



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41151 (13) A

(51) 7 C12N1/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КОНЦЕНТРУВАННЯ ЛЕПТОСПІРОЗНОГО АНТИГЕНА

(21) 2001031538

(22) 06.03.200

(24) 15.08.2001

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Резуненко Євген Володимирович, Кучерявенко
Олексій Олександрович, Кучерявенко Олек-
сандр Олександрович, Еверт Віктор Вікторович(73) ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
УААН

(57) Спосіб концентрування лептоспірозного антигена шляхом пропускання бактеріальної суспензії через полісульфонамідні полімерні мембрани, який відрізняється тим, що як полімерні полісульфонамідні мембрани використовують порожнисті волокна та пропускають лептоспіровмісну суспензію в безперервному режимі при надлишковому тиску 0,05 атм.

Спосіб відноситься до мікробіологічної, медичної, ветеринарної промисловості, зокрема, може бути використаний при виготовленні інактивованих бактеріальних вакцин та концентратів інактивованих бактеріальних вакцин.

Відомий спосіб концентрування антигена при виготовленні інактивованих вакцин шляхом центрифугування лептоспіровмісної суспензії. Але недоліком способу є те, що при цьому процесі відбувається руйнування лептоспірозного антигена з наступним зменшенням його імунологічної активності. Крім того, при центрифугуванні, особливо великих об'ємів бактеріальних суспензій, важко створити умови, при яких повністю виключалося б забруднення матеріалу, що відокремлюється (напівфабрикату вакцини) мікрофлорою повітря. Технологія центрифугування в умовах біовиробництва є енергозатратною та нетехнологічною (Патент RU 2049815 Яговкин Є.А., Ананьїна Ю.В., Кондратенко В.Ф., Бунин І.К., Вачаєв Б.Ф. Штамм бактерій *Leptospira interrogans*, призначений для отримання протилептоспірозових вакцин (Бюллетень № 84) – аналог).

Відомий спосіб концентрування та очистки вірусомісної суспензії шляхом пропускання її через полімерні полісульфонамідні мембрани з розмірами пор 500–2500 Å. При цьому вірусомісну суспензію пропускають при надлишковому тиску в динамічній та статичній фазах. Недоліком є те, що двостадійний режим фільтрації ускладнює технологічний процес при його довготривалості, крім того, відбувається часткова втрата імуногенних властивостей і, таким чином, спосіб не придатний для концентрування лептоспірозного антигена (Пат. СССР № 975795, кл. C12N7/00. Спосіб кон-

центрирования и очистки вирусных суспензий. П.Д. Решетов, Л.С. Жигис, А.С. Хохлов, Ф.С. Носков. Заявлено 06.08.80, опубліковано 23.11.82, бюлл. 43 – прототип).

Лептоспіроз – дуже поширене небезпечне антропоозоозне захворювання. Одним із основних методів боротьби з лептоспірозом є вакцинопрофілактика. Важливим напрямком при виготовленні ефективних протилептоспірозових вакцин є високий ступінь концентрування антигена, що входить до складу вакцини.

В основу винаходу поставлено задачу створити спосіб концентрування лептоспірозного антигена шляхом підвищення ступеню концентрування і забезпечити компактний, нечасомісткий процес розділення бактеріальної суспензії з одержанням висококонцентрованого продукту.

Задачу вирішують тим, що у способі концентрування лептоспірозного антигена, що містить пропускання лептоспірозової суспензії через полісульфонамідні мембрани, згідно винаходу, як полімерні полісульфонамідні мембрани використовують порожнисті волокна та пропускають лептоспіровмісну суспензію в безперервному режимі при надлишковому тиску 0,05 атм.

Спосіб здійснюють наступним чином. Застосовують ультрафільтраційну установку колоночного типу на основі порожнистих волокон. Отриману після культивування лептоспір культуральну рідину після інактивації розділяють за допомогою хроматографічних колонок на основі порожнистих волокон. В системі установки бактеріальну масу лептоспір, що циркулює під певним тиском, піддають ультрафільтрації, в результаті чого рідкий компонент суспензії проходить крізь пори в волок-

нах та видаляється з системи, а щільний компонент (лептоспіра) через неможливість проникнення крізь пори волокон, продовжує циркулювати в системі апарата для розділення і, таким чином, концентрується. Основними характеристиками застосованої установки є висока ефективність за рахунок селективних властивостей волокон, можливості їх регенерації, дотримання умов строгої асептики. Сукупна площа фільтрації порожнистих волокон $S_{\phi} - 2 \text{ м}^2$.

Приклад 1. В систему, яка складається з перистальтичного насоса УПЛ-06, фільтраційної установки марки АР-0,1, силіконових шлангів діаметром 6 мм, двох ємностей для бактеріальної лептоспировмісної суспензії та ємності для зливу фільтрату, вмістили культуральну рідину, що містить лептоспіри штаму *Icterohaemorrhagiae* об'ємом 4 л та накопиченням лептоспір 60–70 у полі

зору (об'єктів 40, окуляр 7–10), що відповідає накопиченню 75–85 млн мікробних клітин/см³. При розділенні досліджуваної суспензії забезпечували ламінарний режим руху рідини, лінійна швидкість потоку знаходилась у межах 0,1–0,8 м/с. При даній швидкості забезпечується оптимальний гідродинамічний режим роботи установки, який зводить до мінімуму концентраційну поляризацію на мембранах. Ультрафільтрація проходила під постійним тиском 0,05 атм. Початковий об'єм, який підлягав концентруванню, становив 4 л. Кінцевий об'єм (об'єм концентрату) – 400 мл. Ступінь концентрації за об'ємом – 10 разів. Суспензію концентрували протягом 3 год 50 хв. Селективність по цільовому компоненту – 98%. Після закінчення фільтрації регенерацію ультрафільтраційної колонки проводили промиванням 2% розчином перекису водню (H₂O₂) протягом 30 хв та розчином "первомуру" протягом 30 хв.

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
