



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 117672

(13) U

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 11114**

(22) Дата подання заявки: **04.11.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.07.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.07.2017, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):

**Хоменко Ярослав Васильович (UA),
Козловська Ганна Володимирівна (UA),
Скибіцький Володимир Гурійович (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041
(UA)**

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ АНТИТІЛ, СПЕЦИФІЧНИХ ЩОДО YERSINIA ENTEROCOLITICA (СЕРОВАР 0:9) ТА BR. ABORTUS

(57) Реферат:

Спосіб диференціювання антитіл, специфічних щодо Yersinia enterocolitica (серовар 0:9) та Br. abortus, включає реакцію взаємодії антитіл досліджуваних сироваток крові з антигенами. Застосовується одночасно два антигени (Br. abortus та Yersinia enterocolitica серовару 0:3) для сорбції на полістироловому гребінці з наступною постановкою дот-імуноаналізу (DIA) та використання як кон'югата білка G Streptococcus spp., поєднаного з колоїдним золотом.

UA 117672 U

Корисна модель належить до галузей ветеринарної медицини та біотехнології, зокрема до способу диференціальної діагностики бруцельозу та ієрсиніозу.

Найближчий аналог (Авторське свідоцтво СРСР SU 1703119 A1, "Способ дифференциации иерсиний серовара 09 от бруцелл", опубл. 07.01.1992 г.) включає змішування досліджуваної сироватки паралельно з двома корпускулярними антигенами і диференціацію ієрсиніозу за наявністю аглютинації, у якому з метою підвищення точності і спрощення способу досліджувану сироватку розводять 1:15 - 1:25, як корпускулярні антигени використовують штам *Yersinia enterocolitica* ГИСК № 188, який містить плазмиду вірулентності з мол. м. 40-50 МД, і штам *Yersinia enterocolitica* ГИСК № 189, який не містить плазмиди вірулентності, вирощені при 36-38°C, диференціацію ієрсиніозу проводять по наявності аглютинації зі штамом *Yersinia enterocolitica* ГИСК № 188.

Недоліком аналога є незначна чутливість та специфічність реакції аглютинації на склі, недостатня інформативність даного методу, необхідність високої кваліфікації лабораторного персоналу.

Корисною моделлю поставлена задача створити спосіб, який дозволить проводити диференціювання антитіл, специфічних щодо *Yersinia enterocolitica* (серовар 0:9) та *B. abortus*.

Поставлена корисною моделлю задача вирішується тим, що у способі диференціювання антитіл, специфічних щодо *Yersinia enterocolitica* (серовар 0:9) та *B. abortus*, який включає реакцію взаємодії антитіл досліджуваних сироваток крові з антигенами, згідно з корисною моделлю, застосовується одночасно два антигени (*B. abortus* та *Yersinia enterocolitica* серовару 0:3) для сорбції на полістироловому гребінці з наступною постановкою дот-імуноаналізу (DIA) та використання як кон'югат білка *G Streptococcus* spp., поєданого з колоїдним золотом.

Даний спосіб діагностики є чутливим і специфічним. За допомогою DIA можна швидко і точно поставити діагноз навіть в польових умовах.

Приклад здійснення способу.

Дот-імуноаналіз проводили за класичною схемою.

Нанесення антигенів (*B. abortus* та *Yersinia enterocolitica* серовару 0:3) здійснювали на листовий білий полістирол (HIPS) завтовшки 0,2 мм. Схема нанесення антигенів наступна: бруцельозний антиген - червона крапка, а ієрсиніозний антиген - чорна крапка (фіг. 1).

Оцінку аналізу проводили візуально за інтенсивністю забарвлення місць нанесення антигену.

При проведенні DIA були перевірені сироватки крові тварин позитивних і негативних на бруцельоз, сироватки крові кролів, гіперімунізованих різними сероварами кишкового ієрсиніозу та сироватки крові тварин з благополучних щодо ієрсиніозу господарств.

При дослідженні позитивних на бруцельоз сироваток крові відмічали позитивну реакцію в місці нанесення бруцельозного антигену та відсутність її в місці нанесення ієрсиніозного антигену (фіг. 2).

При постановці реакції з сироваткою крові кроля, який був імунізований *Yersinia enterocolitica* (серовар 0:9) відмічали чіткий сигнал як з бруцельозним, так і з ієрсиніозним антигеном. При постановці DIA з сироватками крові кролів, імунізованих іншими сероварами ієрсиній, спостерігали чіткий сигнал лише в місці нанесення антигену *Yersinia enterocolitica* серовару 0:3 (фіг. 2).

Результати постановки DIA для диференційної діагностики ієрсиніозу і бруцельозу:

- 1 - сироватка крові з антитілами до *Yersinia enterocolitica* серовару 0:9;
- 2 - сироватка крові з антитілами до *Yersinia enterocolitica* серовару 0:6;
- 3 - сироватка крові з антитілами до *Yersinia enterocolitica* серовару 0:3;
- 4 - сироватка крові з антитілами до *B. abortus*;
- 5 - сироватка крові з антитілами до *B. abortus*;
- 6 - сироватка крові з антитілами до *Yersinia enterocolitica* серовару 0:8;
- 7 - сироватка крові вільна від протибруцельозних антитіл;
- 8 - сироватка крові вільна від протибруцельозних антитіл;
- 9 - сироватка крові вільна від проієрсиніозних антитіл.

Отримання позитивної реакції лише з одним із антигенів свідчить про наявність у сироватці крові антитіл лише до відповідного збудника. Зафарбування у червоно-коричневий колір місця сорбції бруцельозного антигену та відсутності зафарбування місця (плями) ієрсиніозного антигену свідчить про те, що у досліджуваній сироватці є антитіла, специфічні збуднику бруцельозу, і навпаки, за яскравого зафарбування місць з адсорбованим антигеном ієрсиній - у сироватці антитіла, індуковані ієрсиніями. У випадку, коли присутній одночасно позитивний сигнал з бруцельозним та ієрсиніозним антигенами говорить про наявність в сироватці крові антитіл до *Yersinia enterocolitica* серовару 0:9.

Технічне рішення корисної моделі дозволяє здійснювати диференціальну діагностику бруцельозу і ієрсиніозу (*Yersinia enterocolitica* серовару 0:9) у польових умовах.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб диференціювання антитіл, специфічних щодо *Yersinia enterocolitica* (серовар 0:9) та *Br. abortus*, який включає реакцію взаємодії антитіл досліджуваних сироваток крові з антигенами, який **відрізняється** тим, що застосовується одночасно два антигени (*B. abortus* та *Yersinia enterocolitica* серовару 0:3) для сорбції на полістироловому гребінці з наступною постановкою дот-імуноаналізу (ДІА) та використання як кон'югата білка G *Streptococcus* spp., поєднаного з колоїдним золотом.

10

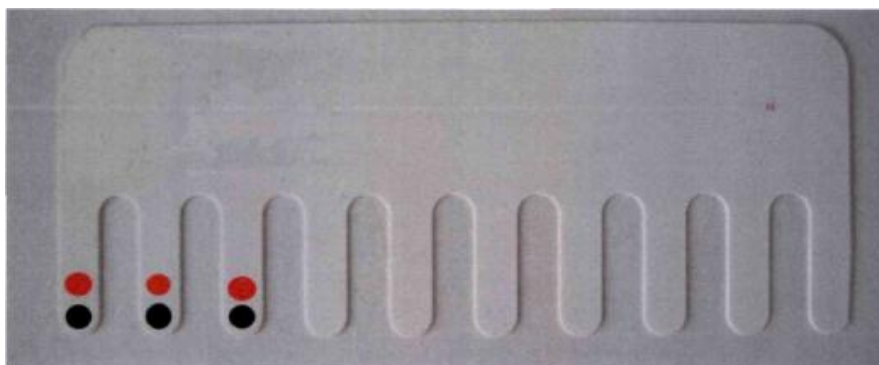


Fig. 1

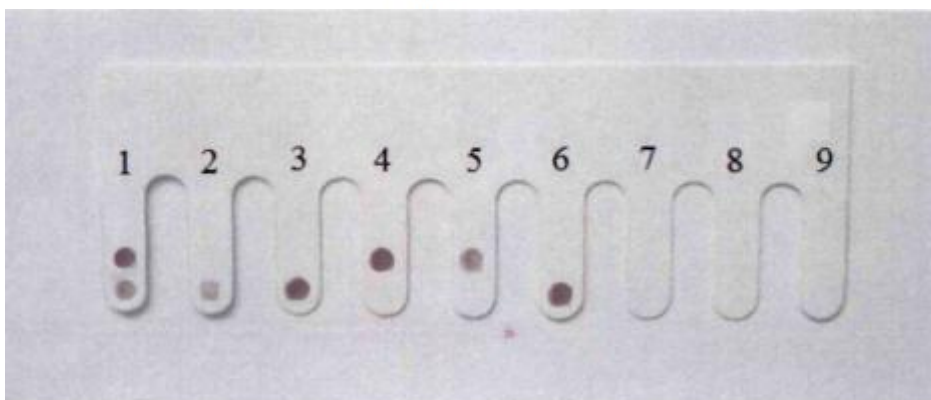


Fig. 2

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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

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