



УКРАЇНА

(19) UA (11) 71110 (13) A

(51) 7 C12N1/10

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

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ЛЕПТОСПІР НА ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ З ПРИЖИТТЄВИМИ ВИДІЛЕННЯМИ РОСЛИН-ГІДРОБІОНТІВ

1

2

(21) 2003065699

(22) 19.06.2003

(24) 15.11.2004

(46) 15.11.2004, Бюл. № 11, 2004 р.

(72) Гулай Олександр Володимирович, Покотило Тетяна Олексіївна, Кучерявенко Олексій Олександрович, Таран Тетяна Володимирівна
(73) ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК

(57) Спосіб культивування лептоспір на поживному середовищі з прижиттєвими виділеннями рослин-гідробіонтів, що включає створення оптимальних умов для росту і розмноження лептоспір, який відрізняється тим, що підвищення ростових властивостей культур здійснюється за рахунок впливу специфічних речовин, виділених рослинами в процесі життєдіяльності, культивування проводиться при температурі +22 - +28 °C та pH 7,2-7,3.

Область техніки до якої відноситься винахід: мікробіологічна, медична, ветеринарна промисловість, зокрема при лабораторному культивуванні лептоспір з метою одержання антигенів при проведенні реакції мікроаглютинації і лізису (РМАІЛ).

Аналог технічного рішення винаходу.

Погіршення і припинення росту культур лептоспір обумовлено накопиченням у середовищі надлишкової кількості продуктів обміну в процесі їх життєдіяльності.

Внесення додаткових кількостей стерильної дистильованої води робить середовище придатним для росту лептоспір [1].

Прототип.

Середовище Терських для культивування лептоспір складається з: фосфатно-буферної суміші (pH 7,2-7,3), дистильованої води, сироватки крові кроля чи вівці (5-10%), що інактивована нагріванням до +56°C на водяній бані двократно, протягом 30 хвилин. До недоліків цього способу культивування лептоспір відносимо його трудомісткість, значні витрати сироватки крові тварин [2].

Важливим елементом у боротьбі з лептоспірозою захворюваністю людей, домашніх та сільськогосподарських тварин є своєчасна діагностика хвороби та виявлення прихованих лептоспіроносіїв. Одним з основних методів лабораторної діагностики є серологічне дослідження крові на наявність протилептоспірозних антитіл в реакції мікроаглютинації і лізису (РМАІЛ), в якій у якості антигену використовуються живі лептоспіри. Важливим напрямком в процесі ефективної лабора-

торної діагностики є вдосконалення методів культивування лептоспір.

В основу винаходу поставлене завдання: знайти ефективний та економічний спосіб лабораторного культивування лептоспір. Для вирішення поставленого завдання: знайти ефективний та економічний спосіб лабораторного культивування лептоспір. Для вирішення поставленого завдання: Спосіб культивування лептоспір на поживному середовищі з прижиттєвими виділеннями рослин-гідробіонтів передбачає створення оптимальних умов для росту і розмноження лептоспір, згідно винаходу підвищення ростових властивостей культур здійснюється за рахунок впливу специфічних речовин виділених рослинами в процесі життєдіяльності, культивування проводиться при температурі +22 +28°C з показником pH середовища 7,2-7,3.

При культивуванні лептоспір в якості стимуляторів росту були використані прижиттєві виділення рослин-гідробіонтів наступних видів рдесник кучерявий (*Potamogeton crispus* L), їжака голівка пряма (*Sparganium erectum* L), рогіз широколистий (*Typha latifolia* L), ряска три борозенчаста (*Lemna trisulea*). При цьому застосовуються: для культивування лептоспір серологічного типу *icterochemorrhagiae* прижиттєві виділення ряски триборозенчастої, лептоспір серологічного типу *kabura* виділення їжакової голівки прямої лептоспір серологічного типу *canicola* виділення рдесника кучерявого, лептоспір серологічного типу *pollonica* прижиттєві виділення рогозу широколистого. Культивування прово-

(13) A

(11) 71110

(19) UA

диться при температурі +22 +28°C з показником рН середовища 7,2-7,3.

Використання запропонованого способу культивування лептоспір у порівнянні з існуючими способами, забезпечує і переваги: використовуючи прижиттєві виділення в оптимальній концентрації ми досягли високого ступеню концентрації лептоспір у середовищі. Даний спосіб дозволив значно скоротити витрати сироватки крові на культивування лептоспір.

Технологія одержання прижиттєвих виділень рослин наступна: рослини вилучають з стацій у період їх природного циклу вегетації. У лабораторії ретельно відмивають вегетативні органи від залишків субстрату дистильованою водою.

Підготовлені таким чином рослини поміщають у чисті скляні ємності з бідистильованою водою у співвідношенні рослина-вода 1:10 за масою.

Підготовлені зразки витримують протягом 5 діб при температурі +18 +22°C в умовах природної зміни тривалості дня і ночі. При закінченні терміну воду зливають і стерилізують шляхом фільтрації через азбестові фільтри Зейтца з діаметром пор 0,2мкм.

Запропонований спосіб культивування лептоспір передбачає приготування стерильного поживного середовища, що складається з 1 частини середовища Терських та 1 частини розчину прижиттєвих виділень рослин.

Приклад 1

У пробірки, що містять 2,5мл середовища Терських дотримуючись стерильності вносять 2,5 мл стерильного розчину прижиттєвих виділень рослин. Для контролю використали пробірки із вмістом 5мл середовища Терських. У кожную з дослідних та контрольних ємностей інокують 0,5мл материнської культури лептоспір.

Через 5 діб культивування при температурі +28°C визначали вміст лептоспір у дослідних та контрольних зразках за методом прямого підрахунку у відомому об'ємі [3]. Отримані результати викладені в таблиці 1.

Таблиця 1

№	Серотип лептоспір	Вміст лептоспір у середовищі млн/мл	
		Середовище Терських (контроль)	Середовище з прижиттєвими виділеннями рослин
1	<i>L.icterochemorrhagiae</i>	14,70±1,3	16,75±2,3
2	<i>L. kabura</i>	18,25±1,1	21,33±1,2
3	<i>L. pollonica</i>	19,60±3,2	22,75±3,5
4	<i>L. canicola</i>	13,50±2,6	17,25±3,5

З даних, викладених в таблиці 1 видно, що після 5 денного культивування у дослідних зразках, що містили прижиттєві виділення рослин вміст лептоспір перевищував аналогічні показники для контрольних ємностей (без внесення прижиттєвих виділень рослин) у середньому на 18,6%. Поряд з цим витрати інактивованої сироватки крові тварин для приготування поживного середовища запропонованим способом у 2 рази нижчі ніж за прописом прототипу. Таким чином, використання способу культивування лептоспір на поживному середовищі з прижиттєвими виділеннями рослин-гідробіонтів дає можливість більш раціонально використовувати інактивовану сироватку крові тварин при кращих результатах накопичення мікроорганізмів.