



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 163497

(13) U

(51) МПК

A61K 39/10 (2006.01)

C12N 1/20 (2026.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

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

|                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки: <b>u 2025 06126</b>                                          | (72) Винахідник(и):<br><b>Білойван Олександр Володимирович (UA),<br/>Завгородній Андрій Іванович (UA),<br/>Палій Анатолій Павлович (UA),<br/>Марченко Наталія Віталіївна (UA),<br/>Рамазанова Таїсія Петрівна (UA),<br/>Куценко Валентина Анатоліївна (UA)</b> |
| (22) Дата подання заявки: <b>08.12.2025</b>                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                |
| (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>02.07.2026</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                                |
| (46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>01.07.2026, Бюл.№ 26</b> | (73) Володілець (володільці):<br><b>НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР<br/>"ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І<br/>КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ",<br/>вул. Григорія Сковороди, 83, м. Харків,<br/>61023 (UA)</b>                                                         |

**(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ АНТИГЕНУ ДЛЯ СЕРОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЬОЗУ ТВАРИН В РЕАКЦІЇ АГЛЮТИНАЦІЇ, РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ, РЕАКЦІЇ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ****(57) Реферат:**

Спосіб виготовлення антигену для серологічної діагностики бруцельозу тварин в реакції аглютинації, реакції зв'язування комплексу, реакції тривалого зв'язування комплексу, включає вирощування виробничого штаму *Brucella abortus* 19, змивання бактеріальної маси бруцел фенолізованим фізрозчином, інактивацію бактеріальної маси. Вирощування виробничого штаму *Brucella abortus* 19 проводять на щільному середовищі м'ясо-пептонного печінково-глюкозо-гліцеринового агару (МППГГА). Інактивацію бактеріальної маси проводять нагріванням. Додатково проводять стабілізацію антигену за температури 2-8 °С, стандартизацію антигену за стандартом каламутності до концентрації  $40 \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> з використанням Національної Anti-*Brucella abortus* сироватки.

UA 163497 U



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<sup>3</sup> 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 стандартними позитивною та негативною сироваткою). Розплодкою засівають матриці із МППГГА, культивують 72 год за температури (37±0,5) °С. Змивають стерильним 0,5 % фенолізованим фізіологічним розчином рН 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 (МППГБ). Суспензію інактивованих клітин витримують впродовж 10 діб за температури 4-8 °С. Антиген стандартизують стерильним фізрозчином до концентрації  $40 \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>. 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            | -              | -     | -     | -     | -      | -      |
| Іерсиніозна сироватка серовар 0:3          | -              | -     | -     | -     | -      | -      |
| Іерсиніозна сироватка серовар 0:6.30       | -              | -     | -     | -     | -      | -      |
| Іерсиніозна 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 | -                                      | -    | -    | -    | -    | -     | -     | -     | -                   |

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб 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, який **відрізняється** тим, що 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<sup>3</sup> з використанням Національної Anti-Brucella abortus сироватки.