

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192251 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.11.19

(51) Int. Cl. A61K 39/09 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.04.04

(54) ВАКЦИНА ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ STREPTOCOCCUS SUIS

(31) 18165381.7

(32) 2018.04.03

(33) EP

(86) PCT/EP2019/058455

(87) WO 2019/193078 2019.10.10

(71) Заявитель:
ИНТЕРВЕТ ИНТЕРНЭШНЛ Б.В.
(NL)

(72) Изобретатель:

Якобс Антониус Арнольдус Кристиан
(NL)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к вакцине, содержащей антиген протезы IgM Streptococcus suis, для применения в способе, где вакцинируют самку свиньи для защиты поросенка против Streptococcus suis посредством употребления молозива вакцинированной самки свиньи.

202192251

A1

A1

202192251

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-570746EA/011

ВАКЦИНА ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ STREPTOCOCCUS SUIIS

ОБЩЕЕ ОПИСАНИЕ ОБЛАСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к защите молодых поросят от патогенной инфекции *Streptococcus suis*.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Streptococcus suis (Ssuis) является комменсальным и оппортунистическим патогеном свиней. В частности, в стрессовых условиях эта бактерия может индуцировать патогенную инфекцию и индуцировать заболевание. В современных условиях свиноводства стресс, главным образом, индуцируется, например при отъеме поросят и транспортировке молодых поросят. Это привело к тому, что *Streptococcus suis* стал основным патогеном свиней. Также он является потенциальным зоонозным агентом менингита и стрептококкового подобного токсическому шоку синдрома у человека. *Streptococcus suis* является в значительной степени инкапсулированным патогеном и описано множество серотипов на основе антигенного разнообразия капсульных полисахаридов. *Streptococcus suis* использует арсенал факторов вирулентности для ускользания от иммунной системы хозяина. Взятые вместе, эти характеристики затруднили разработку эффективных вакцин для борьбы с этим важным патогеном. Недавно была опубликована обзорная статья, касающаяся вакцин против *Streptococcus suis* (Mariela Segura: "Streptococcus suis vaccines: candidate antigens and progress, Expert Review of Vaccines, Volume 14, 2015, Issue 12, pages 1587-1608). В этом обзоре собрана и сравнена информация из клинической области и экспериментальные данные для обзора современного состояния разработки вакцины против *Streptococcus suis*, как описано в настоящем описании ниже.

Используемые в настоящее время вакцины в основном представляют собой цельноклеточные бактерины. Однако в отчетах с мест применения описана трудность контроля и управления течением заболевания и, в частности, частым является "неуспех вакцины". Основным источником инфекции являются свиньи-переносчики, и в распространение заболевания в стаде вовлечена как вертикальная, так и горизонтальная передача. Объединение животных-переносчиков с восприимчивыми животными в условиях стресса, таких как отнятие и транспортировка, обычно приводит к клиническому заболеванию. Практики раннего отнятия с использованием медикаментов и изолированного раннего отнятия не устраняют инфекцию *Streptococcus suis*. Таким образом, эффективные меры контроля для предупреждения заболевания зависят от профилактических/метафилактических процедур (когда это допустимо) и от вакцинации. В настоящее время, усилия по иммунизации на местах сфокусированы на применении коммерческих или аутогенных бактеринов. Эти вакцинные стратегии используют либо для поросят, либо для (взрослых) самок животных (молодые свиньи и свиноматки). От момента отнятия и далее поросята являются более предрасположенными к инфекциям

Streptococcus suis вследствие стрессов, ассоциированных с отнятием, а также с частой последующей транспортировкой. Таким образом, часто используют дородовую иммунизацию самок животных (часто называемую "вакцинацией свиноматок") в попытках создания и передачи пассивного иммунитета поросятам и обеспечения защиты против *Streptococcus suis* в этих стрессовых условиях на раннем этапе жизни. Более того, вакцинация свиноматок является менее дорогостоящей и трудоемкой, таким образом, представляя собой экономическую альтернативу вакцинации поросят. Тем не менее, доступные результаты, по-видимому, указывают на то, что вакцинация свиноматок бактеринами также является спорной. Во многих случаях вакцинированные свиноматки, даже если их вакцинируют дважды до родов, отвечают плохо или вообще не отвечают на вакцинацию, что приводит к низкому материнскому иммунитету, передаваемому потомству. И даже если материнский иммунитет передается на достаточном уровне, во многих случаях уровни материнских антител являются слишком низкими для обеспечения адекватной защиты в наиболее критический период в возрасте 4-7 недель.

У поросят на местах часто используют аутогенные бактерины, особенно в Европе. Их получают из вирулентного штамма, выделенного на ферме с клиническими проблемами, и применяют на той же ферме. Одним из недостатков аутогенных бактеринов является то, что данные о безопасности вакцины отсутствуют и могут возникнуть тяжелые неблагоприятные реакции. Ошибки взятия образцов (вследствие использования только одной или двух свиней или образцов) могут приводить к невозможности идентифицировать штамм или серотип, ассоциированный с последней вспышкой. Эта невозможность может быть особенно проблематичной в эндемических стадах. Наконец, наиболее важной дилеммой аутогенных бактеринов является то, что их фактическая эффективность плохо исследована. Поскольку применение аутогенных вакцин является эмпирическим, не является неожиданным, что результаты, полученные для этих вакцин, являются противоречивыми.

Также в данной области описаны другие экспериментальные вакцины. Kai-Jen Hsueh et al. показали ("Immunization with *Streptococcus suis* bacterin plus recombinant Sao protein in sows conveys passive immunity to their piglets": BMC Veterinary Research, BMC series - open, inclusive and trusted, 13:15, 7 January 2017), что бактерин плюс субъединица могут быть основой успешной вакцинации свиноматок для сообщения защитного иммунитета их поросятам.

Также в данной области описаны живые ослабленные вакцины. Показано, что не инкапсулированные изогенные мутанты *Streptococcus suis* серотипа 2 являются авирулентными. Тем не менее, живой вакцинный состав на основе не инкапсулированного мутанта 2 серотипа индуцировал только частичную защиту от смерти и не предотвращал развитие клинических признаков у свиней, зараженных штаммом дикого типа (Wisselink HJ, Stockhofe-Zurwieden N, Hilgers LA, et al. "Assessment of protective efficacy of live and killed vaccines based on a non-encapsulated mutant of *Streptococcus suis* serotype 2": Vet Microbiol. 2002, 84:155-168).

В последние годы был описан обширный перечень иммуногенных молекул *Streptococcus suis*, и большинство из них открыты посредством иммунопротеомики с использованием либо сыворотки от выздоровевших инфицированных свиней или человека и/либо полученной в лаборатории иммунной сыворотки. В WO2015/181356 (IDT Biologika GmbH) показано, что антигены протеазы IgM (либо целый белок, либо высококонсервативный домен Mac-1, соответствующий только приблизительно 35% полного белка) могут индуцировать защитный иммунный ответ у поросят в схеме вакцинации, состоящей в введении двух доз антигена протеазы IgM, необязательно в комбинации с примирующей вакцинацией, содержащей бактериин. Эти данные демонстрируют только успешную вакцинацию у поросят в возрасте 5-7 недель, которым провели контрольное заражение в возрасте 9 недель, таким образом, значительно позже периода риска (т.е. периода максимальной встречаемости инфекции патогенными *Streptococcus suis*) через 2-3 недели после отъема, т.е. в возрасте 4-7 недель. Отсутствует указание на то, способен ли антиген протеазы IgM преодолеть распространенную проблему интерференции в отношении антител, присутствующих у животного, подлежащего вакцинации. Напротив, выбор вакцинации животных в возрасте 5-7 недель явно указывает на то, что предполагается избегание интерференции с антителами материнского происхождения. Таким образом, без какого-либо доказательства эффективности в практических обстоятельствах (антитела *Streptococcus suis*, присутствующие в ходе вакцинации и контрольной инфекции в пределах окна 2-3 недели после стресса, обусловленного отъемом или транспортировкой), все еще сомнительно, является ли представленная стратегия вакцины на основе протеазы IgM/бактерина эффективной на практике. Таким образом, для многих лицензированных вакцин на основе бактеринов, которые одобрены в продажу, было показано, что они сами по себе являются эффективными в исследованиях на животных (в ином случае они бы не были одобрены для коммерческого использования), однако они часто не обеспечивают защиту в практических условиях реальной жизни. Отмечается, что в WO2017/005913 (Intervacc AB) также описано применение антигена протеазы IgM (в частности, полипептида протеазы IgM, слитого с нуклеотидазой), однако было показано только свойство, состоящее в способности индуцировать серологический ответ. В этой международной патентной заявке не показан защитный эффект антигена протеазы IgM.

ЗАДАЧА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задачей изобретения является поиск стратегии вакцинации, которая является эффективной для защиты молодых поросят от *Streptococcus suis* (Ssuis) в течение полного периода 2-3 недель после отъема (т.е. в течение полного периода, когда возраст поросят составляет 4-7 недель). Следующей задачей является обеспечения защиты в (обычных) обстоятельствах, когда рассматриваемые животные, подлежащие вакцинации, являются серопозитивными в отношении антител против Ssuis.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Чтобы решить задачу изобретения, была разработана вакцина, содержащая антиген

протеазы IgM *Streptococcus suis*, для применения в способе, где вакцину вводят самке свиньи для того, чтобы защитить поросенка от *Streptococcus suis* посредством употребления молозива вакцинированной самки свиньи. Молозиво, как правило, употребляется в течение 48 часов, в частности, в течение 24 часов после рождения поросенка, чтобы гарантировать, что высокие количества антител материнского происхождения достигнут кровотока поросенка после прохождения этих антител через стенку кишечника.

Неожиданно, было обнаружено, что с использованием антигена протеазы IgM (таким образом, даже с использованием вакцины, которая содержит в качестве свиного антигена только антиген протеазы IgM *Streptococcus suis*) для индукции антител у самки животного, поросята достигают достаточной защиты от *Streptococcus suis* посредством употребления молозива вакцинированного животного. В рамках настоящего изобретения впервые было продемонстрировано, что антиген, для которого было показано, что он имеет защитный эффект у поросят, является полезным для вакцинации свиноматок для обеспечения очевидного защитного эффекта у поросят, как правило, по меньшей мере в окне 2-3 недель после отъема.

Также изобретение относится к использованию антигена протеазы IgM *Streptococcus suis* для производства вакцины для защиты поросенка от *Streptococcus suis* путем введения вакцины самке свиньи и обеспечения возможности для поросенка употребить молозиво вакцинированной самки свиньи. Как указано в настоящем описании выше, для обеспечения оптимальной защиты молозиво, как правило, употребляется в течение 48 часов, в частности, в течение 24 часов, после рождения поросенка.

Выше отмечалось, что в вакцине антиген, как правило, комбинирован с фармацевтически приемлемым носителем, т.е. биосовместимой средой, т.е. средой, которая после введения не индуцирует значительные неблагоприятные реакции у рассматриваемого животного, и которая способна презентировать антиген иммунной системе животного-хозяина после введения вакцины. Таким фармацевтически приемлемым носителем может быть, например, жидкость, содержащая воду и/или любой другой биосовместимый растворитель или твердый носитель, такой как носитель, часто используемый для получения лиофилизированных вакцин (на основе сахаров и/или белков), необязательно содержащий иммуностимулирующие вещества (адъюванты). Необязательно добавляют другие вещества, такие как стабилизаторы, модификаторы вязкости или другие компоненты в зависимости от предполагаемого применения и требуемых свойств вакцины.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вакцина представляет собой фармацевтическую композицию, которую безопасно вводить рассматриваемому животному, и которая способна индуцировать защитный иммунитет у этого животного от патогенного микроорганизма, т.е. индуцировать успешную защиту от микроорганизма.

Антиген протеазы IgM *Streptococcus suis* представляет собой фермент, который

осуществляет специфическую деградацию IgM свиней (но не IgG свиней или IgA свиней; Seele et al, in Journal of Bacteriology, 2013, 195 930-940; и Vaccine 33:2207-2212; 5 May 2015), белка, обозначаемого как IdeS_{suis}, или его иммуногенной части (как правило, имеющей длину по меньшей мере приблизительно 30-35% от полноразмерного фермента). Целый фермент имеет массу приблизительно 100-125 кДа, соответствующую приблизительно 1000-1150 аминокислот, причем размер зависит от серотипа *S. suis*. В WO 2015/181356 приведено несколько последовательностей, которые соответствуют антигену протеазы IgM *Streptococcus suis*, а именно, SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7 и SEQ ID NO:5, причем последняя является иммуногенной частью полноразмерного фермента (обозначаемой как домен Mac-1, т.е. аминокислоты 80-414 SEQ ID NO:7). Другие примеры иммуногенных частей полноразмерного фермента приведены WO2017/005913. В частности, протеаза IgM может представлять собой протеазу согласно SEQ ID NO:1 WO2015/181356 или белок, обладающий по меньшей мере 90%, или даже 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99%, вплоть до 100% идентичностью последовательности в перекрывающихся участках. Идентичность аминокислотных последовательностей может быть установлена посредством программы BLAST с использованием алгоритма blastp с параметрами по умолчанию. Ожидается, что протеазы IgM *Streptococcus suis* различных серотипов имеют идентичность последовательности выше 90%, в частности, ожидается, что она составляет 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% и вплоть до 100%. Искусственный белок, например, может быть получен для оптимизации выхода рекомбинантной продуцирующей системы для антигена, может иметь более низкую идентичность аминокислотной последовательности, такую как 85%, 80%, 75%, 70% или даже 60% по сравнению с целым ферментом, при сохранении требуемой иммуногенной функции, и в рамках настоящего изобретения он понимается как антиген протеазы IgM *Streptococcus suis*.

Защита от микроорганизма представляет собой способствование предупреждению, смягчению или излечению патогенной инфекции этим микроорганизмом или нарушения в результате этой инфекции, например, предупреждению или снижению одного или нескольких клинических признаков инфекции этим патогеном.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В первом варианте осуществления настоящего изобретения поросенок является защищенным в течение четырех недель после употребления молозива. Предпочтительно поросенок является защищенным в течение шести недель после употребления молозива, более предпочтительно поросенок является защищенным в течение восьми недель после употребления молозива и наиболее предпочтительно поросенок является защищенным в течение десяти недель после употребления молозива. Неожиданно, настоящее изобретение делает возможным каждый из этих вариантов осуществления, хотя обычно известно, что даже в случае, когда антитела материнского происхождения (MDA) продемонстрировали обеспечение (некоторой) защиты, считается, что, как правило,

уровень этих MDA достигает непротективного уровня через 4-5 недель после употребления молозива, т.е. когда возраст поросят составляет 4-5 недель. Это означает, что MDA *Ssuis*, даже когда они являются защитными, обычно считаются неспособными защитить поросенка в ходе полного периода, когда возраст поросенка составляет от 4 до 7 недель, не говоря о возрасте от 4 до 10 недель.

В другом варианте осуществления способ предназначен для обеспечения защиты против клинических признаков, ассоциированных с патогенной инфекцией *Streptococcus suis*. Типичными клиническими признаками, ассоциированными с патогенной инфекцией *Streptococcus suis*, являются повышенная ректальная температура, нарушение двигательной активности (хромота, опухшие суставы), повышенная частота дыхания и неврологические признаки (например, тремор, судороги, кривошея, атаксия). Предупреждение, смягчение или излечение одного или нескольких признаков было бы полезным у свиней, не только потому что это является признаком того, что патогенная инфекция подавляется.

В другом варианте осуществления вакцина предназначена для обеспечения защиты против повышенной смертности, ассоциированной с патогенной инфекцией *Streptococcus suis*.

В другом варианте осуществления антиген протеазы IgM присутствует в количестве менее 250 мкг на дозу вакцины, предпочтительно в количестве 120 мкг на дозу или менее. Минимальное количество представляет собой количество, при котором все еще может быть достигнут защитный иммунитет. Оно может быть установлено посредством стандартного экспериментирования и зависит, среди прочего, от иммуногенных свойств выбранного антигена протеазы IgM, а также от требуемого уровня защиты. Для данной вакцины полагают, что минимальное количество составляет 1 мкг на дозу, однако оно может представлять собой любую более высокую дозу, такую как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 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, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 или любое целое число в диапазоне 61-119 вплоть до и включая 120 мкг на дозу.

В одном варианте осуществления самку свиньи вакцинируют во время беременности. Хотя предполагается, что самке свиньи может быть проведена адекватная вакцинация между беременностями для поддержания уровня антител (непрерывно) на достаточном уровне, показано, что является полезной вакцинация животного во время беременности. В частности, было показано, что является пригодной вакцинация самок свиней в течение периода 0-8 недель до родов, в частности, в течение периода 0-6 недель до родов, в обоих случаях, как правило, введение вакцины осуществляется по меньшей мере за 1, 2 или 3 недели до родов.

В другом варианте осуществления самку свиньи вакцинируют два раза. Известно, что было показано, среди прочих, в заявках на патент Европы 17184626.4 и 17207758.8 (поданных от имени Intervet International BV), что способ вакцинации, состоящий из проведения только одной инъекции вакцины, содержащей антиген протеазы IgM *Ssuis*,

является достаточным для обеспечения защитного иммунитета у вакцинированного животного и, таким образом, что усиливающая вакцинация может отсутствовать для достижения указанного защитного иммунитета. Таким образом, понятно, что также в способе по настоящему изобретения одной инъекции вакцины является достаточно для индукции достаточных уровней антител против *Ssuis* у самки животного. Однако двукратная вакцинация самки свиньи может даже увеличить уровни антител, которые в конечном итоге достигаются у поросят путем употребления молозива, и такая стратегия не доставляет серьезных проблем при каждодневной практике содержания взрослых животных. В таком режиме из двух инъекций первую (примирующая) вакцинацию, как правило, усиливают в пределах 8 недель после первого введения, часто в пределах 6, 4 или даже 2 недель после первого введения.

ПРИМЕР

ЗАДАЧА

Задачей этого исследования было тестирование эффективности субъединичной вакцины на основе протеазы IgM у беременных свиноматок против заражения *Streptococcus suis* в различном возрасте, например, в возрасте 4, 6, 8 и 10 недель.

СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для этого исследования использовали 12 беременных свинок. Шесть свинок вакцинировали за 6 и 2 недели до оцениваемых родов посредством рекомбинантного антигена протеазы IgM rIdcSsuis (Seele et al: Vaccine 33:2207-2212; 5 May 2015, par. 2,2.) в количестве 120 мкг на дозу (как определено посредством анализа Брэдфорда с использованием BSA в качестве стандарта) в адъюванте XSolve (MSD Animal Health, Вохmeer, Нидерланды). Шесть свинок оставляли в качестве невакцинированных контролей. После родов поросят свиноматок разделяли на четыре группы заражения по 20 поросят в каждой (10 поросят от вакцинированных свиноматок и 10 поросят от контрольных свиноматок), обеспечивая равное распределение различных помётов на группы. В четырех группах проводили заражение в возрасте 4, 6, 8 и 10 недель, соответственно, посредством вирулентной культуры *Ssuis* серотипа 2. В течение 9-11 суток после заражения поросят наблюдали каждые сутки в отношении клинических признаков инфекции *S. suis*, таких как депрессия, двигательные проблемы и/или неврологические признаки, с использованием обычной оценочной системы, начинающейся от 0 (отсутствие признаков) до 3 для тяжелых случаев. Ту же оценочную систему (0 для отсутствия видимого параметра, наиболее высокая цифра для тяжелых случаев) использовали для каждого параметра. Животных, достигших конечного результата с точки зрения гуманных соображений, умерщвляли. Через определенные периоды времени до и после вакцинации (свиноматки) и непосредственно перед заражением (поросята) проводили взятие крови для определения антител в сыворотке. За определенные периоды времени до и после заражения проводили взятие крови в гепарин от поросят для повторного выделения использованного для заражения штамма. Через тринадцать недель после усиливающей вакцинации 4 свиноматок умерщвляли и область

инъекции исследовали в отношении локальных реакций или остатков вакцины.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Четыре вакцинированных свиноматки подвергали посмертному обследованию области инъекции. Два животных имели небольшую (диаметром 2-3 см) локальную реакцию в области усиливающей инъекции, состоящую в обесцвечивании с уплотненной консистенцией ткани. Не наблюдалось абсцессов или остатков вакцины. Таким образом, можно было сделать заключение, что вакцина является безопасной для введения.

В день первой вакцинации (6 недель до оцениваемых родов) свинки имели (низкие) титры IgG-антител против антигена. После вакцинации вакцинированные свинки продемонстрировали отчетливую сероконверсию, в то время как контрольные животные оставались на низком уровне (см. фиг.1: дородовые данные у свиноматок, послеродовые данные у свиноматок). Средние титры IgG в молозиве были на $8,8 \log_2$ более высокими у вакцинированных животных по сравнению с контролями. После вскармливания поросят вакцинированных самок имели приблизительно на $7,7 \log_2$ более высокие титры по сравнению с контрольными животными. Отличие среднего титра в возрасте 4, 6, 8 и 10 недель составляло 6,7, 5,3, 4,8 и $3,6 \log_2$, соответственно. Данные после заражения для периода до умерщвления (сутки 9-11) указаны в таблице 1.

Таблица 1. Результаты после заражения

Возраст	Группа	Клиническая оценка (среднее значение)	№ эвтаназий на всех	Время вживания (среднее количество дней)
4 недели	Вакцина	17,1	3/10	9,5
	Контроль	31,6	6/10	8,0
6 недель	Вакцина	5,8 ^a	2/10 ^b	8,8 ^a
	Контроль	59,7	9/10	2,7
8 недель	Вакцина	2,3 ^a	0/10 ^b	11,0 ^a
	Контроль	59,5	8/10	4,7
10 недель	Вакцина	0,7 ^a	0/10	10,0
	Контроль	15,6	2/10	8,8

^a значительно отличается от контрольной группы (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$)

^b значительно отличающиеся от контрольной группы (точный критерий Фишера, $p < 0,05$)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из результатов можно сделать заключение, что вакцинация свиноматок субъединичной вакциной на основе протеазы IgM является адекватной стратегией вакцинации для контроля инфекций *Streptococcus suis* у поросят. Вакцина индуцировала значительно лучшую защиту против заражения *Streptococcus suis* в возрасте вплоть до 10 недель по сравнению с защитой, достигаемой у поросят, которые получали молозиво

естественным образом инфицированных материнских животных. Это демонстрирует, что поросята могут быть защищены в течение полного периода 2-3 недели после отъема, т.е. в течение периода, когда возраст поросят составляет 4-7 недель и даже после этого периода.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вакцина, содержащая антиген протеазы IgM *Streptococcus suis* для применения в способе, где вакцину вводят самке свиньи для защиты поросят против *Streptococcus suis* посредством употребления молозива вакцинированной самки свиньи.
2. Вакцина для применения по п.1, отличающаяся тем, что поросенок является защищенным в течение четырех недель после употребления молозива.
3. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что поросенок является защищенным в течение шести недель после употребления молозива.
4. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что поросенок является защищенным в течение восьми недель после употребления молозива.
5. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что поросенок является защищенным в течение десяти недель после употребления молозива.
6. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что способ предназначен для обеспечения защиты против клинических признаков, ассоциированных с патогенной инфекцией *Streptococcus suis*.
7. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что способ предназначен для обеспечения защиты против увеличенной смертности, ассоциированной с патогенной инфекцией *Streptococcus suis*.
8. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что антиген протеазы IgM присутствует в количестве менее 250 мкг на дозу вакцины, предпочтительно в количестве 120 мкг на дозу или ниже.
9. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что вакцину вводят самке свиньи, когда она является беременной.
10. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что вакцину вводят самке свиньи в течение периода 0-8 недель перед родами.
11. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что вакцину вводят самке свиньи в течение периода 0-6 недель перед родами.
12. Вакцина для применения по любому из предшествующих пп., отличающаяся тем, что вакцину вводят самке свиньи два раза.
13. Применение антигена протеазы IgM *Streptococcus suis* для производства вакцины для защиты поросят против *Streptococcus suis* путем введения вакцины самке свиньи и обеспечения возможности поросятам употребить молозиво от вакцинированной самки свиньи.

По доверенности

ФИГ.1

