



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **21489** (13) **U**
(51) **МПК (2006)**
A61K 39/04
C12N 1/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ПРОТЕЇНОГЕННИЙ ШТАМ *M. AVIUM*-ЗСП-93

1

(21) u200610590

(22) 06.10.2006

(24) 15.03.2007

(46) 15.03.2007, Бюл. № 3, 2007 р.

(72) Завгородній Андрій Іванович, Стегній Борис Тимофійович, Позмогова Світлана Аркадіївна, Калашник Наталія Василівна

(73) Завгородній Андрій Іванович, Стегній Борис Тимофійович, Позмогова Світлана Аркадіївна, Калашник Наталія Василівна

2

(57) Протеїногенний штам із мікобактерій пташиного виду *M.avium* -ЗСП-93 для виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для птиці, який депонований та зберігається за номером 378 в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів родини *Micobacteriaceae*, рід *Micobacterium*, вид *M.Aviu*m.

Корисна модель відноситься до ветеринарної мікробіології та біотехнології, зокрема для одержання протеїногенного штаму мікобактерій пташиного виду, який може використовуватись для виготовлення туберкуліну очищеного (*Purified Protein Derivative*).

Існує штам пташиного виду, який використовується для виготовлення туберкуліну очищеного для птахів [Сб. Науч. трудов ВГНКИ - М., 1994, т.55, -С.61-67].

Цей штам володіє добрими туберкуліногенними властивостями, а одержаний з нього туберкулін є активним та специфічним. Проте, використання цього штаму в біологічній промисловості неможливе через відсутність його в Україні.

В Україні є виробничий штам *M.avium* - ІЕКВМ УААН, який використовують для виготовлення вітчизняного туберкуліну (ППД) для птиці [патент №51326 кл. С12N1/20 від 22.02.2002]. Штам має високі протеїногенні властивості, а одержаний з нього туберкулін є специфічним та активним. Однак після 6-8 пасажів цього штаму на синтетичному середовищі відмічається нестабільність росту, дисоціація культури, результатом чого зменшується вихід туберкуліну.

В основу корисної моделі поставлено задачу виділити більш протеїногенний штам *M.avium* - ЗСП-93 для виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для птиці.

Штам *M.avium* - ЗСП-93 походить від епізоотичної культури збудника туберкульозу пташиного виду, який одержаний шляхом селекції на яєчному

живильному середовищі для культивування мікобактерій. При культивуванні на синтетичному живильному середовищі штам придбав хороші репродуктивні та туберкуліногенні властивості.

Протеїногенний штам *M.avium* - ЗСП-93 зберігають на живильному середовищі Павловського в колекції культур мікобактерій лабораторії вивчення туберкульозу Національного наукового центру Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини Української академії аграрних наук (ННЦ ІЕКВМ УААН).

Штам мікроорганізму *Mycobacterium avium* - ЗСП-93 депонований 08.09.2006р. та зберігається за номером 378 в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів в м. Києві, вул. Донецька, 30. Родина *Micobacteriaceae*, рід *Micobacterium*, вид *M.Aviu*m.

Штам *M.avium* - ЗСП-93 є збудник туберкульозу пташиного виду має наступні властивості:

Морфологічні. У препаратах, пофарбованих за методом Циля-Нільсена, в полі зору спостерігають короткі та довгі, прямі червоного кольору палички.

Культурально-морфологічні властивості - мікобактерії цього штаму виростають при температурі 37-45°C на яєчному живильному середовищі для культивування мікобактерій через 15-20 діб, а на середовищі Павловського - через 15-30 діб після висіву у вигляді гладеньких, округлих, вологих маслянистої консистенції колоній сіро-білого кольору або з кремовим відтінком.

Культура цього штаму виростає на яєчному

(13) **U**

(11) **21489**

(19) **UA**

середовищі при 25°C у вигляді поодиноких, гладеньких, блискучих колоній з кратероподібними краями.

Біохімічні властивості: штам є анаероб, не росте на середовищі з 5% хлористим натрієм, має негативну каталазну активність, позитивні нікотинамідазну і піразінамідазну реакції та реакцію з телуритом калію.

Біологічні властивості: культура мікобактерій цього штаму є патогенною для кролів і курей. При підшкірному або внутрішньом'язевому введенні цього штаму великій рогатій худобі, морським свинкам в дозі 1 мг мікобактерій в 1 см³ стерильного фізіологічного розчину зумовлює сенсibilізацію їх до туберкуліну та до комплексного алергену із атипових мікобактерій.

Протеїногенність (туберкуліногенність): при культивуванні на синтетичному живильному середовищі, в порівнянні зі штамом M.avium - IEKBM УААН, володіє репродуктивними та протеїногенними властивостями не більше, як на протязі 8-10 пасажів.

Стабільність основних властивостей штаму при довготривалому збереженні - штам зберігає свої властивості при вирощуванні на середовищі Павловського.

Патогенність штаму: підтримують шляхом пасажування на кролях, курях.

Стабільність генетичних властивостей - штам не володіє реверсивними властивостями на синтетичному живильному середовищі при 8-10 пасажах.

Штам вільний від іншої бактеріальної мікрофлори та грибків.

Основні умови зберігання - штам зберігають на живильному середовищі Павловського ["Туберкулез животных и меры борьбы с ним". Ред. Ю.Я.Кас сича, 1990г.], або на яєчному живильному

середовищі для культивування мікобактерій при температурі +4-12°C.

Підтримання та оживлення штаму - шляхом пересіву на живильне середовище Павловського з інтервалом 1,5-2 місяці.

Приклад.

Запропонований штам M.avium - ЗСП-93 використовують для виготовлення туберкуліну (ППД) для птиці у стандартному розчині.

Для цього бактерійну масу, вирощену на живильному середовищі Павловського, висівають бактеріологічною петлею в бутілі з синтетичним живильним середовищем і культивують при температурі +38°C протягом 50-60 діб.

Після цього бутілі з вирощеною бактеріальною масою автоклавують при t 102°C на протязі 60 хвилин. Бактеріальну масу відділяють, а з культурального фільтрату готують туберкулін (ППД) для птиці.

Виготовлений таким чином туберкулін (ППД) для птиці із штаму M.avium - ЗСП-93 випробовують на концентрацію вуглеводневих іонів (рН), вміст білку (не менше 60%), однорідність розчину, стерильність, реактогенність, активність, специфічність та відсутність сенсibilізуючих властивостей в дослідках на морських свинках.

Випробування свідчать про те, що туберкулін, виготовлений із штаму M.avium - ЗСП-93 є високоактивним, специфічним і не реактогенним препаратом.

Використання штаму M.avium - ЗСП-93 із збудника туберкульозу пташиного виду для виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для птиці в порівнянні зі штамом M.avium - IEKBM УААН забезпечує більший вихід цього препарату та ефективне виявлення інфікованих та хворих на туберкульоз свиней та птиці.