



УКРАЇНА

(19) UA (11) 26727 (13) U
(51) МПК
C08B 37/12 (2007.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ АГАРО-СОЛЬОВОЇ СУМІШІ

1

(21) u200703281

(22) 27.03.2007

(24) 10.10.2007

(46) 10.10.2007, Бюл. № 16, 2007 р.

(72) Стегній Борис Тимофійович, Коновалов Владислав Никифорович, Вовк Сергій Іванович, Дунаєв Юрій Костянтинович

2

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"

(57) Спосіб виготовлення агаро-сольової суміші, що включає приготування наважки агару, його промивання, кип'ятіння, ліофілізацію, гомогенізацію та титрацію, який відрізняється тим, що додаткового вносять ПЕГ (поліетиленгліколь).

Корисна модель відноситься до способів одержання сумішей на основі агару та може використовуватись у ветеринарії, медицині, та харчовій промисловості. На теперішній час агар та агароподібні суміші одержують із морських водоростей. Спосіб включає очищення, висушування, виварювання агару та обробку відвару виморожуванням. [Патент США №3901873, 1976р.].

Недоліком цієї технології є неоднорідність суміші, недостатня прозорість та висока собівартість. Спроби замінити агар другими речовинами не дає змоги одержувати суміші високої якості. Для підвищення їх якості у мікробіологічній промисловості були розроблені способи, які складаються з багаторазового відмивання, висушування, переплавлення. [Использование регенерированного агара в бактериологической практике. Методич. Рекомендации. Л. 1978.]. Недоліком способів є їх невисока технологічність.

Існує набір компонентів рідких стабілізованих для серологічної діагностики лейкозу ВРХ в реакції імунодифузії (РІД). (ТУ.24.4.-00497087-648-2002..), в якому використовують агаро-сольову суміш для серологічної діагностики ВРХ в реакції імунодифузії у гелі агару, з метою виявлення антитіл проти вірусу лейкозу. За цим способом готують наважку агару, проводять його промивання, кип'ятіння, внесення хлористого натрію, автоклавування при 1,5атм. протягом 45 хвилин. Ліофілізацію проводять у дві фази, протягом 22-38 годин. Перша фаза - висушування протягом 12-16 годин за температури мінус 55-60°C з подальшим підвищенням її на 4-8°C. Друга фаза проходить при плюсовій температурі з подальшим підвищенням до 26-30°C протягом 10-12 годин. Після чого проводять гомо-

генізацію та титрацію. Це рішення може бути прототипом. Але недоліком способу є його трудомісткість та багатоступінчатість.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб виготовлення агаро-сольової суміші, що включає приготування наважки агару, його промивання, кип'ятіння, ліофілізацію, гомогенізацію та титрацію шляхом додаткового внесення ПЕГу (поліетиленгліколю) та вилучення етапу ліофілізації, щоб забезпечити ефективність способу виготовлення агаро-сольової суміші.

Порівняльний аналіз з прототипом дозволяє зробити висновок, що у способі виготовлення агаро-сольової суміші додатково використовують ПЕГ, який забезпечує покращання дифузії компонентів(антигену та сироватки), та вилучають етап ліофілізації, що призводить до скорочення часу виготовлення препарату, та зменшення його собівартості, що відповідає критерію "новизна".

Спосіб виконується таким чином:

Готують наважку агару мікробіологічного з розрахунку на 10кг агаро-сольової суміші: натрій хлористий - 10кг, агар-агар(сухий) - 1кг, ПЕГ (поліетиленгліколь) - 110гр. Додаткове внесення ПЕГу покращує дифузії антигену та сироватки. Суміш старанно перемішують кілька разів, після чого гомогенізують до одержання однорідної маси. Однорідну масу піддають термостації за температури 37±0,5°C протягом 12 годин. Агаро-сольову суміш вносять у скляні банки або поліетиленові ємності, які щільно герметизують, щоб запобігти попаданню вологи. Агаро-сольову суміш піддають титрації. Для цього із порошку агаро-сольової суміші готують наважки 3,0; 3,5; 4,0 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 6,5; 7,0; 7,5, 8,0 грамів. Кожну наважку суспензують у

(13) U

(11) 26727

(19) UA

50,0мл. нейтральної дистильованої води і підігрівають до повного розчинення. Розплавлену агаро-сольову суміш кожної наважки готують для постановки реакції імунодифузії. Одночасно з цим готують агаро-сольову суміш референтної серії. Агаро-сольову суміш фасують у флакони у кількості, яка відповідає відтитрованій наважці і закуповують.

Приклад.

З використанням зразків агаро-сольової суміші дослідної і референтної серії проводили реакцію імунодифузії з референтним антигеном, референтною позитивною і негативною контрольними сироватками.

Пригодною для реакції імунодифузії вважається агаро-сольова суміш, наважка якої забезпечує виготовлення геля, де реакція імунодифузії проходить зі швидкістю та інтенсивністю аналогічною цим показникам із агаро-сольової суміші референтної серії.

Постанова реакції та облік результатів зображені на Фіг.1, Фіг.2.

Лунки 1-4-сироватки, що випробовуються,

S- позитивна контрольна сироватка,

Ag- антиген

Заливається склад агаро-сольової суміші. За допомогою шестикутного штампку видавлюються лунки в які заливається антиген (в центральну) та сироватка в крайні лунки. Через 48 годин прово-

диться облік результатів.

1- позитивна сироватка,

2- - позитивна з подвійною лінією.

3- - слабопозитивна сироватка.

Реакція дифузної преципітації вважається позитивною, коли в агаровому гелі між лунками утворюється чітка лінія преципітації білого кольору. Інколи утворюється подвійна лінія.

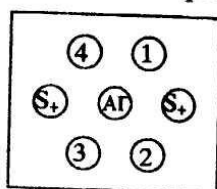
Реакція дифузної преципітації вважається слабопозитивною, коли в агаровому гелі між лунками утворюється не чітка преривиста лінія преципітації білого кольору.

Реакція дифузної преципітації вважається негативною, коли в агаровому гелі між лунками не утворюється лінія преципітації білого кольору.

У даному випадку сироватка, що випробується позитивна та містить специфічні до збудника лейкозу ВРХ антитіла. Тварина, від якої відібрана дана сироватка для випробування, вважається серопозитивною до лейкозу ВРХ (хвора на лейкоз великої рогатої худоби).

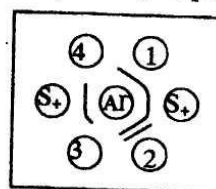
Спосіб, який пропонується вилучає етап ліофілізації, що призводить до скорочення часу на виготовлення препарату, дає змогу зекономити електроенергію, та зменшити собівартість препарату. Додаткове використання ПЕГу, забезпечує покращання дифузії компонентів(антигену та сироватки).

Постанова реакції



фіг. 1. Схема заповнення лунок,

Облік Результату через 48 годин



фіг.2. Результат РІД