



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49257 (13) A

(51) 6 A61K39/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ВИДОСПЕЦИФІЧНОЇ R-БРУЦЕЛАОВІСНОЇ АГЛЮТИНУЮЧОЇ СИРОВАТКИ

1

2

(21) 2001106708

(22) 01 10 2001

(24) 16 09 2002

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р.

(72) Бабкін Анатолій Федорович, Галіщев Микола  
Гнатович, Меліхов Сергій Володимирович(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І  
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Спосіб одержання видоспецифічної R-  
бруцелаовісної аглютинуючої сироватки шляхом

імунізації тварин специфічним імуногенним препара-  
том з наступним відбором крові та відокремленням  
цільового продукту, який відрізняється тим, що як  
специфічний імуногенний препарат тваринам-продуцентам ба-  
гаторазово вводять суспензію інактивованого бак-  
терину з штаму *Brucella ovis* 67/ "Б" внутрішньовенно в зростаючих дозах через рівні  
проміжки часу

Винахід відноситься до ветеринарної імунології та мікробіології, зокрема, до способів одержання діагностичних сироваток з високим вмістом видоспецифічних протибруцелаовісних антитіл, і може бути використаний на підприємствах ветеринарної промисловості для отримання високо-специфічних позитивних сироваток, які входять до складу протибруцельозних діагностиків. Використання видоспецифічної R-бруцелаовісної аглютинуючої сироватки дозволить підвищити ефективність індикації і диференціації культур бруцел, зокрема культур бруцел виду овіс - збудника інфекційного епідідимпу баранів.

Відомі способи одержання моноспецифічних (Патент №2104031, RU, від 01.11.1995, кл. A61K39/10 «Способ получения моноспецифических сывороток для дифференциации возбудителей бруцеллеза») та видоспецифічних (Михайлова Ю.П. Разработка средств диагностики бруцеллеза собак, вызываемого *Brucella canis*. Автореф. дис. канд. биол. наук - М., 2000 - 27с.) сироваток для диференціації різних видів бруцел.

Відомо про способи одержання R-бруцельозної аглютинуючої сироватки для диференціації культур бруцел (Получение R-бруцеллезной сыворотки на кроликах/ Л.В. Десяренко, И.А. Косилов, У.Э. Ниязов, К.В. Шумилов. В кн. Профилактика и диагностика болезней животных/ (Гиб. отд.-ние ВАСХНИЛ - Новосибирск, 1983 - С.103 - 107). Ціль способу досягається одержанням сироватки шляхом використання різних схем імунізації продуцентів культурами бруцел в R-формі. Але, в запропонованих способах при отри-

манні бруцельозних R-сироваток використовують культуру *Brucella abortus* в R-формі.

Найбільш близьким до винаходу, що запропонований, є спосіб одержання аглютинуючої R-бруцельозної сироватки (Профилактика и диагностика болезней животных/ Сиб. отд.-ние ВАСХНИЛ - Новосибирск, 1983 - С.103 - 107). В даному способі для одержання R-бруцельозної сироватки використовують кролів, яких заражають внутрішньовенно живою культурою *Brucella abortus* чотири рази з інтервалом 3 дні в дозах 7,5, 15,5, 22,5 та 45 млрд м.к.

Недоліками цього способу є використання культури *Brucella abortus*, що не дає можливості одержати видоспецифічну сироватку, яка виявляє лише культури *Brucella ovis* в R-формі. Крім того, використання живої культури бруцел є небезпечним для людей і потребує утримання тварин у ізоляторі.

В основу винаходу, поставлено завдання розробити спосіб одержання видоспецифічної R-бруцелаовісної аглютинуючої сироватки шляхом імунізації тварин специфічним імуногенним препаратом з послідовним відбором крові та відокремленням цільового продукту, а як специфічний імуногенний препарат тваринам-продуцентам багаторазово вводять суспензію інактивованого бактерину зі штаму *Brucella ovis* 67/ "Б" внутрішньовенно в зростаючих дозах через рівні проміжки часу і що забезпечить отримання видоспецифічної R-бруцелаовісної сироватки для діагностичних потреб.

Для цього використовують клінічне здорових

(13) A

(11) 49257

(19) UA

кролів, вагою не менше 2 - 2,5кг, яких імунізують багаторазово, через рівні проміжки часу специфічними імуногенними препаратами. Через 12 - 14 днів після останнього введення імуногену, проводять відбір крові шляхом тотального знекровлення.

Порівняльний аналіз з прототипом дозволяє зробити висновок про те, що заявлений спосіб відрізняється від відомого використанням для імунізації інактивованого бактерину із штаму *Brucella ovis* 67/"Б", який характеризується високою видоспецифічною антигенною активністю, завдяки чому підвищується видова специфічність сироватки і її діагностична цінність, а тварини-продуценти залишаються вільними від бруцел, не являють собою небезпеки для людей і тварин, не потребують додаткових збитків для ізолюваного утримання тварин.

Спосіб пояснюється такими прикладами.

Приклад 1. Виготовляють специфічний імуногенний препарат, який являє собою суспензію інактивованих бактерій *Brucella ovis* штам 67/"Б". Відбирають клінічно здорових кролів вагою не менше 2 - 2,5кг, яких імунізують даним препаратом багаторазово, через рівні проміжки часу, внутрішньовенне в зростаючих дозах (від 1 до 15млрд

м.к.) Через 12 - 14 днів проводять відбір крові з виділенням сироватки та визначають специфічність та активність сироватки в пластинчатій реакції аглютинації (РА) до R та S бруцельозних антигенів. При наявності позитивної реакції з R-антигеном не менш як на ++ в розведенні сироватки 1 : 20 і вище, та відсутності позитивної реакції з S-антигеном, проводять знекровлення тварин-продуцентів з наступним відокремленням сироватки.

Приклад 2. Отримані сироватки (приклад 1) перевіряють на специфічність і активність з живими культурами бруцел видів *abortus*, *melitensis*, *suis* та *ovis*, які знаходяться в S-, R- і RS- формах (табл.). Сироватка вважається специфічною, якщо вона аглютинує культури *Brucella ovis* в R-формі і не аглютинує культури інших видів бруцел в R-формі. Робочим титром сироватки вважається подвоєний граничний титр в РА з R-антигеном.

Таким чином, застосування запропонованого способу одержання видоспецифічної R-бруцелаовісної аглютинуючої сироватки дозволяє отримувати специфічну бруцелаовісну сироватку, яка виявляє культури *Brucella ovis* в R-формі та не виявляє R-форми інших видів бруцел.

Таблиця

Штами	Форма	R-бруцелаовісна видова сироватка	Контрольні сироватки	
			S	R*
<i>B abortus</i> 3/544	RS	—	++++	+
<i>B abortus</i> 10/19-770	S	—	++++	—
<i>B abortus</i> 88/7-26	RS	—	++++	+
<i>B abortus</i> 160/528	S	—	++++	—
<i>B melitensis</i> Rev-1a	RS	—	++++	++++
<i>B suis</i> 153/1154	S	—	++++	—
<i>B suis</i> 58/1330	S	—	++++	—
<i>B ovis</i> 76/982	RS	—	++	++
<i>B ovis</i> 156/7807	RS	—	++++	++++
<i>B ovis</i> 157/4151	RS	—	+++	+++
<i>B ovis</i> 158/04496	RS	—	+++	++++
<i>B ovis</i> 1-156/7807	R	++++	—	++++
<i>B ovis</i> 67/ "Б"	R	++++	—	++++
<i>B ovis</i> 67/ "Б"-1	R	++++	—	++++
<i>B ovis</i> 65/65939	R	++++	—	++++
Контрольний R-антиген		++++	—	++++
Контрольний S-антиген		—	++++	—

- сироватка одержана на штам *B abortus*

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ "Міжнародний науковий комітет"

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71