



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) U (11) 7847
(51) C12N 1/20 (2006.01)
A61K 39/07 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21) 2022/0965.2

(22) 04.11.2022

(45) 24.02.2023, бюл. №8

(72) Хусаинов Дамир Микдатович; Ибрагимов Примкул Шолпанкулович; Исламов Есенбай Исраилович; Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович; Кенжебекова Жулдызай Жакабаевна; Талгатқызы Асылхан; Джанабекова Гульмира Кумискалиевна; Батанова Жанат Мухаметкалиевна; Абдуалиева Асем Абдимуратовна; Омарбекова Уржан Жакатаевна; Хасанова Гузель Абдулсатаровна; Усмангалиева Сымбат Суттибаевна; Ахметова Гульнази Даулетхановна; Омарбекова Гульжан Кабылжановна; Ахметжанова Молдир Нурлановна; Алимов Айтбай Айткенович; Турсынбаев Нұртас Сәбитжанұлы; Махмутов Абзал Касенович; Сабырбекова Шынар Касеновна; Қадырғали Әсем Төлегенқызы; Таев Арман Багдатович; Куттымуратова Куралай Бисеновна; Есалинова Айым Ерланқызы; Мусоев Асилбек Маилибоевич

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

(56) KZ 14291 A, 05.05.2004

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕНА СИБИРЕЯЗВЕННОГО БАКТЕРИЙНОГО СТАНДАРТНОГО

(57) Полезная модель относится к области ветеринарной микробиологии и биотехнологии, в частности к способу получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного, применяемого для серологической диагностики сибирской язвы.

Техническим результатом является повышение иммуногенной активности и безопасности вакцины против оспы верблюдов.

Способ получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного включает отдельный высеv вакцинных штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ, *Bacillus anthracis* СТИ-1, *Bacillus anthracis* М-71, снятие бактериальной массы *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* М-71, а также споровой массы *Bacillus anthracis* СТИ-1, их стерилизацию, ультразвуковую дезинтеgrацию при частоте 22 КГц, мощности 60 Вт/см² в течение 8-12 минут, последующее центрифугирование дезинтеgrата при 8000-10000 об/мин в течение 20-30 мин, сбор надосадочной жидкости, смешивание партий надосадочной жидкости в соотношении 1:1:1, проверку на активность и лиофильное высушивание.

(19) KZ (13) U (11) 7847

Полезная модель относится к области ветеринарной микробиологии и биотехнологии, в частности к способу получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного, применяемого для серологической диагностики сибирской язвы.

Известен способ получения сибиреязвенного антигена, включающий высеv вакцинных бескапсульных штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* СТИ-1, снятие бактериальной массы, ее стерилизацию, сушку, экстрагирование, фильтрацию и стерилизацию экстракта (Предварительный патент на изобретение Республика Казахстан №14291 «Способ получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного», кл. А61К 39/07, С12N 1/20// (С12N 1/20, С12R 1:07), 05.05.2004, бюл. № 5.).

Недостатком данного способа является низкая специфичность и активность антигена сибиреязвенного бактериального стандартного.

Задачей полезной модели разработка способа получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного, безопасного, дешевого, позволяющего получить активный и специфический антиген.

Техническим результатом является повышение специфичности и активности антигена сибиреязвенного бактериального стандартного.

Задача достигается тем, что предлагается раздельный высеv вакцинных штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ, *Bacillus anthracis* СТИ-1, *Bacillus anthracis* М-71, снятие бактериальной массы *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* М-71, а также споровой массы *Bacillus anthracis* СТИ-1, их стерилизацию, ультразвуковую дезинтеграцию при частоте 22 КГц, мощности 60 Вт/см² в течение 8-12 минут, последующее центрифугирование дезинтеграта при 8000-10000 об/мин в течение 20-30 мин, сбор надосадочной жидкости, смешивание партий надосадочной жидкости в соотношении 1:1:1, проверку на активность и лиофильное высушивание.

Способ осуществляется следующим образом.

А. Получение антигена.

Для получения расплодки делают раздельно посев трех штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ, *Bacillus anthracis* СТИ-1, *Bacillus anthracis* М-71 во флаконы с МПБ (рН 7,2-7,4) и ставят в термостат на 18-20 часов при температуре 36-37°C. Одновременно для контроля делают посев на МПА, МПБ и МППБ под вазелиновым маслом и среду Сабуро.

Бульонную культуру сибирской язвы засевают на чашки Петри или матрасные колбы с 3%-ным агаром, затем тщательно распределяют по

поверхности агара. Посевы ставят в термостат при 36-37°C на 24 часа.

Выросшую культуру штамма *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* М-71 снимают шпателем, определяют концентрацию живых микробов в 1 см³ методом Коха, помещают в чашки Петри и убивают в автоклаве при 120°C в течение 30 минут. Выросшую культуру штамма СТИ-1 оставляют на 5 суток для споруляции, затем также снимают шпателем, определяют концентрацию живых спор в 1 см³ методом Коха, помещают в чашки Петри и убивают в автоклаве при 120°C в течение 30 минут.

Суспензию бацилл и спор подвергли дезинтеграции ультразвуком при частоте 22 КГц, мощности 60 Вт/см² в течение 8-12 минут, с последующим центрифугированием дезинтеграта при 8000-10000 об/мин в течение 20-30 мин и сбором надосадочной жидкости. Партии надосадочной жидкости смешиванием в соотношении 1:1:1, стандартизируют, лиофильно высушивают и используют в качестве стандартного сибиреязвенного антигена.

Антиген проверяют на активность и стерильность. На стерильность проверяют высеvом на МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом и среду Сабуро. Посевы должны оставаться стерильными при 10-дневном выдерживании в термостате.

Стандартный антиген проверяют на активность с шестью сериями активной преципитирующей сибиреязвенной сывороткой, с нормальной сывороткой лошади и с физиологическим раствором. В уленгутговскую пробирку наливают 0,2-0,3 см³ прозрачной преципитирующей сыворотки. Затем осторожно настилают равное количество антигена так, чтобы между компонентами была ясно выражена граница (тонкая прямая линия).

Реакцию считают положительной, если не позднее, чем через 1 минуту, на границе между компонентами появится тонкое беловатое кольцо. С нормальной сывороткой и физиологическим раствором подобное кольцо не появляется в течение 15 минут. Результаты приведены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы 1, предложенный антиген обладал более высокой активностью (более раннее появления кольца преципитации).

Достижение положительного эффекта при применении разработанного нами антигена сибиреязвенного бактериального стандартного подтверждено в производственных испытаниях, при постановке реакции Асколи более чем в 200 пробах. Антиген обладает достаточно высокой активностью и специфичностью.

Таблица 1.

Результаты проверки опытных серий сибиреязвенных антигенов

Номера серий преципитирующей сыворотки	Время образования кольца преципитации в реакции Асколи с антигенами различных серий в секундах				
	Опытный	Опытны	Опытны	Контрольный серия	Контрольный

	серия 1	й серия 2	й серия 3	4	серия 5
1	35	39	37	43	42
2	41	37	38	47	42
3	25	24	26	31	28
4	31	35	38	42	39
5	28	27	27	30	34
6	35	36	34	39	42
Нормальная лошадиная сыворотка	-	-	-	-	-
Физиологический раствор	-	-	-	-	-

ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ

Способ получения антигена сибиреязвенного бактериального стандартного, включающий высеv вакцинных бескапсульных штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* СТИ-1, снятие бактериальной массы, ее стерилизацию, сушку, экстрагирование, фильтрацию и стерилизацию экстракта, *отличающийся* тем, что дополнительно высевают штамм *Bacillus anthracis* М-71, выросшие

бациллы штаммов *Bacillus anthracis* 55 ВНИВВиМ и *Bacillus anthracis* М-71, и спор *Bacillus anthracis* СТИ-1 подвергают ультразвуковой дезинтеграции при частоте 22 КГц, мощности 60 Вт/см² в течение 8-12 минут, центрифугируют дезинтегрat при 8000-10000 об/мин в течение 20-30 мин, собирают надосадочную жидкость, смешивают партии надосадочной жидкости в соотношении 1:1:1 и лиофильно высушивают.