Корисна модель належить до ветеринарної імунології та мікробіології, зокрема стосується способу виготовлення антигену для серологічної діагностики бруцельозу тварин.

Відомий спосіб отримання бруцельозного антигену, де застосовують штам Brucella abortus 19 та бруцельозний бактеріофаг Тб (патент SU 1713592 А від 23.02.1992 р.). Бруцельозний бактеріофаг адсорбують на бруцелах із розрахунку 10-100 фагових корпускул на 1 КУО впродовж 22-24 год за 2-4 °С. Потім завись бактерій із адсорбованим фагом центрифугують, готують суспензію із концентрацією 100 млрд КУО/мл на 0,5 %-му карболінізованому фізіологічному розчині. Отримання такого антигену є тривалим та складним процесом, вимагає напрацювання великої кількості бактеріальної маси бруцел та наявності коштовного специфічного бактеріофагу.

Існує також метод отримання антигену з штаму Brucella abortus 19, що включає культивування бруцел в "глибинних умовах" на рідкому поживному середовищі із регуляцією парціального тиску розчиненого в середовищі кисню, видалення та концентрацію бактеріальних клітин шляхом ультрафільтрації на волокнах та інактивацію бруцел шляхом нагрівання (патент RU 2163141 від 20.02.2001 р.). Даний спосіб тривалий, вимагає спеціального обладнання, в процесі ультрафільтрації втрачається частина бакмаси і існує ризик контамінації її банальною мікрофлорою.

Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб отримання бруцельозного антигену з штаму Brucella abortus 19, що включає отримання розплодки на щільному поживному середовищі, наступне культивування бруцел в рідкому поживному середовищі, концентрування та очищення бакмаси на ультрафільтраційній установці та інактивацію антигену в біореакторі за температури 80 °С впродовж 60 хв (патент RU 2085212 С1 від 27.07.1997р. "Способ изготовления единого бруцеллезного антигена для РА, РСК и РДСК"). Це рішення може бути аналогом. Але цей метод дуже трудомісткий, тому що передбачає культивування в різних середовищах та концентрацію бакмаси в два етапи.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб виготовлення антигену для серологічної діагностики бруцельозу тварин в реакції аглютинації, реакції зв'язування комплементу, реакції тривалого зв'язування комплементу.

Поставлена задача вирішується тим, що за способом виготовлення антигену для серологічної діагностики бруцельозу тварин в реакції аглютинації, реакції зв'язування комплементу, реакції тривалого зв'язування комплементу, який включає вирощування виробничого штаму Brucella abortus 19, змивання бактеріальної маси бруцел фенолізованим фізрозчином, інактивацію бактеріальної маси, згідно з корисною моделлю, вирощування виробничого штаму Brucella abortus 19 проводять на щільному середовищі м'ясо-пептонного печінково-глюкозо-гліцеринового агару (МППГГА), інактивацію бактеріальної маси проводять нагріванням та додатково проводять стабілізацію антигену за температури 2-8 °С, стандартизацію антигену за стандартом каламутності до концентрації $40 \cdot 10^9$ КУО/см^3 з використанням Національної Anti-Brucella abortus сироватки.

Розплодку штаму Brucella abortus 19 вирощують на середовищі МППГГА впродовж 72 год за температури (37±0,5) °С. Культуру перевіряють на типовість росту (візуально та шляхом мікроскопії мазків), а також на відсутність дисоціації та наявність типових антигенних властивостей (із стандарними позитивною та негативною сироваткою). Розплодкою засівають матраци із МППГГА, культивують 72 год за температури (37±0,5) °С. Змивають стерильним 0,5 % фенолізованим фізіологічним розчином pH 7,0-7,2. Інактивують за температури (80±1) °С протягом 1 год. Контроль повноти інактивації бактерійної суспензії здійснюють шляхом висіву на середовища МППГГА і м'ясо-пептонний печінково-глюкозо-гліцериновий бульйон (МППГГБ). Суспензію інактивованих клітин витримують впродовж 10 діб за температури 4-8 °С. Антиген стандартизують стерильним фізрозчином до концентрації $40 \cdot 10^9$ КУО/см^3. Активність антигену перевіряють в ПРА пробіркова реакція аглютинації) із Національною Anti-Brucella abortus сироваткою (ННЦ "ІЕКВМ"). Антиген визнається активним, якщо в розведенні 1:10 він дає 50 % аглютинації (++) із Anti-Brucella abortus сироваткою в титрі 1:500.

Приклад 1.

Експериментальну серію бруцельозного антигену, виготовленого за методикою, що запропонована, було перевірено на активність та специфічність із антигену в РА із сироватками з "Набору позитивної бруцельозної та негативної контрольних сироваток" ТУУ 46.15.274; "Набору компонентів для серологічної діагностики ієрсиніозів тварин" ТУУ 46.15.091 та сироватки діагностичної сальмонельозної адсорбованої монорецепторної для РА (09). Результати наведено в таблиці 1.

Встановлено, що антиген є активним, в робочому розведенні (1:10) він показує аглютинацію на ++++ із контрольною позитивною сироваткою в титрі 1:400. Специфічність антигену підтверджується наявністю аглютинації із гомологічною сироваткою та відсутністю аглютинації із негативною контрольною та гетерологічними сироватками.

Приклад 2

Активність та специфічність експериментальної серії бруцельозного антигену було також перевірено в РЗК із сироватками з "Набору позитивної бруцельозної та негативної контрольних сироваток" ТУУ 46.15.274. Результати наведено в таблиці 2.

Встановлено, що антиген є активним, в розведеннях від 1:50 до 1:200 він дає аглютинацію на ++++ із позитивною бруцельозною сироваткою в титрі 1:80. Специфічність антигену підтверджується відсутністю аглютинації із негативною сироваткою.

Таким чином, запропонований спосіб виготовлення антигену для серологічної діагностики бруцельозу тварин є простим у виконанні, не потребує коштовного лабораторного обладнання та дозволяє отримати активний та специфічний діагностичний засіб. Даний спосіб знайде широке впровадження в біотехнологічній промисловості для виготовлення антигену для прижиттєвої діагностики бруцельозу сільськогосподарських, домашніх та диких тварин.

Таблиця 1

Результати визначення активності та специфічності
бруцельозного антигену в РА з контрольними комерційними сироватками

Найменування сироваток	Титр сироваток					
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
Позитивна бруцельозна сироватка	++++	++++	++++	+++	+	-
Негативна бруцельозна сироватка	-	-	-	-	-	-
Ієрсиніозна сироватка серовар 0:3	-	-	-	-	-	-
Ієрсиніозна сироватка серовар 0:6.30	-	-	-	-	-	-
Ієрсиніозна сироватка серовар 0:9	-	-	-	-	-	-
Сальмонельозна сироватка монорецепторна 09	-	-	-	-	-	-

Таблиця 2

Результати визначення активності та специфічності
бруцельозного антигену в РЗК із контрольними комерційними сироватками

Розведення антигену	Титр позитивної бруцельозної сироватка								Негативна сироватка
	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
1:50	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-
1:100	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	-	-
1:150	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	-	-
1:200	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	-	-
Контроль без антигену	-	-	-	-	-	-	-	-	-