кон'юнктиви та очей, ротової порожнини, язика, ясен, зубів, трахеї, бронхів, легенів, органів сечостатевої системи, жовчного міхура, черевної порожнини, шкіри, підшкірної клітковини та ін., як альтернатива антибіотикам або як метод додаткового лікування сумісно з антибіотиками при септичних станах, що становлять загрозу для життя.

Кишкова паличка – бактерія (рухливий паличкоподібний мікроорганізм), яка в нормі знаходиться в кишечнику людини, не завдає шкоди та навіть використовується для виготовлення лікарських засобів (напр., Колібактерин, Мутафлор та ін.). Але існують її різновиди, здатні викликати ураження шлунка і кишечнику. Вони є причиною розвитку особливого виду гострої кишкової інфекції, яку називають ешерихіозною або колі-інфекцією (від латинської назви кишкової палички: *Escherichia coli*). Зазвичай при кишковій інфекції, викликаній кишковою паличкою, уражається шлунок і тонка кишка. У випадках, коли звичайна непатогенна кишкова паличка з кишечнику контактно-побутовим шляхом (звичайне фізіологічне зараження) окупує інші території (слизові оболонки інших органів та систем) вона перетворюється з симбіотичного непатогенного виду бактерій на абсолютно патогенний штам, який викликає тяжкі хронічні бактеріальні захворювання з рецидивуючим позитивним перебігом і в разі виникнення суцільної резистентності до антибіотиків (у випадках агресивного постійного їх використання з метою знищити кишкову паличку або інші бактерії) – навіть з можливими летальними наслідками.

Ентерококи (лат. *Enterococcus*) – це рід кулястих або злегка витягнутих грампозитивних бактерій, які спочатку відносили до роду стрептококів (*Streptococcus*) групи D. У зв'язку з виявленими істотними відмінностями між ентерококами та стрептококами в 1984 р. вони були віднесені до роду *Enterococcus*, а в 2001 р. – до самостійної родини Ентерококові (*Enterococcaceae*). Розміщення зазвичай відбувається парами (диплококи) або ж короткими ланцюжками.

Станом на 2017 рік, до ентерококів зараховано майже 60 видів бактерій, найбільш патогенними з яких є ентерокок фекальний (*Enterococcus faecalis*), ентерокок феціум (*Enterococcus faecium*) та ентерокок дуранс (*Enterococcus durans*), які зазвичай також розглядають як симбіотичні мікроорганізми кишечнику людини та навіть використовують для виготовлення лікарських засобів (напр., препарат Лінекс).

Відомо вакцину асоційовану, що містить *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus faecalis* [RU № 2 316 345 C1, A61K 39/116, 2008].

Ця вакцина призначена для лікування колібактеріозу, сальмонельозу, стрептококозу і ентерокової інфекції нутрій.

Відомо вакцину асоційовану, що містить збудників ешерихіозу (*Escherichia coli*), стрептококозу (*Streptococcus pneumoniae*) и стафілококозу (*Staphylococcus aureus*) [RU № RU 2 538 158 C1, A61K 39/116, 2015].

Зазначена вакцина розроблена проти ешерихіозу, стрептококозу і стафілококозу великої рогатої худоби.

Відомо вакцину асоційовану, що містить *Escherichia coli*, *Streptococcus bovis* і *Enterococcus faecalis* [RU № 2 429 012 C1, A61K 39/116, 2011].

Відома вакцина розроблена проти колібактеріозу, стрептококозу і ентерокової інфекції телят і поросят.

Відомо вакцину асоційовану, яка містить штами *Escherichia coli*, що продукують екзотоксини, гемолітичні штами *Streptococcus bovis* і *Enterococcus faecalis* [RU № RU 2650 628 C1, A61K 39/116, 2018].

Ця вакцина, як і попередній аналог, розроблена проти колібактеріозу, стрептококозу і ентерокової інфекції телят і поросят.

Усі зазначені вакцини призначені для імунізації тварин, для людей їх застосовувати не можна.

Відомо полікомпонентну вакцину (ВП-4) для імунотерапії захворювань, до складу якої входять такі штами: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Вакцину можна застосовувати підшкірним методом, а також комбінованими інтраназально-підшкірним і інтраназально-оральним методами [RU № 94 019 810 A1, A61K 39/116, 1996].

Така вакцина призначена для лікування і профілактики загострень хронічних захворювань, що викликані умовно-патогенними мікроорганізмами, у людей.

Найближчою до винаходу, що заявляється, є вакцина Стровак (StroVac), що містить штами: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morganii* і застосовується для профілактики і лікування рецидивуючих інфекцій сечових шляхів бактеріального походження [[https://www.evrofarm.com.ua/strovak\\_STROVAC\\_id113299/](https://www.evrofarm.com.ua/strovak_STROVAC_id113299/)].

Склад вакцини Стровак не враховує актуальний штам бактерій, який домінує в етіології конкретного захворювання у конкретного пацієнта (наприклад, ешерихіозний цистит, ентерококовий простатит), що робить дію вакцини менш акцентованою з менш вираженим позитивним клінічним ефектом.

Походження штамів бактерій у вакцині Стровак невідомо.

Застосування вакцини Стровак обмежене захворюваннями сечостатевої системи.

Стровак протипоказана дітям до 5 років, її не можна застосовувати в період годування груддю. Стровак не застосовують при гострому періоді захворювань і при аутоімунних захворюваннях.

Стровак не можна застосовувати одночасно з прийомом інших медикаментів, включаючи антибіотики і кортикостероїдні препарати. Вона також має побічні дії: нудота, головний біль, алергія, озноб. До системних проявів побічної дії застосування Стровак відносять діарею і запальні процеси в печінці.

Відомо спосіб виготовлення вакцини асоційованої проти колібактеріозу, сальмонельозу, стрептококозу і ентерокової інфекції нутрії, який полягає в тому, що здійснюють відбір уражених органів від загинлих нутрій з місцевого епізоотичного вогнища. Готують суспензію з патологічного матеріалу і роблять посів на диференційно-діагностичні середовища. Виділяють чисті культури *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pneumoniae* і *Streptococcus faecalis*. Окремо вирощують виділені культури в м'ясопептонному живильному середовищі з додаванням 0,2 % глюкози до досягнення концентрації мікробних клітин - 4-5 млрд. в 1 см<sup>3</sup>. Інактивують формаліном до 0,4-0,6 %-ої кінцевої концентрації. Витримують при температурі 37 °C протягом 72-96 годин. Змішують культури в рівних співвідношеннях. Вносять 3 %-ий розчин гідроксиду алюмінію в кількості 20 % до об'єму культури і ретельно змішують. Після чого отриману вакцину фасують і закупорюють [RU № RU 2 316 345 C1, A61K 39/116, 2008].

Відомо спосіб виготовлення вакцини асоційованої проти ешерихіозу, стрептококозу і стафілококозу великої рогатої худоби, який включає: відбір патологічного матеріалу від хворої і полеглої великої рогатої худоби з місцевого епізоотичного вогнища, приготування суспензії, проведення посіву на диференційно-діагностичні середовища, виділення клітин чистих культур збудників ешерихіозу *Escherichia coli*, стрептококозу *Streptococcus pneumoniae* і стафілококозу *Staphylococcus aureus*, роздільне їх вирощування, інактивування клітин формаліном, змішування в рівних співвідношеннях і внесення в суміш ад'юванта - гідроокису алюмінію [RU № RU 2 538 158 C1, A61K 39/116, 2015].

В обох аналогах способів при отриманні вакцин використовують формалін, що знижує їх імуногенний ефект та імунологічні і позитивні клінічні відповіді після вакцинації.

Зазначеними способами виготовляють вакцини, що призначені для вакцинації тварин, і їх не можна застосовувати для вакцинації людей.

Найближчим до винаходу, що заявляється, є спосіб виготовлення вакцини асоційованої проти колібактеріозу, стрептококозу і ентерокової інфекції телят і поросят, який полягає в тому, що проводять виділення з уражених органів телят і поросят епізоотичних штамів *Escherichia coli*, які продукують термолабільний, термостабільний і шігаподібний токсини, а також гемолітичних штамів *Streptococcus bovis* і *Enterococcus faecalis*. Окремо вирощують культури *Escherichia coli*, *Streptococcus bovis* і *Enterococcus faecalis* на живильному бульйоні при температурі 37 °C. При цьому культури *Escherichia coli* вирощують протягом 7 днів, а культури *Streptococcus bovis* і *Enterococcus faecalis* протягом 24 год. до концентрації 5-6 млрд мікробних тіл в 1 мл. Потім окремо інактивують вирощені культури формаліном до концентрації 0,3-0,4 % протягом 14 діб. Після чого змішують культури в рівних обсягах, фасують і закупорюють [RU № 2 429 012 C1, A61K 39/116, 2011].

Недоліком зазначеного способу є те, що в отриманій вакцині міститься велика кількість баластних клітин *Escherichia coli*, які несуть зайве антигенне навантаження, що негативно позначається на формуванні імунного захисту проти токсинів кишкової палички, стрептококів і ентерококів, крім того, дана вакцина може бути реактогенна.

У способі теж використовують формалін, що знижує його імуногенний ефект та імунологічні і позитивні клінічні відповіді після вакцинації.

Зазначений спосіб, як і попередні аналоги, призначено для вакцинації тварин, а не людей.

Відомо спосіб лікування і профілактики рецидивуючих інфекцій сечових шляхів бактеріального походження вакциною Стровак (StroVac), що містить штами: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morganii*. Згідно зі способом разову дозу вакцини (на 1 введення) отримують, змішуючи один флакон розчинника з ампулою ліофілізату (з порошком, що містить інактивовані штами бактерій) і вводять повільно внутрішньом'язово в ділянку задньої поверхні плеча, переважно в дельтоподібний м'яз плеча. Доза для однієї ін'єкції (одна доза) становить 0,5 мл свіжоприготованого інокуляту. Для дорослих і підлітків від 16 років наступний графік: основні імунізації (StroVac) 3 ін'єкції 0,5 мл інокуляту з інтервалами від 1 до 2 тижнів. [<http://med88.ru/preparaty/strovak/>].

Схема введення вакцини Стровак складається всього з 3 ін'єкцій по 0,5 мл готового розчину в період від 1 до 2 тижнів між кожним щепленням, що не дозволяє досягти стійкого позитивного імунологічного та клінічного ефектів.

Вакцину Стровак вводять внутрішньом'язово, що не дозволяє домогтися більш пролонгованого імуностимулюючого ефекту.

Застосування вакцини Стровак обмежене захворюваннями сечостатевої системи.

Вакцину Стровак випускають у вигляді сухої речовини з додатковими ампулами розчинника, а не в стерильних ампулах у вигляді готового для вживання розчину для ін'єкцій.

В основу винаходу поставлено задачу створити ешерихіозно-ентерококову інактивовану рідку вакцину проти кишкової палички та ентерококу, яка була би високоефективною, з більш пролонгованим імуностимулюючим ефектом, мала би ширші функціональні можливості і не мала би побічних дій.

Друга задача, яку поставлено в основу винаходу, – це створення способу виготовлення ешерихіозно-ентерококової інактивованої рідкої вакцини проти кишкової палички та ентерококу, яка би мала високий імуногенний ефект та імунологічні і позитивні клінічні відповіді після вакцинації.

Третя задача, яку поставлено в основу винаходу, – це створення способу лікування і профілактики ешерихіозно-ентерококовою інактивованою рідкою вакциною проти кишкової палички та ентерококу, яка дозволила би досягти стійкого позитивного клінічного ефекту і більш пролонгованого імуностимулюючого ефекту та мала би ширші функціональні можливості.

Поставлену задачу вирішують тим, що ешерихіозно-ентерококова інактивована рідка вакцина проти кишкової палички та ентерококу, яка включає штами бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, згідно з винаходом, додатково містить штами бактерій *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli* – 9, *Enterococcus faecalis* – 8, *Enterococcus faecium* – 3, *Enterococcus durans* – 2 різної локації, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології, з різним ступенем резистентності до антибіотиків, включно з госпітальними штамми зі 100 %-ою антибіотикорезистентністю, в тому числі штами бактерій, депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України:

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7621;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7622;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7662;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7733;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7748;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7628;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7784;  
*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером B-7802;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7632;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7660;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7661;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7631;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7708;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7788;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7800;  
*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером B-7801;  
*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером B-7713;  
*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером B-7729;  
*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером B-7789;  
*Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером B-7749;  
*Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером B-7769).

ЕкоПримавак у порівнянні з прототипом має більш акцентовану дію з більш вираженим позитивним клінічним ефектом.

Якщо застосування вакцини Стривак обмежено захворюваннями сечостатевої системи, то застосування вакцини ЕкоПримавак передбачено при хронічних бактеріальних запальних захворюваннях будь-якої локації, викликаних певними бактеріями кишкової групи (кишковою паличкою) та ентерококом, тобто вона має ширші функціональні можливості. Крім того, ЕкоПримак можна застосовувати одночасно з прийомом інших медикаментів, включаючи антибіотики і кортикостероїдні препарати, при гострому періоді захворювань і при аутоімунних захворюваннях.

ЕкоПримавак можна застосовувати у дітей з 3-4 місяців життя (за клінічними показаннями), а не з 5 років, як Стривак, та у період годування груддю.

Якщо системними проявами побічної дії застосування вакцини Стривак є діарея і запальні процеси в печінці, то цього не буває при застосуванні вакцини ЕкоПримавак.

Вакцину Стривак випускають у вигляді сухої речовини з додатковими ампулами розчинника. Вакцина ЕкоПримавак міститься в стерильних ампулах у вигляді готового для вживання розчину для ін'єкцій.

Якщо вакцину Стривак вводять внутрішньом'язово, переважно в дельтоподібний м'яз плеча, то вакцини ЕкоПримавак вводять підшкірно по черзі в зовнішню поверхню плеча і передню поверхню стегна (по колу), що дозволяє домогтися більш пролонгованого імуностимулюючого ефекту.

Другу поставлену задачу вирішують тим, що у способі виготовлення ешерихіозно-ентерокової інактивованої рідкої вакцини проти кишкової палички та ентерококу, який включає вирощування штамів бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, інактивацію штамів, змішування, згідно з винаходом, також вирощують штами бактерій *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli* – 9, *Enterococcus faecalis* – 8, *Enterococcus faecium* – 3, *Enterococcus durans* – 2 певної локації, виділені при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології, агарову культуру бактерій, вирощених порізно, змивають з поверхні твердого живильного середовища апірогенною дистильованою водою і поміщають у стерильні ємності, а для усунення домішок живильного середовища штами бактерій відмивають дистильованою водою шляхом центрифугування при 1500-3000 об/хв. протягом 10-15 хвилин, виливаючи надосадову рідину, отриманий осад біомаси культури бактеріологічного штаму, вирощеного порізно, суспендують в апірогенній дистильованій воді для ін'єкцій і стандартизують, причому штами мікроорганізмів беруть в рівних кількостях, стандартизовану суспензію штамів інактивують в автоклаві при температурі 115-125 °C і тиску 1 атм. протягом 15-40 хвилин, у ємності з інактивованими бактеріями додають у рівних кількостях препарат ембріонального походження, або фізіологічний розчин, або воду для ін'єкцій, і отримують суспензію мікробних клітин, для контролю стерильності зразки вакцини висівають на поживний бульйон, висіви інкубують у термостаті при температурі 35-40 °C протягом 24-48 годин, а при відсутності росту додають консервант і розливають вакцину в стерильні ампули.

У способі використовують 24-годинну агарову культуру.

Як препарат ембріонального походження використовують ербісол або інфламафертин.

Штами бактерій відмивають дистильованою водою шляхом триразового центрифугування.

Осад стандартизують відповідно до стандарту МАК Фарленд (McF) з оптичною щільністю 1,0, що відповідає 3 млрд. ( $3,0 \times 10^9$ ) мікробних клітин в 1 мл готової вакцини.

У способі отримують суспензію мікробних клітин 1,5 млрд ( $1,5 \times 10^9$ ) в 1 мл готової вакцини.

Розливають вакцину в ампули по 1 мл.

Розлиті і запаяні ампули перевіряють на герметичність, етикетують і упаковують по 10 ампул для вакцинації, залишаючи по 2 ампули кожної серії для контролю.

Використання в способі не менше 22-х оригінальних штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli* – 9, *Enterococcus faecalis* – 8, *Enterococcus faecium* – 3, *Enterococcus durans* – 2, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології у дітей та дорослих, дозволяє отримати вакцину, яка має високий загальний і місцевий імуногенний ефект та імунологічні і позитивні клінічні відповіді після вакцинації.

Третю поставлену задачу вирішують тим, що у способі лікування і профілактики ешерихіозно-ентероковою інактивованою рідкою вакциною проти кишкової палички та ентерококу, який включає введення вакцини у відповідних наростаючих дозах, згідно з винаходом, курс вакцинації складається з 10-12 ін'єкцій, які роблять через день, при цьому в перший день у дозі 0,1 мл внутрішньошкірно у внутрішню поверхню передпліччя з утворенням "лимонної кірки", а наступні підшкірно по колу по черзі в праве плече/стегно, ліве стегно/плече з

поступовим збільшенням дози препарату.

Для дітей першого року життя вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,45-0,5-0,55-0,6-0,65-0,7 мл.

Для дітей від одного до п'яти років вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,65-0,7-0,75-0,8 мл.

Для дітей старше п'яти років і дорослих вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1,0 мл.

Вакцину ЕкоПримавак застосовують при хронічних бактеріальних запальних захворюваннях будь-якої локації, викликаних певними бактеріями кишкової групи (кишковою паличкою) і ентерококком, тобто вона має ширші функціональні можливості, ніж вакцина Стривак. Вакцину ЕкоПримак можна застосовувати одночасно з прийомом інших медикаментів, включаючи антибіотики і кортикостероїдні препарати, при гострому періоді захворювань і при аутоімунних захворюваннях.

ЕкоПримавак можна застосовувати у дітей з 3-4 місяців життя, а не з 5 років, як Стривак, та в період годування груддю,

Вакцину ЕкоПримавак вводять підшкірно по черзі в зовнішню поверхню плеча і передню поверхню стегна (по колу), що дозволяє домогтися більш пролонгованого імуностимулюючого ефекту у порівнянні з прототипом, де вакцину Стривак вводять внутрішньом'язово.

Вакцина ЕкоПримавак не має побічних дій. Можливі тільки місцеві (гіперемія, набряклість і болючість в місцях введення) і загальні (підвищення температури тіла, висип на шкірі, як прояв бактеріальної токсикодермії) реакції на введення вакцини. Такі реакції носять природний фізіологічний характер і обумовлені активацією місцевого імунітету (в місці введення вакцини) і загальної імунної відповіді з виділенням токсинів з бактерій, проти яких спрямована конкретна вакцина ЕкоПримавак, за рахунок швидкого руйнування бактерій після їх імунного розпізнавання налаштованою імунною системою.

У прототипу можливий розвиток алергічних реакцій при застосування вакцини, а вакцина, що заявляється, алергічних реакцій немає, більше того, вакцина викликає гіпоалергенний ефект із суттєвим зниженням підвищених до лікування рівнів IgE.

Ешерихіозно-ентерококова інактивована рідка вакцина ЕкоПримавак проти кишкової палички та ентерококу включає штами бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х оригінальних штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli* – 9, *Enterococcus faecalis* – 8, *Enterococcus faecium* – 3, *Enterococcus durans* – 2 певної локації, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології у дітей та дорослих із мазків зі слизових оболонок (ніс, зів, ротова порожнина, ясна, язик, уретра, піхва, цервікальний канал), зі шкіри та з різних біологічних субстратів (виділення із уретри і піхви, з сечі, секрет простати, мокрот, слизу із носу та т. ін.), в тому числі штами бактерій, депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України, наведені в Таблиці.

|    | Назва штаму                                    | Звідки ізолювано                          | № штаму замовника | Дата передачі в депозитарій | № штаму в Депозитарії | Дата депонування |
|----|------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------|
| 1. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 95 % | Ізолювано з клінічного матеріалу (зів)    | 463               | 12.09.17                    | B-7628                | 26.10.17         |
| 2. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 0 %  | Ізолювано з клінічного матеріалу (зів)    | 726               | 11.04.18                    | B-7748                | 07.05.18         |
| 3. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 0 %  | Ізолювано з клінічного матеріалу (сеча)   | 483               | 05.09.17                    | B-7621                | 26.10.17         |
| 4. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 0 %  | Ізолювано з клінічного матеріалу (сеча)   | 657               | 05.09.17                    | B-7622                | 26.10.17         |
| 5. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 90 % | Ізолювано з клінічного матеріалу (сеча)   | 889               | 13.03.18                    | B-7733                | 23.03.18         |
| 6. | <i>Escherichia coli</i><br>Резистентність 10 % | Ізолювано з клінічного матеріалу (вагіна) | 797               | 27.09.17                    | B-7662                | 26.10.17         |

|     |                                               |                                                             |     |          |        |          |
|-----|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----|----------|--------|----------|
| 7.  | Escherichia coli<br>Резистентність 95 %       | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 748 | 23.05.18 | B-7802 | 31.10.18 |
| 8.  | Escherichia coli<br>Резистентність 10 %       | Ізольовано з клінічного матеріалу (мокротиння)              | 863 | 26.09.18 | B-7784 | 31.10.18 |
| 9.  | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 30 %  | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 447 | 12.09.17 | B-7632 | 26.10.17 |
| 10. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 100 % | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 417 | 19.09.17 | B-7660 | 26.10.17 |
| 11. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 10 %  | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 552 | 19.09.17 | B-7661 | 26.10.17 |
| 12. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 30 %  | Ізольовано з клінічного матеріалу (еякулят)                 | 357 | 12.09.17 | B-7631 | 16.10.17 |
| 13. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 100 % | Ізольовано з клінічного матеріалу (урогенітальні виділення) | 892 | 13.12.17 | B-7708 | 23.03.18 |
| 14. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 100 % | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 248 | 23.05.18 | B-7800 | 31.10.18 |
| 15. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 100 % | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 256 | 23.05.18 | B-7801 | 31.10.18 |
| 16. | Enterococcus faecalis<br>Резистентність 30 %  | Ізольовано з клінічного матеріалу (мокротиння)              | 623 | 03.10.18 | B-7788 | 31.10.18 |
| 17. | Enterococcus faecium<br>Резистентність 0 %    | Ізольовано з клінічного матеріалу (мокротиння)              | 603 | 03.10.18 | B-7789 | 31.10.18 |
| 18. | Enterococcus faecium<br>Резистентність 0 %    | Ізольовано з клінічного матеріалу (зів)                     | 517 | 20.02.18 | B-7729 | 23.03.18 |
| 19. | Enterococcus faecium<br>Резистентність 0 %    | Ізольовано з клінічного матеріалу (урогенітальні виділення) | 91  | 20.12.17 | B-7713 | 23.03.18 |
| 20. | Enterococcus durans<br>Резистентність 0 %     | Ізольовано з клінічного матеріалу (сеча)                    | 468 | 11.04.18 | B-7749 | 07.05.18 |
| 21. | Enterococcus durans<br>Резистентність 100 %   | Ізольовано з клінічного матеріалу (слиз із носа)            | 887 | 30.05.18 | B-7769 | 31.10.18 |

Спосіб виготовлення ешерихіозно-ентерокової інактивованої рідкої вакцини ЕкоПрімавак проти кишкової палички та ентерококу включає вирощування штамів бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22 штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli* – 9, *Enterococcus faecalis* – 8, *Enterococcus faecium* – 3, *Enterococcus durans* – 2, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних

захворюваннях бактеріальної етіології у дітей та дорослих із мазків зі слизових оболонок (ніс, зів, ротова порожнина, ясна, язик, уретра, піхва, цервікальний канал), зі шкіри та з різних біологічних субстратів (виділення із уретри і піхви, з сечі, секрета простати, мокроти, слизу із носу та т. ін.),

24-годинну агарову культуру бактерій, культуру бактерій, вирощених порізно, змивають з поверхні твердого живильного середовища апірогенною дистильованою водою і поміщають у стерильні ємності, а для усунення домішок живильного середовища штами бактерій відмивають дистильованою водою шляхом триразового центрифугування при 1500-3000 об/хв. протягом 10-15 хвилин, виливаючи надосадову рідину. Отриманий осад культури бактеріологічного штаму суспендують в апірогенній дистильованій воді для ін'єкцій і стандартизують відповідно до стандарту МАК Фарленд (McF) з оптичною щільністю 1,0, що відповідає 3 млрд ( $3,0 \times 10^9$ ) мікробних клітин в 1 мл, причому штами мікроорганізмів беруть в рівних кількостях. Стандартизовану суспензію штамів інактивують в автоклаві при температурі 115-125 °C і тиску 1 атм. протягом 15-40 хвилин. У ємності з інактивованими бактеріями додають у рівних кількостях препарат ембріонального походження, або фізіологічний розчин, або воду для ін'єкцій, або інший розчинник згідно з технічним регламентом і отримують суспензію мікробних клітин 1,5 млрд ( $1,5 \times 10^9$ ) в 1 мл готової вакцини. Для контролю стерильності зразки вакцини висівають на поживний бульйон, висіви інкубують у термостаті при температурі 37 °C протягом 24-48 годин, а при відсутності росту додають консервант та інші інгредієнти (згідно з технічним регламентом) і розливають вакцину по 1 мл в стерильні ампули.

Розлиті і запаєні ампули перевіряють на герметичність, етикетують і упаковують по 10 ампул для вакцинації, залишаючи по 2 ампули кожної серії для контролю.

Курс вакцинації складається з 10-12 ін'єкцій, які роблять через день, при цьому в перший день у дозі 0,1 мл внутрішньошкірно у внутрішню поверхню передпліччя з утворенням "лимонної кірки", а наступні підшкірно по колу по черзі в праве плече/стегно, ліве стегно/плече з поступовим збільшенням дози препарату.

Для дітей першого року життя вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,45-0,5-0,55-0,6-0,65-0,7 мл.

Для дітей від одного до п'яти років вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,65-0,7-0,75-0,8 мл.

Для дітей старше п'яти років і дорослих вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1,0 мл.

Термін придатності вакцини ЕкоПримавак становить 24 місяці.

Винахід не обмежується виготовленням рідкої вакцини. Вакцина може також бути виготовлена у вигляді сублінгвальних смоктальних таблеток, капсул для перорального прийому, крапель у ніс або спрею, вагінальних свічок – супозиторіїв, мазі, розчину для зрошення слизових оболонок.

Винахід пояснюється прикладами лікування.

Приклад 1

Дитина К., 6 років, діагноз: хронічний цистит та хронічний пієлонефрит, підтверджений результатами ультразвукового дослідження нирок (УЗД) з дебютом у віці 2-х років після чергового перенесеного гострого респіраторного захворювання та подальшими періодичними рецидивами. Неодноразово при бактеріологічному дослідженні сечі виділяли уринокультуру кишкової палички (*Escherichia coli*). Регулярно проводили курси антибактеріальної терапії з урахуванням чутливості виділених культур бактерій до антибіотиків. Однак частота рецидивів циститу в динаміці наростала, приєдналися періодичне підвищення температури тіла і больовий синдром на ділянці нирок. Батьки звернулися в клініку в період чергового загострення (через 2 тижні після проведеного попереднього курсу антибіотикотерапії) з лейкоцитурією 25-30 клітин у полі зору і помірною протеїнурією (білок - 0,066 г/л). При бактеріологічному дослідженні теплої сечі (три дні поспіль) були виділені три ідентичні культури *Escherichia coli*. Була приготовлена ешерихіозно-ентерококова вакцина ЕкоПримавак. Проведено курс лікування з 10 підшкірних ін'єкцій через день. Стан дитини покращився, аналізи сечі наблизилися до нормальних показників. Через 1 місяць проведено другий курс імунізації бактеріальною полівалентною вакциною УроПримавак, теж з 10 ін'єкцій. Протягом 2-х років було проведено всього 5 курсів лікування бактеріальними вакцинами. Настала стійка клінічна ремісія, більше необхідності в призначенні антибіотиків не виникало. Дитина продовжує залишатися під амбулаторним наглядом з періодичними моніторинговими дослідженнями загального аналізу сечі і бактеріологічного дослідження теплої сечі.

Приклад 2

Пацієнтка Т., 18 років. Звернулася в клініку 10.09.2014 р. з діагнозом: застійні диски зорових нервів обох очей зі зниженням зору (VOD-0,4; VOS-0,3). Попередній курс лікування тривав 2 роки 9 місяців з практично нульовим результатом – застійні явища посилювалися. Етіологія цих застійних дисків не була верифікована. Пройшла в клініці дообстеження на вірусні інфекції – активних форм не виявлено; на стан імунітету та ревмопроби – норма; були відсутні серологічні ознаки аутоімунно-системних захворювань. Було запідозрено і підтверджено бактеріологічно діагноз урогенітального дисбактеріозу ентерококової етіології з дебютом циститу (в березні 2014 г.) і нефродисбактеріозом, який протікав з проявами синдрому хронічної бактеріальної інтоксикації з ендотоксикозом, токсемією середнього ступеня резорбтивного генезу, вторинної гіпохромною анемією, епізодами цефалгій і переважною астеновегетативною симптоматикою. Було запідозрено, що застійні диски зорових нервів, утрата зору, а так само зміни на магніторезонансній томограмі (МРТ) і вазограмі судин головного мозку мають токсичну етіологію, асоційовану з ендотоксикозом бактеріальної етіології.

Проведено перший курс лікування бактеріальною ешерихіозно-ентероковою вакциною ЕкоПримавак з 10 підшкірних ін'єкцій. Прийшла на контрольний огляд через 2 місяці (15.12.2014 р). Виявилось, що через 15 днів після початку лікування підвищилася гострота зору майже до норми - 90-100 % (була всього 30-40 %) і повністю зникли візуальні ознаки набряків дисків зорових нервів лівого ока. Потім через 2,5 місяці після початку лікування повністю зникли ознаки набряку диска зорового нерву і правого ока. Крім того, за даними ультразвукового обстеження судин головного мозку, за 2,5 місяці повністю відновився симетричний кровотік по середніх мозкових артеріях і відзначена позитивна динаміка в порушеному венозному відтоку з порожнини черепа. Через 3 місяці після закінчення 1-го курсу був проведений 2-й курс імунізації ешерихіозно-ентероковою вакциною ЕкоПримавак з 10 ін'єкцій і потім 3-й додатковий курс вакцинації вакциною УроПримавак, теж з 10 ін'єкцій. Протягом наступних 4-х років катamnестичних спостережень рецидивів втрати зору (зберігається 100 % зір на обидва ока), циститу і бактеріурії більше не було.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Ешерихіозно-ентерокова інактивована рідка вакцина проти кишкової палички та ентерокока, що включає штами бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, яка **відрізняється** тим, що додатково містить штами бактерій *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli*-9, *Enterococcus faecalis*-8, *Enterococcus faecium*-3, *Enterococcus durans*-2 певної локації, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології, з різним ступенем резистентності до антибіотиків, включно з госпітальними штамми зі 100 %-ою антибіотикорезистентністю, в тому числі штамми бактерій, депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України:

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7621;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7622;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7662;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7733;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7748;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7628;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7784;

*Escherichia coli*, депонований під реєстраційним номером В-7802;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7632;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7660;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7661;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7631;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7708;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7788;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7800;

*Enterococcus faecalis*, депонований під реєстраційним номером В-7801;

*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7713;

*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7729;

*Enterococcus faecium*, депонований під реєстраційним номером В-7789;

*Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером В-7749;

*Enterococcus durans*, депонований під реєстраційним номером В-7769.

2. Спосіб виготовлення ешерихіозно-ентерококової інактивованої рідкої вакцини проти кишкової палички та ентерокока за п. 1, що включає вирощування штамів бактерій *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, інактивацію штамів, змішування, який **відрізняється** тим, що додатково вирощують штами бактерій *Enterococcus faecium* і *Enterococcus durans*, всього не менше 22-х штамів бактерій, а саме: *Escherichia coli*-9, *Enterococcus faecalis*-8, *Enterococcus faecium*-3, *Enterococcus durans*-2 певної локації, виділених при різноманітних гострих та хронічних запальних захворюваннях бактеріальної етіології, агарову культуру бактерій, вирощених порізно, змивають з поверхні твердого живильного середовища апірогенною дистильованою водою і поміщають у стерильні ємності, а для усунення домішок живильного середовища штами бактерій відмивають дистильованою водою шляхом центрифугування при 1500-3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин, виливаючи надосадову рідину, отриманий осад біомаси культури бактеріологічного штаму, вирощеного порізно, суспендують в апірогенній дистильованій воді для ін'єкцій і стандартизують, причому штами мікроорганізмів беруть в рівних кількостях, стандартизовану суспензію штамів інактивують в автоклаві при температурі 115-125 °С і тиску 1 атм. протягом 15-40 хвилин, у ємності з інактивованими бактеріями додають у рівних кількостях препарат ембріонального походження або фізіологічний розчин, або воду для ін'єкцій, і отримують суспензію мікробних клітин, для контролю стерильності зразки вакцини висівають на поживний бульйон, висіви інкубують у термостаті при температурі 35-40 °С протягом 24-48 годин, а при відсутності росту додають консервант і розливають вакцину в стерильні ампули.
3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що використовують 24-годинну агарову культуру.
4. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що як препарат ембріонального походження використовують ербісол або інфламафертин.
5. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що штами бактерій відмивають дистильованою водою шляхом триразового центрифугування.
6. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що стандартизують відповідно до стандарту МАК Фарленд (McF) з оптичною щільністю 1,0, що відповідає 3 млрд ( $3,0 \times 10^9$ ) мікробних клітин в 1 мл готової вакцини.
7. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що отримують суспензію мікробних клітин 1,5 млрд ( $1,5 \times 10^9$ ) в 1 мл готової вакцини.
8. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що розливають вакцину в ампули по 1 мл.
9. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що розлиті і запаяні ампули перевіряють на герметичність, етикетують і упаковують по 10 ампул для вакцинації, залишаючи по 2 ампули кожної серії для контролю.
10. Спосіб лікування і профілактики ешерихіозно-ентерококовою інактивованою рідкою вакциною проти кишкової палички та ентерокока за п. 1, що включає введення вакцини у відповідних наростаючих дозах, який **відрізняється** тим, що курс вакцинації складається з 10-12 ін'єкцій, які роблять через день, при цьому в перший день у дозі 0,1 мл внутрішньшкірно у внутрішню поверхню передпліччя з утворенням "лимонної кірки", а наступні підшкірно по колу по черзі в праве плече/стегно, ліве стегно/плече з поступовим збільшенням дози препарату.
11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що для дітей першого року життя вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,45-0,5-0,55-0,6-0,65-0,7 мл.
12. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що для дітей від одного до п'яти років вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,65-0,7-0,75-0,8 мл.
13. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що для дітей старше п'яти років і дорослих вакцинацію здійснюють за схемою 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1,0 мл.