



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 61997

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ СИРОВАТКИ КАМПЛОБАКТЕРІОЗНОЇ АГЛЮТИНУЮЧОЇ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **10.08.2011.**

Голова Державного департаменту
інтелектуальної власності

М.В. Паладій



(11) **61997**

(19) **UA**

(51) МПК (2011.01)
С12Q 1/00

(21) Номер заявки:	u 2011 00025	(72) Винахідники:	Касяненко Оксана Іванівна, UA, Фотіна Тетяна Іванівна, UA
(22) Дата подання заявки:	04.01.2011	(73) Власник:	СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Кірова, 160, м. Суми, 40021, UA
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.08.2011		
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня:	10.08.2011, Бюл. № 15		

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ СИРОВАТКИ КАМПІЛОБАКТЕРІОЗНОЇ АГЛЮТИНУЮЧОЇ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб одержання діагностичної сироватки кампілобактеріозної аглютинуючої, що включає багатократну імунізацію тварин-продуцентів авірулентним антигенним матеріалом з комбінованим посднанням імуномодуляторів, забір крові і приготування сироватки, який відрізняється тим, що як імуномодулятори використовують тимоген і циклофосфан, імунізацію здійснюють п'ятикратно, антигенний матеріал вводять внутрішньовенно, імуномодулятор тимоген - внутрішньом'язово дозою 5 мг одночасно з ін'єкцією антигену, а циклофосфан разово в третій ін'єкції дозою 100 мг.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61997 (13) U
(51) МПК (2011.01)
C12Q 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ СИРОВАТКИ КАМПІЛОБАКТЕРІОЗНОЇ АГЛЮТИНУЮЧОЇ

1

(21) u201100025
(22) 04.01.2011
(24) 10.08.2011
(46) 10.08.2011, Бюл.№ 15, 2011 р.
(72) КАСЯНЕНКО ОКСАНА ІВАНІВНА, ФОТІНА
ТЕТЯНА ІВАНІВНА
(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
(57) Спосіб одержання діагностичної сироватки
кампілобактеріозної аглютинуючої, що включає

2

багатократну імунізацію тварин-продуцентів авіру-
лентним антигенним матеріалом з комбінованим
поєднанням імуномодуляторів, забір крові і приго-
тування сироватки, який відрізняється тим, що як
імуномодулятори використовують тимоген і цик-
лофосфан, імунізацію здійснюють п'ятикратно,
антигенний матеріал вводять внутрішньовенно,
імуномодулятор тимоген - внутрішньом'язово до-
зою 5 мг одночасно з ін'єкцією антигену, а цикло-
фосфан разово в третій ін'єкції дозою 100 мг.

Корисна модель належить до ветеринарної мі-
кробіології і біотехнології, а саме – до одержання
діагностичної сироватки для ідентифікації бактерій
роду *Campylobacter* за допомогою реакції аглюти-
нації, і може використовуватися в біологічній про-
мисловості для виробництва діагностичних гіпер-
імунних кампілобактеріозних сироваток.

Відомий спосіб виготовлення діагностичної
бруцельозної аглютинуючої сироватки, що вклю-
чає імунізацію кролів - продуцентів живими віру-
лентними бактеріальними клітинами *B. abortus* 146 і
B. melitensis 565 чотирикратно: перші три ін'єкції
проводять в суміші рівних частин з ад'ювантом
Фрейнда через 7 діб, 4-й раз - через 2-3 тижні,
після чого через 14 діб після останньої ін'єкції про-
водять тотальне знекровлення. Діагностична си-
роватка має титр не нижче 1:1600. (Сыворотка
диагностическая бруцельозная агглютинирующая
сухая. Регламент производства № 273-82. Одес-
ское предприятие бакпрепаратов). При використан-
ні живої вірулентної культури необхідним є суворе
дотримання протиепідеміологічного режиму.

Відомий спосіб отримання сироватки для діаг-
ностики сибірки (Сыворотка диагностическая си-
биреязвенная споровая люминисцирующая адсо-
рбированная сухая). Виробництво даного
імунобіологічного препарату регламентовано
№156-80 СНИПЧИ, згідно якого імунізацію кролі-
ків здійснюють авірулентними спорами *Vac.*
Anthraxis 10-кратно з 3-х добовим інтервалом, 5
ін'єкцій здійснюють підшкірно, 5 - внутрішньовенно
з наростанням дози мікробів. Через 7 діб після
останньої ін'єкції проводять знекровлення і приго-

тування сироватки. Виробничий титр досягає
1:3200. Сироватка недостатньо активна.

Відомі способи отримання моно- та полівален-
тних сироваток недостатньо ефективні за рахунок
того, що мають недостатню активність отриманих
сироваток, трудомісткий і тривалий процес їх одер-
жання, високий рівень відходу тварин-
продуцентів, що затрудняє можливість організації
виробництва діагностичних імунобіологічних пре-
паратів.

Найбільш близьким до запропонованого є спо-
сіб одержання діагностичних кампілобактеріозних
моноспецифічних аглютинуючих сироваток до
Campylobacter fetus spp. *fetus*, *Campylobacter fetus*
spp. *venerealis*, *Campylobacter sputorum* spp.
bubulus. Спосіб одержання даного імунобіологічно-
го препарату розроблено Всероссийским государ-
ственным научно-исследовательским институтом
контроля, стандартизации и сертификации вете-
ринарных препаратов - ВГНКИ (м. Москва). (Сыво-
ротки кампиллобактериозные моноспецифические
агглютинирующие. Регламент производства ОСТ
10 - 19 - 008 - 99. ФГУП Армавирская биофабрика).
Імунізацію кролів-продуцентів здійснюють чотири
рази: перші три ін'єкції проводять в суміші рівних
частин з ад'ювантом Фрейнда з інтервалом 7 діб,
4-й раз - через 14 діб. Відбір крові проводять тоталь-
ним знекровленням через 2 тижні після заключ-
ної ін'єкції.

Однак, даний спосіб отримання діагностичних
кампілобактеріозних сироваток недостатньо ефек-
тивний за рахунок того, що спосіб їх отримання
тривалий, трудомісткий та специфічна активність

(19) UA (11) 61997 (13) U

сироваток є недостатньо високою. Сироватка має титр 1:1600.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищити специфічну активність діагностичних кампілобактеріозних аглютинуючих сироваток, спростити та знизити трудомісткість процесу їх одержання і разом з тим підвищити вихід цільового продукту.

Поставлену задачу вирішують шляхом п'ятикратної імунізації тварин-продуцентів авірулентним антигенним матеріалом, який вводять внутрішньовенно. Одночасно при кожній ін'єкції вводять внутрішньом'язово тимоген як імуномодулятор, а при третій ін'єкції додатково вводять внутрішньом'язово циклофосфан. Після останньої ін'єкції проводять забір крові і готують сироватку.

По відношенню до прототипу, спосіб отримання діагностичної кампілобактеріозної сироватки, що пропонується, має наступні відмінні ознаки: застосування в якості імуностимулятора тимогену сприяє значному підвищенню титрів специфічних антитіл сироватки за рахунок збільшення числа антитілоутворюючих клітин за рахунок стимулювання функції макрофагів і хелперних Т-клітин. Застосування класичного імуносупресора циклофосфана сприяє додатковій активації макрофагів, стимуляції фагоцитарної, цитотоксичної і супресивної функції головним чином Т-лімфоцитів (Лазарева Д.Н., Алехин Е.Н. Стимуляторы иммунитета. М.: Медицина, 1985. - С. 67-70).

Поєднання вибіркової дії імуностимулятора та певної селективності дії імуносупресора є оптимальною комбінацією препаратів різних груп і термінів їх застосування для активації одних механізмів імунітету та виключення інших. Одержання діагностичної сироватки кампілобактеріозної аглютинуючої здійснюється в наступному порядку:

Приклад 1. Одержання діагностичної сироватки кампілобактеріозної моноспецифічної аглютинуючої.

Водорозчинний антиген отримують із бакмаси *Campylobacter jejuni* subspecies *jejuni* С.2008 (депоновано за номером № 478 у Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології

і штамів мікроорганізмів, м. Київ), обробленої при 100 °С впродовж однієї години з додавання 1 % розчину формаліну, доведеної до концентрації 1×10^9 м.к./мл за оптичним стандартом мутності ГИСК. Кролям-продуцентам п'ятикратно внутрішньовенно вводять авірулентний антигенний матеріал з інтервалом 7 діб, поступово збільшуючи дозу останнього при кожному введенні: 1,0 мг; 1,25мг; 1,5 мг; 1,75 мг; 2,0мг. Одночасно при кожній ін'єкції як імуномодулятор вводять внутрішньом'язово тимоген (5 мг), а при третій ін'єкції додатково разово внутрішньом'язово вводять циклофосфан (100 мг). Проводять забір крові і готують сироватку. Сироватка характеризується високою специфічністю.

Приклад 2. Одержання діагностичної сироватки кампілобактеріозної поліспецифічної аглютинуючої.

Корпускулярним кампілобактерійним полігруповим антигеном є об'єднані в рівних пропорціях бактеріальні маси із *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* С.2008 колекції штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту БШМ (м. Київ), *Campylobacter coli* №43477, *C. fetus* spp. *fetus* №5396, *Campylobacter lari* № 729 колекції штамів мікроорганізмів ФГУ «ВГНКИ» (м. Москва), оброблені при 100 °С впродовж однієї години з додавання 1 % розчину формаліну, доведені до концентрації 1×10^9 м.к./мл. Схема імунізації кролів-продуцентів виконується в тій же послідовності, що і при отриманні діагностичної кампілобактеріозної моноспецифічної аглютинуючої сироватки.

Важливими перевагами запропонованої схеми в порівнянні із способом-прототипом є: значне скорочення тривалості періоду імунізації (28-30 діб) за рахунок виключення етапу підготовки тварин до імунізації та атравматичності для них, поєднання ін'єкцій антигену та імуномодуляторів, підвищення виходу цільового продукту за рахунок збільшення антитілоутворення у тварин-продуцентів і зменшення витрат антигенних матеріалів, значне підвищення специфічної активності сироваток і отримання високих титрів специфічних антитіл-1:3200-1:6400.