



УКРАЇНА

(19) UA (11) 63247 (13) U
(51) МПК
C12N 1/14 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ШТАМ *Bacillus anthracis* UA07, для виробництва вакцини проти сибірки тварин "АНТРАВАК"

1

2

(21) u201014696

(22) 08.12.2010

(24) 10.10.2011

(46) 10.10.2011, Бюл.№ 19, 2011 р.

(72) СКРИПНИК ВАЛЕРІЙ ГРИГОРОВИЧ, СКРИПНИК АРТЕМ ВАЛЕРІЙОВИЧ, КОЛЕСНИКОВА КАТЕРИНА ЮРІЇВНА

(73) СКРИПНИК ВАЛЕРІЙ ГРИГОРОВИЧ, СКРИПНИК АРТЕМ ВАЛЕРІЙОВИЧ, КОЛЕСНИКОВА КАТЕРИНА ЮРІЇВНА

(57) Штам *Bacillus anthracis* UA07, для виробництва вакцини проти сибірки тварин «Антравак», який задепонований у депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів за № 527.

Корисна модель належить до ветеринарної біотехнології, а саме до ветеринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до отримання штаму *Bacillus anthracis* UA07, що використовується для виробництва вакцини живої проти сибірки тварин на підприємствах біологічної промисловості.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є новий штам *Bacillus anthracis* UA07, який має високий рівень спороутворення, має однорідний склад популяції, не утворює капсули, спроможний до утворення екзотоксину, що забезпечує застосування цього штаму для виробництва живої вакцини проти сибірки тварин.

Штам *Bacillus anthracis* UA07 отримано як клон вакцинного штаму *Bacillus anthracis* CTI за допомогою методу селекційного відбору за ознаками спороутворення, культурально-морфологічних властивостей, швидкості споруляції та великої кількості спор.

Штам *Bacillus anthracis* UA07 задепоновано у депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, що знаходиться у м. Київ, вул. Донецька, 30, 8 квітня 2011 року за № 527.

Штам *Bacillus anthracis* UA07 характеризується наступними ознаками.

Морфологічні властивості: витягнуті палички з паралельними боками та обрубленими кінцями, товщина 1-1,5 мкм, довжина 3-8 мкм; в процесі росту на живильних середовищах ростуть поодинокі або утворюють ланцюжки; нерухомі; капсул не утворюють; утворюють спори.

Тинкторіальні властивості: грампозитивні, не-кислотостійкі.

Біохімічні властивості: факультативний анаероб; желатиназний тест-позитивний; тест феніланон-амінотрансферази - негативний; тест редуції азотної кислоти - позитивний; тест окислення D-сорбітолу - негативний; тест окислення глюконату - негативний; не гідролізує сечовину; не ферментує мальтозу; каталазний тест - позитивний; тест альфа-лецитинази - негативний.

Культуральні властивості: на м'ясопептонному бульйоні ватоподібний ріст або у вигляді ниток, пронизуючих поживне середовище, плівку не утворює. На м'ясопептонному агарі - шороховаті (R), випуклі, багрові колонії 2-4 мм в діаметрі, неправильної форми, колір колоній - тьмяно-білувато-кремовий.

Оптимальна температура росту на живильних середовищах: 35±2 °C.

Оптимальний pH росту на живильних середовищах: 7,2-7,4. Може культивуватися при pH 6,8-7,8.

Споруляція: значне утворення спор - до 90 %, 400-800 × 10⁶ /см³.

Вірулентні властивості: патогенний при парентеральному введенні білим мишам в дозі 4 × 10⁶ живих спор; не патогенний для інших тварин; не патогенний для людини.

Імуногенні властивості: однократне введення морським свинкам у дозі 6-8 × 10⁶ живих спор забезпечує імунітет проти введення 1±0,2 × 10⁶ штаму M71 (2-га вакцина Ценковського).

Генетичні особливості штаму: має в своєму складі плазмину pX01, плазмиду pX02 - відсутня.

Приклад 1. Культуру *Bacillus anthracis* UA07 вирощують на агаровому середовищі з переваром Хоттінгера в чашках або бутлях за температури

UA (11) 63247 (13) U

34±2 °C впродовж 96 годин, далі змивають бактеріальну масу фізіологічним розчином натрію хлориду з рН 6,8-7,8, суспензію відсмоктують за допомогою стерильної піпетки у флакон із скляними бусами і визначають число живих спор у суспензії. Звідти відбирають 1 см³ суспензії та проводять десятикратні розведення від 10⁻¹ до 10⁻⁶ на фізіологічному розчині натрію хлориду. Потім із двох останніх розведень проводять висіви на чашки з м'ясопептонним агаром (МПА) по 0,1 см³ суспензії, використовуючи для цього по 3 чашки на одне розведення. Чашки інкубують за температури 35±2 °C впродовж 24 годин. Через 24 години інкубування візуально підраховують кількість колоній, що виросли. Вираховують середнє арифметичне число вирослих колоній. Розрахунок числа живих спор здійснюють за формулою:

$$N = \frac{N_7 + N_8}{1,1}, \text{ де}$$

N₇ - середнє арифметичне число колоній, які виросли в чашках при посіві із розведення 10⁻⁷;

N₈ - середнє арифметичне число колоній, які виросли в чашках при посіві із розведення 10⁻⁸;

1,1 - постійний коефіцієнт.

Для проведення досліду готують розведення спорової суспензії із розрахунку 12±4 × 10⁶ см життєздатних спор. Дослід проводять на морських свинках масою 400-450 г. Щеплення і зараження проводять інтраперитонеально в об'ємі 0,5 см³. Через 14 діб після щеплення проводили зараження тварин. Результати досліджень представлені в таблиці.

№ групи	Кількість тварин в групі	Доза зараження (життєздатних спор)	Кількість живих/загинувших
1	10	1 × 10 ⁶ см ³	10/0
2	10	1 × 10 ⁶ см ³	8/2
3	10	1 × 10 ⁶ см ³	9/1
контроль	10	1 × 10 ⁶ см ³	0/10.

Дані, представлені в таблиці, свідчать, що культура *Bacillus anthracis* UA07 є високо імуногенною та забезпечує надійний захист морських свинок від зараження вірулентною культурою M71 (2-га вакцина Ценковського) на рівні 80-100 %.