

Корисна модель відноситься до ветеринарної мікробіології, а саме до способу визначення термостабільного (ST) ентеротоксину *E. Coli*.

Існуючих способів для діагностики ентеротоксичної форми колібактеріозу, яка визвана штамми кишкової палички, що продукує термостабільний ентеротоксин ще не достатньо.

Виявлення токсигенних, кишкових паличок, які продукують термостабільний ентеротоксин здійснюють за допомогою таких способів як твердофазний радіоімунний, гангліозид-імуноферментний, культурально-клітинні дослідження (цитотоксичність).

Відомо спосіб визначення термостабільного ентеротоксину на 15-ти денних курячих ембріонах та анальна проба мишах - смоктунах. [Колібактеріоз телят. Зароза В.Г., 1991р.].

Існуючих способів для діагностики ентеротоксичної форми колібактеріозу, яка визвана штамми кишкової палички, що продукує термостабільний ентеротоксин ще не достатньо. Недоліком існуючих способів є їх трудомісткість, дорожкозатратність, важковідтворюваність та використання дефіцитних реагентів.

Існує спосіб визначення термолабільного (LT) ентеротоксину за допомогою латекс-діагностикумів в якому частки латекса, іміобілізовані специфічними імуноглобулінами антитоксичної сироватки, здатні аглютинуватися при наявності в реагуючій суміші гомологічних токсинів [А.С. №1750690 СССР 19.12.89. А61К39/108. "Способ получения конъюгированного энтеротоксина *Escherichia coli*"]. За цим способом проводять, імунізацію тварин термолабільним ентеротоксином, отримують антитоксичну сироватку, іміобілізують частинки латексу імуноглобуліновою фракцією, видержують діагностикум у холодильнику 5дб, у якості досліджуваного матеріалу використовують супернатант 16-24 годинних культур *E.coli*, який вирощують на скошеному м'ясопептонному агарі, змивають буфером, стерилізують, додають антибіотик - поліміксін В. Одержану суміш додають до бактеріальної культури і гріють на водяній бані, центрифугують при 8000об/хв, потім супернатанти переносять до стерильних пробірок і використовують для постановки реакції. Цей спосіб може бути прототипом.

Недоліком способу є те, що у зв'язку з відсутністю антигенних властивостей у термолабільному ентеротоксині *E.coli* (гаптен), одержати специфічні імуноглобуліни для створення латекс-діагностикума не можливо.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб біотестування штамів *Escherichia coli* продукуючих термостабільний (ST) ентеротоксин, що включає імунізацію кон'югату термолабільного ентеротоксину, отримання антитоксичної сироватки, виділення імуноглобулінової фракції, центрифугування, іміобілізацію шляхом використання кон'югату як термолабільного так і термостабільного ентеротоксинів *E.coli*. та виготовлення на їх основі латекс-діагностикума, щоб забезпечити ефективність способу біотестування штамів *Escherichia coli* продукуючих термостабільний (ST) ентеротоксин...

Спосіб виконується таким чином. Від тварин імунізованих кон'югатом термолабільного і термостабільного ентеротоксинів отримують сироватку крові, осаджують імуноглобулінову фракцію з антитоксичної гіперімунної сироватки сульфатом амонію, відокремлюють супернатант центрифугуванням при 6000об/хв. протягом 30хвилин., потім проводять діаліз для виділення сульфат іонів. Імуноглобулінову фракцію із антитоксичної гіперімунної сироватки розводять в гліциновому буфері до 1,2% концентрації. Для постановки реакції готують латексний діагностикум. Для цього частки монодисперсних полістиролових латексів з діаметром часток 0,31мкм розводять у співвідношенні 1:3 гліциновим буфером наступного складу: Гліцин - 7,3г, хлорид натрію - 10г, вода дистильована - 1000мл, при рН середовища - 8,2. Після чого змішують рівні об'єми розчинів латексу і імуноглобуліну. Одержану суміш видержують протягом 2 годин у термостаті при температурі 37°C періодично струшуючи. Після цього до суміші додають дві частини гліцинового буферу, який містить 0,5% гліцерину. Готовий діагностикум вміщують у холодильник та витримують протягом 5днів при температурі 4°C. У якості контролю при визначенні термостабільного токсину використовують діагностикум виготовлений із латексів іміобілізованих імуноглобулінами одержаними із антитоксичної сироватки до термолабільного ентеротоксину і нормальної кролячої сироватки.

#### Приклад

Для постановки реакції на знежирене предметне скло наносили 1 краплю надосадової рідини і 1 краплю латексного діагностикума та змішували. Контроль: латекси іміобілізовані імуноглобулінами з антисироватки до термолабільного ентеротоксину. Облік реакції проводили візуально протягом 3-хв. по 4-х бальній системі

- ++++ - чітка аглютинація у прозорій рідині,
- +++ - дрібні скупчення часток у прозорій рідині,
- ++ - дрібні скупчення часток у мутній рідині,
- + - ледве помітні частки у мутній рідині
- аглютинація відсутня, рідина рівномірно мутна

За позитивну реакцію вважали аглютинацію не менше ніж на ++. Контроль - негативний.

Використання кон'югату термолабільного і термостабільного ентеротоксинів *E.coli* для імунізації тварин дозволяє отримати із сироватки їх крові високоафінні антитіла яким характерне імунологічне споріднення як до термолабільного, так і до термостабільного ентеротоксинів *E.coli* гомологічних і гетерологічних штамів, а також виготовлення на їх основі латекс-діагностикума для біотестування кишкових паличок.