



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 7835  
(51) A61K 39/10 (2006.01)  
G01N 33/569 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2022/0981.2

(22) 08.11.2022

(45) 24.02.2023, бюл. №8

(72) Хусаинов Дамир Микдатович; Исламов Есенбай Исраилович; Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Сансызбай Абылай Рысбайұлы; Даниярұлы Дарын; Нұрғазы Бану Өміртайқызы; Ахметжанова Молдир Нурлановна; Алиев Абай Канатович; Несипбаева Айгуль Кадировна; Сабырбекова Шынар Касеновна; Базарбаев Рыскелди Кантореевич; Майхин Кыдырбай Тажибаевич; Ахметова Гульнази Даулетхановна; Ибажанова Асем Сериковна; Мухпулова Гузалай Алимжановна; Базилбаев Сакен Мухатаевич; Досанов Дархан Турарбекович; Джунусова Райхан Жексенбаевна; Бердалина Акнур Жакыпгереевна; Кұлбек Санжар Маратұлы; Куттымуратова Куралай Бисеновна; Мухитдинова Гульнара Ергалиевна; Кулатаев Бейбит Турганбекович; Абжалиева Аида Болатбековна

(73) Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный аграрный исследовательский университет»

(56) KZ 17059 А, 15.03.2006

(54) **ВАКЦИНА ПРОТИВ ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА**

(57) Полезная модель относится к области иммунологии и может быть использовано при промышленном производстве вакцины против эмфизематозного карбункула.

Сущность полезной модели: вакцина против эмфизематозного карбункула, включающая инактивированный вакцинный штамм *Clostridium chauvoei* и гель гидрата окиси алюминия, дополнительно содержит иммуногенную фракцию штамма *Clostridium chauvoei*.

Преимуществом предлагаемого способа является повышение иммуногенности вакцины.

(19) KZ (13) U (11) 7835

Полезная модель относится к области иммунологии и может быть использовано при промышленном производстве вакцины против эмфизематозного карбункула.

Известна вакцина против эмфизематозного карбункула, включающая инактивированный производственный штамм *Clostridium chauvoei* и гель гидрата окиси алюминия. (А61К 39/08, С12N 1/20 // (С12N 1/20, С12R 1:145). Способ изготовления вакцины против эмфизематозного карбункула и питательная среда для культивирования возбудителя эмфизематозного карбункула/ Предварительный патент на полезную модель Республики Казахстан № 17059. - №3, 15.03.2006).

Недостатком существующей вакцины является низкая активность вакцины.

Целью полезной модели является разработка способа получения более иммуногенной вакцины.

Эта цель достигается тем, что основой для приготовления вакцины служит инактивированный вакцинный штамм *Clostridium chauvoei*, гель гидрата окиси алюминия и иммуногенная фракция штамма *Clostridium chauvoei*.

Пример 1 - Приготовление вакцины против эмфизематозного карбункула.

Технологический процесс предлагаемого способа осуществляется следующим образом.

1 Приготовление матровой расплодки.

Производственные штаммы получают из специализированного учреждения Республики Казахстан, а также из Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации (ВГНИИ г. Москва).

Штамм используют на биопредприятии как рабочий производственный штамм и поддерживают его на мясопептонном печеночном бульоне с кусочками печени (среда Китт-Тароцци-МППБ) и на мозговой среде под вазелиновым, парафиновым, подсолнечным или кокосовым маслом в запаянных пробирках, штаммы пересевают один раз в три месяца. Производственные штаммы на биопредприятии один раз в три месяца пассируют через морских свинок с последующим обязательным получением чистой культуры на бактериологических чашках с кровавым сахарным агаром.

Для получения матровых культур посеvy делают из крови сердца или из кусочков печени морских свинок, павших через 18-36 часов после заражения 16-18-часовой культурой производственного штамма *Clostridium chauvoei* в бутылки с МППБ. Засеянные культуры выращивают в термостате в аэробных условиях в течение 24 часов.

В качестве исходного материала для засева всей серии допускают использование матровой культуры не только первой генерации от морской свинки, но и последующих двух пересевов на МППБ. Контроль таких исходных культур (матра) производят так же, как и полученных непосредственно от морских свинок. В среду, предназначенную для расплодки

культур, добавляют 0,2% глюкозы. Необходимо, чтобы среда перед посевом была теплой (37-39°C).

2 Засев производственного штамма *Clostridium chauvoei* в ферментеры.

Далее эту культуру вносят в биореактор с питательной средой из расчета 2-4 литра на каждые 100 литров бульона.

Предварительно питательную среду фильтруют через фильтр-пластины СФ под давлением в предварительно простерилизованный биореактор. Затем реактор с питательной средой засеивается культурой штамма *Clostridium chauvoei*. Культивирование осуществляют в течение 20-22 ч в биореакторе при следующих значениях основных параметров: температуре 37,5±0,5°C, pH 7,8-8,0, перемешивание при 1200-1500 об/мин.

3 Инактивация взвеси производственного штамма *Clostridium chauvoei*.

При установлении типичной для *Clostridium chauvoei* морфологии и отсутствии посторонней микрофлоры в культуру добавляют 0,5-0,7% химически чистого формалина (ГОСТ 1625-76) с содержанием формальдегида не ниже 36% в пересчете к 37% содержанию. Формалинизированную культуру выдерживают при температуре 30-39°C в течение 3-5 суток. В течение этого срока культуру перемешивают 2-3 раза. По истечении указанного срока для проверки на стерильность производят высевы на МПА, МПБ, МППБ и микроскопию мазков, окрашенных по Граму. Наблюдение за посевами ведется в течение 3-х суток. Все посеvy должны оставаться стерильными, в мазках отсутствовать посторонние микроорганизмы.

4 Изготовление иммуногенной фракции из производственного штамма *Clostridium chauvoei*.

Часть бактериальной массы производственного штамма *Clostridium chauvoei* подвергают воздействию (с помощью ультразвукового диспергатора УЗДН-1 при частоте 20-30 кГц, мощности 100 Вт/см<sup>2</sup>) ультразвуковых волн до просветления (25-30 минут).

После ультразвукового воздействия осуществляют центрифугирование дезинтеграта при 3 тыс об/мин. в течение 15 минут. Надосадочную часть используют как иммуногенную фракцию производственного штамма *Clostridium chauvoei*.

5 Изготовление вакцины.

В реакторе с формалинизированной культурой, после определения ее стерильности, устанавливают pH 7,2-7,4 10%-ным раствором едкого натра, после чего добавляют стерильный 3%-ный гель гидрата окиси алюминия (ГОСТ 18287-72) в количестве 15% к общему объему культуры и перемешивают, включая мешалку каждые 2 часа в течение первых 10 часов сорбции. Затем отключают подогрев и вакцину оставляют при комнатной температуре на 2-3 суток до полного просветления надосадочной жидкости.

При концентрации микробных клеток в пределах 8 млрд. вакцина требует концентрации на 20%, при концентрации 7 млрд. препарат концентрируют на 30%, 6 млрд. - на 40%, 5 млрд. - на 50%. К

оставшейся части стерильно при постоянном перемешивании добавляют расплавленный агар-агар из расчета 50 г сухого агара на 100 литров вакцины. После этого рН вакцины доводят до 7,4-7,6 двунормальным раствором едкого натра и добавляют 5% иммунного антигена производственного штамма *Clostridium chauvoei*. Далее вакцину проверяют на стерильность путем посева на МППБ, МПА, МПБ. Наблюдение за посевами ведут в течение 3-х суток. Посевы должны оставаться стерильными.

#### 6 Упаковка вакцины

После проверки вакцины на стерильность содержимое реактора при постоянном перемешивании разливают во флаконы емкостью 100-200 мл. Флаконы закрывают резиновыми пробками с последующей обкаткой металлическими колпачками. После этого на флаконы наклеивают этикетки, на которых должны быть следующие обозначения: наименование предприятия-изготовителя и его товарный знак; название биопрепарата; количество его в мл; номер серии; дата изготовления; срок годности; номер контроля; условия хранения; дозы и способ применения; обозначение технических условий.

Преимуществом предлагаемого способа является повышение иммуногенности вакцины.

Пример 2 – Изучение иммуногенных свойств вакцины.

Иммуногенные свойства каждой серии вакцины проверяли путем вакцинации 10 морских свинок массой 350-450 г в дозе 0,4 см<sup>3</sup>. Вакцину вводили подкожно в области брюшных мышц. Через 18-20 суток 10 вакцинированных свинок и 10 контрольных заражали сухой споровой культурой штамма Р15 в объеме 0,1 мл в разведении 1:10, что составляет 20 ЛД<sub>50</sub>. Споровую культуру вводили внутримышечно в смеси с 0,2 см<sup>3</sup> 10%-ного раствора хлористого кальция, предназначенного для внутривенного введения.

Споровую культуру биопредприятиям рассылает специализированное учреждение Республики Казахстан. Ампулы со споровой культурой хранятся в холодильнике при температуре 4-6°С. Для испытания иммуногенных свойств вакцины используют не менее трех ампул. В каждую ампулу вносят 1 мл стерильного физиологического раствора. После полного растворения содержимое ампул переносят в пробирку, которую выдерживают при комнатной температуре в течение 1 часа. Для заражения опытных и контрольных морских свинок можно использовать предварительно подтитрованную суточную культуру штамма Р15.

Результаты опыта, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о высоких защитных свойствах заявленной вакцины.

Таблица 1

Иммуногенные свойства предлагаемой вакцины в сравнении с коммерческой

Вид животных	Вакцина	Заразили	Заболело, пало	Здоровы
Морские свинки	Заявленная	10	-	10
Морские свинки	Коммерческая	10	2	8
Морские свинки	Контрольная	10	10	10

#### **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ**

Вакцина против эмфизематозного карбункула, включающая инактивированный производственный штамм *Clostridium chauvoei* и гель гидрата окиси

алюминия, *отличающаяся* тем, что дополнительно содержит иммуногенную фракцию производственного штамма *Clostridium chauvoei*.