

Запропонований винахід відноситься до ветеринарної вірусології та біотехнології і може бути використаний при діагностиці лейкозу великої рогатої худоби (ВРХ), можливо застосування на підприємствах біологічної промисловості.

Існує спосіб одержання агару для мікробіологічних досліджень з морських водоростей шляхом кип'ятіння та відділення геліоподібної маси, промивання, концентрація та сушіння (Ас. СССР №254443, кл. С08В37/12, 1969). Цей спосіб не дає високої якості агару. Для підвищення якості агару додають фосфатний буфер з рН 7,4±0,2 (Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера, М.: Медицина, 1982, с.68.)

Найближчим за технічним рішенням, вибраним як прототип, є середовище сусло агар (Ас. СССР №1065475А, кл. С12Н1/20, от 07.01.84, Бюл. №1). Для готування живильного сусло-агарового середовища: стерильне нехмільне пивне сусло розводять водопровідною або дистильованою водою до змісту 7-8% вуглеводів по Баллингу, установлюють рН 7,0-7,4, потім додають 2,5-3% мікробіологічного агар-агару, кип'ятять до розчинення агару і фільтрують, потім розливають у стерильний посуд - матраци по 300мл. Стерилізують при 0,5-0,7атм 40хв. Після стерилізації значення рН сусла-агару повинне бути 6,8-7,0.

Недоліком сусло-агарового середовища є недостатні ростові властивості.

В основу винаходу, що передбачається, поставлено задачу одержати агаро-буферну сольову суміш (АБСС) - середовище для постановки реакції преципітації з агару мікробіологічного, натрію хлористого (NaCl), шляхом додавання натрію фосфорнокислого двозаміщеного ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), калію фосфорнокислого однозаміщеного (KH_2PO_4) та метилоранжу при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

агар	2,2-2,7
натрій хлористий	0,08-1,2
натрій фосфорнокислий двозаміщений	0,80-0,90
калій фосфорнокислий однозаміщений	0,2-0,26
метилоранж	0,03-0,07
дистильована вода при рН 7,0±0,2	решта,

щоб забезпечити використання середовища АБСС для постановки реакції преципітації при діагностиці лейкозу ВРХ.

Метилоранж (МО) (геліантин) (п-диметиламіноазобензолсульфонат натрію) органічний синтетичний барвник, що використовують, як кислотно-азотний індикатор при титруванні розчинами сильних кислот, а також для визначення водневого показника (рН) середовища. Перехід забарвлення МО - від червоного до оранжево-зеленого спостерігається в інтервалі значень рН 3,1-4,4 („Каталог сухих питательных сред, выпускаемых в СССР для медицинской бактериологии”, М., 1980, в 1, С.14-15).

Аналіз відомих технічних рішень в галузі ветеринарної вірусології та біотехнології дозволяє зробити висновок про відсутність ознак, що схожі з суттєвими відмінними ознаками АБСС, що заявляється, та признати це рішення, відповідним критерію „суттєві ознаки”.

Новий склад компонентів дозволяє знизити собівартість, підвищити ростові властивості середовища, що пропонується, та підвищити діагностичну ефективність при діагностиці лейкозу.

АБСС одержують таким чином.

Готують наважку агару мікробіологічного та піддають її промиванню у проточній (48 годин) та дистильованій воді (24 години).

До розрахункового об'єму дистильованої води додають 2,4-2,5% агару (суха наважка), 0,08-1,2% (NaCl), 0,80-0,90 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 0,20-0,26 (KH_2PO_4) та метилоранжевого - 0,05%.

Суміш кип'ятять на повільному вогні при постійному помішуванні до повного розчину агару. Після чого проводять автоклавування суміші при 1,2-1,4 атмосферах на протязі 30 хвилин.

Рідку суміш, ще в гарячому стані центрифугують при G200-300, надосадову рідину піддають ліофілізації.

Готову суху АБСС - середовище для постановки реакції преципітації при діагностиці лейкозу ВРХ, гомогенізують до одержання однорідної маси.

Готове сухе середовище за умов зберігання при 4°C придатне до використання на протязі двох років.

Приклад 1.

Середовище готували за наведеною схемою при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

агар	2,2
натрій хлористий	0,08
натрій фосфорнокислий двозаміщений	0,80
калій фосфорнокислий однозаміщений	0,2
метилоранж	0,03
дистильована вода при рН 7,0±0,2	решта,

Приклад 2.

Те, що в прикладі 2 при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

агар	2,7
натрій хлористий	1,2
натрій фосфорнокислий двозаміщений	0,90
калій фосфорнокислий однозаміщений	0,26
метилоранж	3,07
дистильована вода при рН 7,0±0,2	решта,

Приклад 3.

Те, що в прикладах 1 та 2 при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

агар	2,4
натрій хлористий	1,0

натрій фосфорнокислий двозаміщений	0,86
калій фосфорнокислий однозаміщений	0,24
метилоранж	0,05

дистильована вода при рН $7,0 \pm 0,2$ решта,

В прикладі 3 інтенсивність росту і накопичення бактеріальної маси за період культивування (60 діб) була вищою і оптимальним є склад середовища наведений у цьому прикладі.

Приклад 4.

Для постановки реакції преципітації при діагностиці лейкозу ВРХ ліофільне середовище АБСС, розчиняли у 200см^3 стерильної дистильованої води і витримували в термостаті при 37°C три години.

Після розчинення, рН середовища доводили до $7,0 \pm 0,2$. Середовище розливали у стерильні бактеріологічні пробірки по $4-4,5\text{см}^3$ і в похилому положенні коагулювали при 90°C протягом однієї години в апараті для інактивації сироватки крові.

Таким чином, АБСС - середовище для постановки реакції преципітації при діагностиці лейкозу ВРХ відповідає усім пред'явленим вимогам та є повноцінною основою для приготування ряду багатокomпонентних диференціальнодіагностичних середовищ.