



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117574** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61K 39/00
A61K 39/02 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 01345	(72) Винахідник(и): Болотін Віталій Ігорович (UA), Стегній Борис Тимофійович (UA), Обуховська Ольга Валеріївна (UA), Драгуть Світлана Сергіївна (UA), Близнецов Олексій Геннадійович (UA), Куценко Валентина Анатоліївна (UA), Рамазанова Таїсія Петрівна (UA), Марченко Наталія Віталіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 13.02.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.06.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.06.2017, Бюл.№ 12	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ЛІСТЕРІОЗНОЇ СИРОВАТКИ ІЕКВМ ДЛЯ РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ (РЗК)

(57) Реферат:

Спосіб виготовлення лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплексу (РЗК) включає вирощування бактерійної маси на живильному середовищі з використанням штамів лістерій, "Буринь", "Тернопіль", "Кріль № 17" та "№ 1", виготовлення антигену, гіперімуналізацію продуцентів одержаним антигеном з наступним відбором крові та відокремленням цільного продукту. Інактивацію бактерійної маси проводять розчином формальдегіду в концентрації (0,3-0,5) %.

UA 117574 U

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, а саме до прижиттєвої діагностики лістеріозу сільськогосподарських тварин в реакції зв'язування комплементу (РЗК).

Лістеріозну сироватку ІЕКВМ для РЗК одержують від кролів масою 2-3 кг, що імунізовані антигеном, який виготовлений з 4-х штамів лістерій (*Listeria monocytogenes*), що виділені від овець, великої рогатої худоби, кролів і свиней, які належать до 1-ї та 2-ї серогруп ["Буринь", "Тернопіль", "Кріль № 17" та «№ 1»].

Існує спосіб одержання лістеріозної сироватки, яка одержана від кролів, імунованих різними антигенами, що отримані із суміші виробничих штамів *Listeria monocytogenes* [Патент КЗ № 16791 від 16.01.2006, кл. А61К39/40 "Способ получения сывороток для индикации и типизации листерий"]. Недоліком способу є те, що він трудомісткий та потребує високовартісного обладнання.

Існує спосіб одержання лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК) [Патент UA № 8749 від 15.08.2005, кл. А61К39/02 "Спосіб одержання лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК)"]. Це рішення може бути прототипом.

В основу корисної моделі поставлена задача як бактерійну масу використовувати штамми лістерій "Буринь", "Тернопіль", "Кріль № 17", «№ 1». Недоліком рішення є те, що бактерійну масу знешкоджують без зазначення інактиванту.

Поставлена задача вирішується тим, що розробка способу виготовлення лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК) включає вирощування бактерійної маси на живильному середовищі з використанням штамів лістерій "Буринь", "Тернопіль", "Кріль № 17" та «№ 1», виготовлення антигену, гіперімунізацію продуцентів одержаним антигеном з наступним відбором крові та відокремленням цільного продукту шляхом інактивації бактерійної маси розчином формальдегіду в концентрації (0,3-0,5) %, щоб забезпечити спосіб одержання лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК).

Спосіб виконується таким чином.

Вирощують бактерійну масу бульйонною культурою кожного з 4-х штамів лістерій, засівають колби об'ємом 1,5 л з мартенівським агаром. Одержану суспензію мікробів фільтрують, встановлюють концентрацію мікробних клітин та доводять її за допомогою фізіологічного розчину до 2 млрд. КУО/см³. Додають розчин формальдегіду до кінцевої концентрації (0,3-0,5) % та розмішують для знешкодження у термостаті за температури 37 °С протягом (24-48) годин. Суспензію лістерій (антиген) перевіряють на повноту інактивації та стерильність. Антиген повинен бути інактивованим та стерильним. Після чого антиген застосовують для гіперімунізації кролів. Проводять пробне кровопускання для попереднього визначення титру сироватки. У кролів з вушної вени беруть кров. Відстояну сироватку титрують в РЗК з лістеріозним антигеном. Якщо титр сироватки імунованого кроля відповідає її розведенню не менше 1:40, то в той же день кроля знекровлюють. Кров обробляють для одержання сироватки. Після чого сироватку зливають і консервують.

Готова лістеріозна сироватка являє собою прозору рідину жовтувато-солом'яного кольору. Сироватка використовується як позитивний контрольний препарат при титрації лістеріозного антигену ІЕКВМ, а також при дослідженні на лістеріоз в РЗК усіх видів тварин. При наявності в сироватці плісняви, механічних забруднень вона вибраковується. Термін зберігання сироватки становить 2 роки за умови зберігання її за температури плюс (4-8)°С в захищеному від світла приміщенні.

Приклад 1

Перевірка суспензії лістерій (антигену) на повноту інактивації та сироватки на стерильність.

Повноту інактивації суспензії лістерій (антигену) визначали висівом на МПА, МПБ в пробірках. Висіви витримували у термостаті за температури (37-38)°С протягом 5 діб. Суспензія лістерій (антиген) була інактивованою.

Стерильність готової сироватки визначали висівом її на тіогліколеве середовище в пробірках. Для контролю відсутності бактеріальної та грибною контамінації, відповідно, висіви витримували у термостаті за температури (30-35)°С та (20-25)°С протягом 14 діб. Сироватка була стерильною.

Приклад 2

Проведення випробування активності (титру) і специфічності сироватки.

Кожне розведення сироватки розливали в два ряди пробірок в дозі 0,5 см³. В кожен пробірку першого ряду додавали по 0,5 см³ лістеріозного антигену ІЕКВМ для РЗК в робочому титрі. В пробірках другого ряду замість антигену додавали по 0,5 см³ фізіологічного розчину. Обидві фази реакції (зв'язування комплементу і головний досвід) проводили у водяній бані за

температури 37-38 °С (кожна протягом 20 хвилин). Комплемент, гемолізін і еритроцити брали в робочих титрах.

5 Титром лістеріозної сироватки вважали найбільше розведення сироватки, при якому відбувалась повна затримка гемолізу еритроцитів з лістеріозним антигеном, за наявності повного гемолізу в безантигенному ряді. В пробірках з нормальною сироваткою усіх розведень був гемоліз еритроцитів. В нашому прикладі титр лістеріозної сироватки становив 1:160.

Таким чином використання лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК) дозволить підвищити ефективність виявлення серопозитивних щодо лістеріозу тварин різних видів.

10 Основними споживачами лістеріозної сироватки є державні лабораторії ветеринарної медицини.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб виготовлення лістеріозної сироватки ІЕКВМ для реакції зв'язування комплементу (РЗК), що включає вирощування бактерійної маси на живильному середовищі з використанням штамів лістерій, "Буринь", "Тернопіль", "Кріль № 17" та "№ 1", виготовлення антигену, гіперімунізацію продуцентів одержаним антигеном з наступним відбором крові та відокремленням цільного продукту, який **відрізняється** тим, що інактивацію бактерійної маси проводять розчином
20 формальдегіду в концентрації (0,3-0,5) %.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601