



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **76397**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 39/395** (2006.01)

**C12N 15/03** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2012 04014**

(22) Дата подання заявки: **02.04.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.01.2013**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.01.2013, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):

**Гуріна Людмила Митрофанівна (UA),  
Болдирєв Андрій Дмитрович (UA),  
Болдирєв Дмитро Андрійович (UA)**

(73) Власник(и):

**КРИМСЬКА ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ  
НАЦІОНАЛЬНОГО НАУКОВОГО ЦЕНТРУ  
"ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І  
КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ",  
вул. Садова, 12-А, с. Комсомольське, м.  
Сімферополь, 95494 (UA)**

**(54) ШТАМ V. PARAHAEVOLYTICUS № 3**

(57) Реферат:

Штам V. Parahaemolyticus - продуцент бактерійного антигену використовують для серологічної діагностики захворювань, спричинених параземолітичними вібріонами у морських риб, який зберігається за № 3 у секторі іхтіопатології та ветсанекспертизи морських риб і безхребетних Кримської дослідної станції Національного наукового центру "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини" та в ННЦ "ІЕКВМ".

**UA 76397 U**



Корисна модель належить до біології, медичної та ветеринарної мікробіології і може бути використана при виробництві біологічно активних препаратів: діагностичних параземолітичних антигенів, імунних сироваток, вакцин. Має загальнотеоретичне значення при вивченні міжвидових зв'язків штаму *V. parahaemolyticus* № 3 і штаму *V. parahaemolyticus* № 23-2, який знаходиться в колекції державної установи "Українська протичумна станція" МОЗ України.

У параземолітичних вібріонів описані три найбільш важливі типи антигенів. Н-антиген (джгутиковий): термолабільний, неспецифічний, зустрічається у всіх видів вібріонів. Показано, що флагелін, який отримано з полярного джгутика *V. parahaemolyticus*, сумісний з іншими представниками роду *Vibrio*, у тому числі виду *V. alginolyticus* [1]. О-антиген (соматичний): термостабільний, витримує нагрівання до 100 °С, не руйнується під дією спирту та соляної кислоти. К-антиген (поверхнево-капсульний)-термолабільний.

У основу серологічної ідентифікації галофільних вібріонів покладена різниця у будові О- і К-антигенів [2, 3]. Серологічне типування галофільних вібріонів має не тільки теоретичне, але і практичне значення, оскільки їх результати можуть бути використані для епідеміологічного та епізоотологічного аналізу захворюваності, спричиненої цими мікробами.

Бактерії роду *Vibrio* складають самостійну групу родини *Vibrionaceae* (по Bergey's manual of Determinative Bacteriology, 1994).

Бактерії *V. parahaemolyticus* широко розповсюджені у морських басейнах багатьох країн миру. Вони виявляються у морській воді, рибі, безхребетних та планктоні, але їх вивченню у Радянському Союзі не приділялось уваги. Згідно з літературними даними *V. parahaemolyticus* можуть викликати як спорадичні випадки, так і спалахи захворювань у людей, які протікають по типу харчових токсикоінфекцій. Вони можуть виділятися як етіологічний агент при гастроентеритах, ранових інфекціях.

Ізольований нами штам, походженням від камси чорноморської, може бути використаний при виготовленні вакцин та діагностичних препаратів для риб.

Штам має наступні характеристики:

Культурально-морфологічні ознаки. Бактерії являють собою грамнегативні, рухомі палички, прямі або злегка вигнуті. Добре ростуть на поживних середовищах з вмістом хлориду натрію від 3 до 8 %, оптимальна температура інкубації (35,0±2)°С з рН 7,8. Висіви інкубували в термостаті за температури (35,0±2)°С впродовж 2-5 діб з щоденним контролем характеру росту мікроорганізмів. На лужному агарі з 3 % NaCl на основі морської води колонії галофільних вібріонів мали типову S-форму - випуклі, круглі прозорі з рівним краєм, вологою блискучою поверхнею, блакитно-зеленкуватого кольору на аналогічному фоні. На агарі, що виготовлений на основі морської води, у *V. parahaemolyticus* виявлявся ефект "роїння".

На диференційному середовищі TCBS *V. parahaemolyticus* утворювали колонії зеленого кольору.

На селективному вібріоагарі рожеві колонії, що відповідали кольору середовища. Розміри колоній 3-4 мм у діаметрі з нерівним краєм.

На рідких середовищах вібріони викликали помутніння і утворення товстої поверхневої плівки.

Фізіолого-біохімічні характеристики. На середовищі Хью-Лейфсона *V. parahaemolyticus* розщеплював глюкозу за ферментативним та окислювальним типами. *V. parahaemolyticus* для виявлення галофільних властивостей вирощували на середовищах з вмістом хлориду натрію 3 % і 8 %; при 10 % і більше солі та при відсутності солі *V. parahaemolyticus* росту не давав. Для посіву на біохімічний ряд використовували 3-годинну бульйонну культуру збудника.

На середовищі Реселя *V. parahaemolyticus* не розщеплювали лактозу і сахарозу, не утворювали газ. Параземолітичні вібріони мали лізіндекарбоксилазу, орнітиндекарбоксилазу, утворювали індол, не розщеплювали сечовину, розщеплювали крохмаль.

На середовищі Кларка не утворювали ацетилметилкарбінол.

Таблиця

Основні тести для диференціації *V. parahaemolyticus* № 3 від *V. parahaemolyticus* № 23-2

Основні ознаки	<i>V. parahaemolyticus</i> № 23-2	<i>V. parahaemolyticus</i> № 3
Рухомість	-	+
Оксидаза	+	+
Утворювання індолу	-	-
Розщеплення глюкози:		
- окислювання	+к	+к
- ферментація	+к	+к
Ферментація:		
- сахарози	-	-
- манози	+к	+к
- маніту	-	+
- інозиту	-	-
- лактози	-	-
- крохмалю	-	+
Зріст на середовищі з		
- NaCl-3 %	+	+
- NaCl-8 %	+	+
- NaCl-10 %	-	-
Утворення сірководню	-	-
Утворювання дегідроксилази:		
- аргініну	-	-
- орнітину	-	+
- лізину	+	+
Гідроліз сечовини	-	-
Аглютинація холерними сироватками (O1, Oгава, Інаба та ін.)	-	-
Гемолітична активність	-	-

Умовні позначення:

+ - реакція позитивна в 90 % випадків

-(+) - реакція, яка рідко підтверджується

- негативна реакція к - утворення кислоти

5 *V. parahaemolyticus* штам № 3 відрізняється від колекційного штаму *V. parahaemolyticus* № 23-2 наявністю рухомості та ферментації маніту, розщепленням крохмалю та утворенням орнітиндекарбоксилази, індолу.

Вірулентність. Виявлено, що паразитичний вібріон продукує гемолізін - екзотоксин, який має ентеротоксичну та кардіотоксичну дію. Центрифугати одноденних культур, які вирощені на поживних середовищах, летальні для білих мишей при внутрішньочеревному введенні, що пов'язано з присутністю латеральних джгутів.

10 Токсигенні (епідемічно та епізоотологічно значущі) варіанти, які містять ген гемолізіну, можуть спричинити масові випадки захворювання.

Нетоксигенні (які не містять ген гемолізіну) варіанти можуть викликати спорадичні або групові (при загальному джерелі інфікування) захворювання.

15 Спосіб отримання штаму та його ідентифікація. Матеріалом для бактеріологічного дослідження використовували гомогенат із зябер, вмісту кишечника та м'язів. До посіву приступали безпосередньо біля секційного столу.

20 Матеріал інкубували за температури (35,0±2)°C впродовж 18 годин. Рожеві колонії, що утворились на селективному вібріоагарі, заздалегідь ідентифікували як *V. parahaemolyticus* і здійснювали висіви на лактозосахарозне середовище, м'ясопептонний бульйон з 8 % і 10 % NaCl. Штами, які проявляли характерні зміни лактозосахарозного середовища, відсутність росту на м'ясопептонному бульйоні без NaCl і 10 % NaCl, і наявність росту на живильному бульйоні з 8 % NaCl, відносили до *V. parahaemolyticus*.

Паралельно обов'язково робили висіви для виділення чистої культури і подальшої ідентифікації її за повною схемою.

При бактеріологічному дослідженні на галофільні вібриони використовували різні поживні середовища: транспортні середовища, рідкі середовища, що збагачені 3 % NaCl, елективні диференційно-діагностичні середовища і набори середовищ для ідентифікації.

Матеріали, прийняті до уваги при експертизі

- 5 1. Shinoda S., Kaniyama B., Ogawa M., Iakeda Y., Miwatani T. Flagellan antigens of vibrions speciens of the-genus Vibrio and related genera // Int. T. Syst. Bacteriol. - 1976. - V. 26. - № 2 - P. 97-101.
2. Либинзон А.Е., Домина А.Л., Кулов Г.И. и др. Галофильные вибрионы, выделенные из Азовского моря // Ж. микробиол.-1977. - № 6. - С. 77-80.
- 10 3. Либинзон А.У., Брудный Р.А., Нагорная А.Ф. и др. Галофильные вибрионы Черного моря и их роль в патологии человека // Ж. микробиол.-1981. - № 2. - С. 97-101.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 15 Штам V. Parahaemolyticus - продуцент бактерійного антигену, що використовують для серологічної діагностики захворювань, спричинених паратегомолітичними вібрионами у морських риб, який зберігається за № 3 у секторі іхтіопатології та ветсанекспертизи морських риб і безхребетних Кримської дослідної станції Національного наукового центру "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини" та в ННЦ "ІЕКВМ".
- 20

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

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