

Список використаної літератури:

1. Головка А. Н. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине: справочное пособие / А. Н. Головка, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник [и др.]; ред. А. Н. Головка. – Харьков: НТМТ, 2007. - 512 с.
2. Ведьмина Е.А. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Е.А. Ведьмина, В.В. Влодавец, М.С. Жарикова, А.Ф. Зак; Под ред. М.О. Биргера. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.
3. Коцюмбас І. Розробка, апробація та впровадження системи токсикологічного контролю ветеринарних препаратів / І. Коцюмбас, О. Малик, І Патерега та ін. // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 7. – С. 30 – 33.
4. Марієвський В.Ф. Зміна чутливості мікроорганізмів до дезінфектантів в залежності від стадії росту / В.Ф.Марієвський, І.І. Даниленко, Л.В. Пархоменко // Тези XI з'їзду мікробіологів, епідеміологів та паразитологів. -К.-2004.-С. 20-21.

Шкромادا О.И., Долбаносова Р.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИОЦИДИН»

В статье приведены данные по исследованию бактерицидного действия комплексного дезинфектанта «Биоцидин». В результате проведенных исследований было доказано, что комплексный дезинфектант «Биоцидин» в достаточно низких концентрациях (0,025 и 0,05%) проявляет значительную антибактериальную способность (более 90 %) относительно многих видов патогенных культур на разных видах общепринятых экспериментальных тест-объектах.

Ключевые слова: бактерицидное действие, дезинфектант, культура микроорганизмов, бактерицидное разведение, питательная среда.

Shkromada O.I., Dolbanosova R.V. DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE DRUG " BIOTSYDIN "

This article presents data poissledovaniyu integrated disinfectant bactericidal action " Biotsydin ." As a result of studies have shown that an integrated disinfectant " Biotsydin " in sufficiently low concentrations (0.025 and 0.05 %) exhibits significant antibacterial ability (90%) relative to many species of pathogenic cultures on different types of conventional experimental test facilities.

Keywords: bactericidal effect, disinfectant, culture microorganisms bactericidal breeding, growing medium.

Рецензент: к.вет.н., професор Зон Г.А.
Дата надходження до редакції: 10.01.2014 р.

УДК 619:614.48:616:579.873.21

ПРОТЕЇНОГЕННІСТЬ ВИРОБНИЧИХ ШТАМІВ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННІ ППД-ТУБЕРКУЛІНУ ДЛЯ ССАВЦІВ

В. Ю. Кассіч, д.вет.н., професор, Сумський національний аграрний університет
М. Д. Камбур, д.вет.н., професор, Сумський національний аграрний університет
В. О. Ушкалов, д.вет.н., професор, член-кореспондент НААН України, ДНКІБШМ
А. А. Замазій, д.вет.н., доцент, Полтавський державна аграрна академія
О. В. Волосянко, д.вет.н., старший науковий співробітник, Національний університет біотехнології та природокористування України

У відповідності із стандартом ЕС PPD-туберкулін для ссавців має виготовлятися зі штамів M.bovis «AN5» або «Valle», в той час як при виготовленні «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців в стандартному розчині» (ТУУ 24.00497087.645-2001), виробничим штамом є «M.bovis IEKBM-1». Тому розробка вітчизняних сухих очищених PPD-туберкулінів із штамів M.bovis «AN5» та «Valle» є актуальним завданням.

Ключові слова: туберкульоз, туберкулін, мікобактерії M.bovis Valle та AN5.

Постановка проблеми у загальному вигляді та аналіз досліджень і публікацій. Ефективна боротьба з туберкульозом тварин можлива лише при всебічному вивченні біології збудника, епізоотології, патогенезу, методів профілактики, економічних і екологічних факторів, які впливають на перебіг хвороби за умов забезпечення тва-

ринництва ефективними засобами специфічної діагностики. Основним методом прижиттєвих досліджень тварин на туберкульоз є алергічне дослідження із застосуванням ППД-туберкуліну для ссавців. Препарати для алергічної діагностики туберкульозу тварин і птиці «Туберкулін очищений (ППД) для ссавців в стандартному розчи-

ні» (ТУУ 24.00497087.645-2001), ППД-туберкулін для птиці (ТУУ 24.4.00497087-675-2002) та алерген з атипичних мікобактерій (ААМ) (ТУУ 24.400497087-697-2003) розроблені в ННЦ ІЕКВМ колективом авторів (Кассіч Ю.Я., Завгородній А.І., Кассіч В.Ю. та ін.) [3,6,7], впроваджені у виробництво, виготовляються Сумською біологічною фабрикою і забезпечують проведення планових діагностичних досліджень на туберкульоз на території України [3, 6, 7].

Проте слід враховувати, що при веденні торгівлі тваринами між країнами Європейського співтовариства законодавчим актом є Директива Ради ЄС за номером 97/12/ЄС від 17 березня 1997р., яка вносить зміни і модернізує Директиву № 64/432/ЄС [12]. У відповідності з цими документами туберкулінізацію тварин проводять з використанням туберкулінів PPD (Protein purified derivative) або HCSM (Heat-concentrated synthetic-medium tuberculin). Згідно стандарту ЄС, що надає Institute voor Dierhouderij en Diergenzondheid (ID-DLO), Lelistad, The Netherlands, PPD-туберкулін для ссавців повинен мати ефективність 50 000 ЕСТ / мл та виготовлятися зі штамів *M.bovis* «AN5» або «Valle» [12], в той час як при виготовленні «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців в стандартному розчині» ТУУ 24.00497087.645-2001, виробничим штамом є «*M.bovis* ІЕКВМ-1» [3, 7, 12]. Тому розробка вітчизняного сухого очищеного PPD-туберкуліну з штамів *M.bovis* «AN5» або «Valle» є актуальним завданням [7,12].

Мета роботи. Основою ветеринарних біологічних імунопрепаратів є виробничий штам. Тому метою нашої роботи було вивчення протеїногенних властивостей виробничих штамів *M.bovis* Valle (модифікатор КСП) та AN5 для подальшого створення на їх базі вітчизняних препаратів для алергічної діагностики туберкульозу тварин, що відповідають вимогам ЄС.

Матеріали, методи та результати досліджень. Дослідні серії туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині готували з культурального фільтрату збудника туберкульозу бичачого виду виробничих штамів *M.bovis* Valle-КСП, та AN5, вирощених на рідкому синтетичному живильному середовищі Сотона шляхом стерилізації культур автоклавуванням (100°C, 3 години), відокремлення бактеріальної маси, одержання й стерилізації культуральних фільтратів (стерилізуюча фільтрація), осадження протеїну розчином трихлороцтової кислоти, пересадження його насиченим розчином сірчанокислого амонію, очищення від солей за допомогою діалізу з подальшим визначенням концентрації протеїну в 1 см³ розчину.

Визначення масової частки білка у стандартному розчині туберкуліну проводили за методом К'ельдаля. При цьому використовували такі прилади та реактиви: колби К'ельдаля ємністю 50

або 100 см³ за ГОСТ 25336; прилад перегінний К'ельдаля; холодильник; шафу сушильну з температурою нагрівання до 110⁰ С; ваги лабораторні не нижче 2-го класу точності; елемент нагрівання (електроплитка) за ГОСТ 14919; піпетки градуйовані за ГОСТ 29228; бюретки за ГОСТ 29252; колби Ерлеймейера ємністю 2-5 см³; крапельницю; папір лакмусовий; фільтри паперові знезелені; кислоту сірчану за ГОСТ 4204 концентровану, щільністю 1,84 г/см³ і розчин 0,05 моль/дм³; натрій гідроокис за ГОСТ 4328, розчин з масовою часткою від 30 до 33% і розчин 0,1 моль/дм³, виготовлений на кип'яченій дистильованій воді; перекис водню за ГОСТ 10929; метиловий червоний, розчин з масовою часткою 0,2 %; синьку метиленову, розчин з масовою часткою 0,1 %; спирт етиловий ректифікований за ГОСТ 5962, розчин з масовою часткою 70 %; метиловий рожевий, розчин з масовою часткою 0,1%; кислоту трихлороцтову, розчин з масовою часткою 5 та 10 %; воду дистильовану за ГОСТ 6709.

Випробування проводили таким чином. В пробірки вносили по 2 см³ стандартного розчину туберкуліну. В першу пробірку вносили туберкулін, серії виготовленої з виробничого штаму *M.bovis* Valle-КСП, а в другу - туберкулін, серії виготовленої з виробничого штаму AN-5.

В пробірки з 2 см³ розчину туберкулінів вносили по 2 см³ розчину три хлороцтової кислоти з масовою часткою 10% і залишали у холодильнику на 30 хвилин при температурі від 4 до 6⁰ С для коагуляції білка. Потім фільтрували через знезелений фільтр, змиваючи залишки білка з пробірки розчином три хлороцтової кислоти з масовою часткою 5%. Білок на фільтрі тричі промивали розчином трихлороцтової кислоти з масовою часткою 15% для вилучення залишкового азоту. Фільтри з білком туберкулінів серій, виготовлених з виробничих штамів *M.bovis* Valle-КСП та AN-5 висушували на повітрі, потім розміщували у двох колбах К'ельдаля, додавали по 2 см³ концентрованої сірчаної кислоти й мінералізували нагріванням.

Мінералізацію проводили у присутності каталізатора – перекису водню, який додавали по 0,5 см³ через кожні 15-20 хвилин до повного знебарвлення розчину.

Після охолодження вміст колб К'ельдаля переносили у колби для відгону, залишки розчину змивали порціями дистильованої води загальним об'ємом 10-12 см³. Вичерпаність переносу перевіряли індикатором метиловим рожевим до одержання рожевого кольору в останній пробі воді.

В 2 колби Ерлеймейера наливали по 20 см³ розчину сірчаної кислоти 0,05 моль/дм³ і 10-15 крапель індикатора Таширо. Індикатор Таширо готували шляхом змішування у рівних об'ємах спиртового розчину метиленового червоного з масовою часткою 0,2 % і спиртового розчину ме-

тиленової синьки з масовою часткою 0,1%.

Відгінні колби з'єднували з холодильником та пароутворювачем. Вміст колб нейтралізували розчином гідроокису натру з масовою часткою від 30 до 33 % за індикатором метиленовим рожевим. Потім вміст відганяли. Відгін аміаку проводили до тих пір, поки в приймальних колбах накопичувалось по 20 см³ розчину. Завершення відгону перевіряли лакмусовим папером.

Вміст приймальних колб титрували розчином гідроокису натру 0,1 моль/дм³ до зміни забарвлення розчину від лілового до зеленого (індикатор Таширо).

Одночасно визначали масову частку азоту в неззоленому фільтрі.

Масову концентрацію білка в мг/см³ у пробах туберкуліну серії, виготовленої з виробничого штаму *M.bovis* Valle (модифікатор КСП) та серії, виготовленої з виробничого штаму *M.bovis* AN-5 (X1 та X2) обчислюють за формулою (2):

$$X_2 = \frac{(VK - V_1K_1) - (V_2K - V_3K)1.4}{2} \cdot 6.25 \quad (2)$$

X1 та X2 – об'єм 0,1 моль/дм³ розчину сірчаної кислоти, що налитий у приймальну колбу при аналізі проби, см³;

K – поправочний коефіцієнт до титру

0,1 моль/дм³ розчину сірчаної кислоти;

V₁ – об'єм 0,1 моль/дм³ розчину гідроокису натрію, що витрачений на титрування проби, см³;

K₁ – поправочний коефіцієнт до титру 0,1 моль/дм³ розчину гідроокису натрію;

V₂ – об'єм 0,1 моль/дм³ розчину сірчаної кислоти, що налитий у приймальну колбу при аналізі проби, см³;

V₃ – об'єм 0,1 моль/дм³ розчину сірчаної кислоти, що витрачений на титрування проби при аналізі неззоленого фільтру, см³;

1.4 – маса азоту, що відповідає 1 см³ 0,1 моль/дм³ розчину сірчаної кислоти, мг;

Згідно існуючих вимог [15,16], масова частка білка у туберкуліні повинна бути (0,8±0,2)мг/см³. Масова частка білка у туберкуліні серії (X1), виготовленої з виробничого штаму *M.bovis* Valle (модифікатор КСП) становила (0,86±0,07)мг/см³, а у туберкуліні серії (X2), виготовленої з виробничого штаму *M.bovis* AN-5 -- (0,87±0,1)мг/см³.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Результати проведених досліджень свідчать, що штами *M.bovis* Valle та AN5 є високотеплоустійливими і перспективними при виробництві ППД-туберкуліну для ссавців.

Список використаної літератури:

1. Туберкулез сельскохозяйственных животных / [Колычев А.М., Кассич Ю.Я., Мартма О.В и др]; Под ред. В.П.Шишкова и В.П.Урбана. – М.: ВО «Агропромиздат», 1991.—255 с.
2. Туберкулез животных и меры борьбы с ним / [Кассич Ю.Я., Борзьяк А.Т., Кочмарский А.Ф.и др.]; Под ред.. Ю.Я.Кассича. – Киев: "Урожай", 1990.—304с.
3. Кассич В.Ю. Мінливість мікобактерій, епізоотологічний моніторинг, засоби і заходи боротьби з туберкульозом тварин в умовах радіаційного впливу: Дис...д-ра.вет.наук: 16.00.03 – Харків, 2004.– 408 с.
4. Линникова М.А. Очищенный протеин дериват туберкулина // Проблемы туберкулеза.–1939.– №12.– С.3-12.
5. Говоров А.М Новые туберкулины / А.М.Говоров, Ф.И.Осташко. – Науч.-тех. бюллетень УНИИ-ЭВ.– 1956.– С.12-15.
6. Кассич Ю.Я. Високоєфективний вітчизняний туберкулін / Ю.Я.Кассич, В.Ю Кассич., П.М.Тихонов, В.М. Горжеев. – Аграрна наука – виробництву.—2005.– №1. – С.26-27.
7. Кассич В.Ю. Аллергия и аллергическая диагностика инфекционных болезней / В.Ю.Кассич, Н.П.Овдиенко., Е.В.Волосянко, Т.Г.Нестеренко. – Збірник статей міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біотехнології, стандартизації та забезпечення контролю якості вет.препаратів, кормів та кормових добавок», присвячена 10-річчю ДНКІБШМ. // Вет.біотехнологія. Бюл.№13 (2). – Київ. – 2008. – С.123-128.
8. Безгин В.М. Совершенствование промышленной технологии (ППД) туберкулина и его биохимическая характеристика.: А\реф. Дис.канд. вет. наук : 03.00.04 – М., 1990. – 27 с.
9. Патент Российской федерации. RU (11)2035924.–(51)6 А 61 К 39/04. Способ получения туберкулина. Шевырев Н.С., Безгин В.М., Ничвеева Л.Д., Солодов Е.Н., Козлов В.Е., Гринев А.А., Сорокина А.А., Алехин В.А., Шаров А.Н., Тырина В.С., Букова Н.К.– (21) 93003234/13.– (46) 27.05.95.–Бюл. № 15.
10. Патент Российской федерации. (19)RU.– (11).2031656 (51) 6 А 61 К 39/04. Способ получения туберкулина. Конарев А.А., Агаджанова Л.В., Помогаева Л.С., Безгин В.М., Шевырев Н.С., Ничвеева Л.Д., Солодов Е.Н., Козлов В.Е. – (21) 5049029/13.–(46) 27.03.95.– Бюл. № 9.
11. Лысенко А.П. Антигены *Mycobacterium Bovis* и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота: Дис...д-ра.вет.наук: 16.00.03 – Минск, 1994.– 379 с.
12. Колос Ю.О.Контроль худоби на наявність туберкульозу в країнах-членах ЄС./ Ю.О.Колос, В.І.Хоменко, В.Ф.Титаренко, О.М.Клименко. – Матеріали Міжнародної наук.-практ. конференції «Епізоотологія і профілактика інфекційних хвороб великої рогатої худоби», 14-17 березня 2006 року, НАУ,

Київ, Україна. – Київ. – 2006. – С. 42-43.

13. Красильников Н.О., 1974 по книге: Радчук И.А., Дунаев Г.В., Колычев Н.М.. Ветеринарная микробиология и иммунология. М., ВО "Агропромиздат".–1991.– С.284-294.

14. Аникиев В.В. с соавт., 1977 по книге: Радчук И.А., Дунаев Г.В., Колычев Н.М.. Ветеринарная микробиология и иммунология. М., ВО "Агропромиздат" – 1991. – С.284-294.

15. Туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині. ТУ У 24.4.00497087-645-2001.

16 Туберкулін очищений (ППД) для птиці у стандартному розчині. ТУ У 24.4.00497087-675-2002.

Кассич В.Ю., Камбур М.Д., Ушкалов В.О., Замазий А.А., Волосянко О.В. ПРОТЕИНОГЕННОСТЬ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ППД-ТУБЕРКУЛИНА ДЛЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В соответствии со стандартом ЕС PPD-туберкулин для млекопитающих должен изготавливаться из штаммов M.bovis «AN5» или «Valle», в то время как при производстве «Туберкулина очищенного (ППД) для млекопитающих в стандартном растворе» ТУУ 24.00497087.645-2001, основным производственным штаммом является «M.bovis IEKVM-1». Поэтому разработка сухих очищенных PPD-туберкулинов из штаммов M.bovis «AN5» та «Valle» является для Украины актуальным.

Ключевые слова: туберкулез, туберкулин, микобактерии M.bovis Valle и AN5.

Kassich V.U., Kambur M.D., Ushkalov V.A., Zamaziy A.A., Volosianko O.V. PROTEINOGENIC PRODUCTION STRAINS FOR THE PREPARATION OF MAMMALS PPD-TUBERCULIN.

In accordance with the EU-PPD tuberculin for mammals must be made of strains M.bovis «AN5» or «Valle», while the production of «purified Tuberculin (PPD) for mammals in the standard solution» TYY 24.00497087.645-2001, production strain is «M.bovis IEKVM-1. Therefore razrobotkaka dry cleaned PPD-tuberkulioiv of strains M.bovis «AN5» that «Valle» for Ukraine is urgent.

Key words : tuberculosis, tuberculin, mycobacterium M.bovis «AN5» or «Valle».

Рецензент: д.вет.н., професор Фотіна Т.І.

Дата надходження до редакції: 08.12.2013 р.

УДК 579.69:594 (262.5)

**ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ НАКОПИЧЕННЯ БАКТЕРІЙНОЇ МАСИ ТЕСТ-ШТАМІВ
МІКРООРГАНІЗМІВ НА СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ ГІДРОЛІЗАТІВ МОРСЬКИХ ГІДРОБІОНТІВ**

К. Ю. Колеснікова, аспірант,

Н. Г. Пінчук, к.вет.н.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

У статті наведено теоретичне обґрунтування і результати експериментальних досліджень щодо перевірки нових твердих, рідких і напіврідких поживних середовищ на основі гідролізатів морських гідробіонтів (мі діюного гідролізату та гідролізату кільки). Встановлено, що експериментальні зразки поживних середовищ при культивуванні еталонних тест-штамів мікроорганізмів забезпечують збільшення виходу бактерійної маси в середньому в 1,2 рази, порівняно з еталонними поживними середовищами, що виготовляється на основі перевару Хоттінгера.

Ключові слова: середовища, тест-штами мікроорганізмів, морські гідро біонти, перевар Хоттінгера.

Постановка проблеми в загальному вигляді. Культивування мікроорганізмів - це важливий етап в промисловій та експериментальній мікробиології. Основою успішного культивування, що забезпечує максимальне накопичення біомаси та підтримання активності штамів, є підбір поживних середовищ відповідно з фізіологічними потребами мікроорганізму [1, 2].

Однак, питання розробки технології отримання, стандартизації, оцінки якості поживних середовищ з природної сировини мають певні, не вирішені труднощі [3].

Це зумовлено, перш за все зниженням якості

самої сировини, в тому числі м'яса та рослинних об'єктів, в зв'язку зі складною екологічною обстановкою та антропогенним впливом на навколишнє середовище. У сировині часто виявляють антибіотики, хімікати, нітрати, токсичні продукти, що негативно впливають на життєдіяльність та накопичення біомаси мікроорганізмів, що знижує результативність діагностичних досліджень [4, 5].

Актуальним та важливим напрямком сучасних наукових досліджень є раціональне використання морських біоресурсів, у зв'язку з дефіцитом сировини тваринного походження. В даний час більше чверті різновидів мікробіологічних сухих