



УКРАЇНА

(19) UA (11) 53910 (13) A
(51) 7 A61K39/10МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ РОДОСПЕЦИФІЧНОЇ R-БРУЦЕЛАОВІСНОЇ АГЛЮТИНУЮЧОЇ СИРОВАТКИ

1

2

(21) 2002021484

(22) 22 02 2002

(24) 17 02 2003

(72) Бабкін Анатолій Федорович, Галіщев
Микола Гнатович, Меліхов Сергій Володи-
мирович, Орлов Сергій Миколайович(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ(57) Спосіб одержання родоспецифічної R-
бруцелаовісної аглютинуючої сироватки шляхом
підшкірної імунізації тварин-продуцентів специфі-
чними інактивованими імуногенними препара-
тами з масляним ад'ювантом з подальшим відбо-
ром крові та відокремленням цільового продукту,
який відрізняється тим, що для імунізації вико-
ристовують специфічний інактивований імуноген-
ний бактерин зі штаму *Brucella ovis* 76/982

Винахід відноситься до ветеринарної імуноло-
гії та мікробіології, зокрема, до способів одержан-
ня діагностичних сироваток з високим вмістом ро-
доспецифічних протибруцельозних антитіл, і може
бути використаний на підприємствах ветеринарної
промисловості для виготовлення високоспецифіч-
них позитивних сироваток, які входять до складу
бруцельозних діагностиків. Використання родо-
специфічної R-бруцелаовісної аглютинуючої сиро-
ватки дозволить підвищити ефективність індикації
і диференціації культур бруцел, зокрема *Brucella*
abortus, *B melitensis*, *B suis* і *B ovis* в R- та RS- фо-
рмах

Існують способи одержання моноспецифічних
(Патент № 2104031, RU, від 01.11.1995, кл. А 61 К
39/10 «Способ получения моноспецифических
сывороток для дифференциации возбудителей
бруцеллеза», Патент № 2159808, RU від
27.11.2000, кл. А 61 К 39/10 «Штамм бактерий
Brucella abortus, используемый при получении мо-
носпецифической сыворотки для идентификации
бруцелл в R- форме») та видоспецифічних (Ми-
хайлова Ю.П. Разработка средств диагностики
бруцеллеза собак, вызываемого *Brucella canis*
Авторы: дис. канд биол. наук. М., 2000. - 27 с.)
сироваток для диференціації різних видів бруцел.

Відомо про способи одержання R- бруцельоз-
ної аглютинуючої сироватки для диференціації
культур бруцел (Получение R- бруцеллезной сы-
воротки на кроликах/ Л.В. Дегтяренко, И.А. Коси-
лов, У.Э. Ниязов, К.В. Шумилов - В кн. Профилактика
и диагностика болезней животных// Сиб. отд-
ние ВАСХНИЛ- Новосибирск, 1983 - С. 103 - 107)

Ціль зазначеного способу досягається одержан-
ням сироватки шляхом використання різних схем
імунізації тварин-продуцентів культурами бруцел в
R- формі. Але, в запропонованих способах при
отриманні бруцельозних R- сироваток використо-
вують культуру *Brucella abortus* в R- формі.

Найбільш близьким до винаходу, що запропо-
нований, є спосіб одержання аглютинуючої R-
бруцельозної сироватки. В даному способі для
одержання R- бруцельозної сироватки використо-
вують кролів, яких заражають підшкірно інактиво-
ваною культурою *Brucella abortus* триразове з ін-
тервалом 3 дні в дозах 7,5, 16,5 та 22,5 млрд. м.к.

Недоліками цього способу є використання
культури *Brucella abortus*, в R- формі, яка характе-
ризується нестабільністю властивостей і антиген-
ною мінливістю в бік S- форм. Крім того, одержані
сироватки мають низьку активність в РА, що може
приводити до сумнівних і негативних результатів
при індикації культур.

В основу винаходу, що передбачається, по-
ставлено завдання розробити спосіб одержання
родоспецифічної R- бруцелаовісної аглютинуючої
сироватки шляхом підшкірної імунізації тварин-
продуцентів специфічним, інактивованим імуно-
генним бактерином, зі штаму *Brucella ovis* 76/982,
щоб забезпечити отримання високоактивної аглю-
тинуючої родоспецифічної R- бруцелаовісної си-
роватки придатної для виявлення R- та RS- форм
B abortus, *B melitensis*, *B suis* та *B ovis*.

Для цього використовують клінічно здорових
кролів, вагою не менше 2,5 - 3 кг, яких імунізують
підшкірно, дворазово, з інтервалом 12 днів специ-

(13) A
(11) 53910
(19) UA

фічними імуногенними препаратами Через 12 - 14 днів після останнього введення імуногену, проводять відбір крові для дослідження та подальшого 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* 76/982, який характеризується стабільною R-формою і високою бруцельозною родоспецифічною антигенною активністю, завдяки чому забезпечується активність і стабільна родова бруцельозна R-специфічність сироватки та її діагностична цінність, що відповідає критерію "новизна"

Спосіб пояснюється такими прикладами

Приклад 1 Виготовляють специфічний імуногенний препарат, який являє собою суспензію бактеріальних клітин попередньо звільнених від поверхневих антигенів з культури *Brucella ovis* штам 76/982 з додаванням масляного ад'юванта у співвідношенні 1 : 1 Відбирають клінічно здорових кролів вагою не менше 2,5 - 3кг, яких імунізують даним препаратом дворазово, з інтервалом 12 днів, підшкірно в однакових дозах Через 12 - 14 днів після останньої ін'єкції проводять відбір крові з виділенням сироватки 4 та визначають специфі-

чність 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 повне знекровлення тварин-продуцентів з наступним відокремленням сироватки

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

Таким чином, застосування запропонованого способу одержання родоспецифічної R- бруцелаовісної аглютинуючої сироватки дозволяє отримувати специфічну R- родову бруцельозну сироватку, яка виявляє культури бруцел в R- та RS-формах і не виявляє S- форми бруцел

Таблиця

Штами	Стан культури	R-бруцелаовісна родова сироватка*	Контрольні сироватки	
			S	R**
<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- la	RS	++++	++4+	++++
<i>B suis</i> 152/11-2	S	-	++++	-
<i>B suis</i> 172/112	RS	++++	++++	++++
<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> 1-156/7807	R	++++	-	++++
<i>B ovis</i> 67/"Б"	R	++++	-	++++
<i>B ovis</i> 65/65939	R	++++	-	++++
Контрольний R-антиген		++++	-	++++
Контрольний S-антиген		-	++++	-

* - сироватка одержана на штам *B ovis*,

** - сироватка одержана на штам *B abortus*