



УКРАЇНА

(19) UA (11) 25807 (13) U  
(51) МПК (2006)  
C12N 1/20МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ТУБЕРКУЛІНОГЕННИЙ ШТАМ MYCOBACTERIUM BOVIS №4

1

2

(21) u200703311

(22) 27.03.2007

(24) 27.08.2007

(46) 27.08.2007, Бюл. № 13, 2007 р.

(72) Завгородній Андрій Іванович, Стегній Борис  
Тимофійович, Білушко Віктор Валерійович,  
Позмогова Світлана Аркадіївна, Дегтярьов Ігор  
Миколайович, Удовенко Яна Сергіївна(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР  
"ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ  
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"(57) Протеїногенний штам із мікобактерій бичачого  
виду *M. bovis* № 4 для виготовлення туберкуліну  
очищеного (ППД) для ссавців, який  
зареєстрований за № 97 у колекції культур  
мікобактерій лабораторії вивчення туберкульозу  
Національного наукового центру "Інститут  
експериментальної і клінічної ветеринарної  
медицини", родина *Mycobacteriaceae*, рід  
*Mycobacterium*, вид *M. bovis*.

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

Існують штами мікобактерій бичачого виду  
*Valle*, *Bovinus* №8, які використовуються для  
виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для  
ссавців [Препараты для диагностики туберкулёза у  
животных. Курская биофабрика - 1996, С.374-401].  
Ці штами володіють високими туберкуліногенними  
властивостями, а виготовлені з них туберкуліни є  
активними і специфічними. Однак, використання  
даних штамів в біологічній промисловості  
неможливе через їх відсутність в Україні.

В Україні існує виробничий штам *M. bovis*  
*IEKBM-1*, який використовують для виготовлення  
вітчизняного туберкуліну (ППД) для ссавців у  
стандартному розчині [патент № 99052561 від  
06.05.1999 р.]. Даний штам має високі  
туберкуліногенні властивості, а одержаний з нього  
туберкулін є специфічним і активним. Однак після  
8-10 пасажів цього штаму на синтетичному  
живильному середовищі відмічаються зміни  
культурально-морфологічних властивостей,  
зменшується вихід готового препарату, що знижує  
собівартість туберкуліну лише на 25 %.

В основу корисної моделі поставлено задачу  
виділити більш протеїногенний штам із  
мікобактерій бичачого виду *M. bovis* № 4 для  
виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для

ссавців. Запропонований штам *M. bovis* № 4  
походить від епізоотичної культури збудника  
туберкульозу бичачого виду, виділеного від хворої  
на туберкульоз корови, який одержаний шляхом  
селекції на щільному живильному середовищі для  
культивування мікобактерій. При культивуванні на  
синтетичному живильному середовищі штам має  
високі репродуктивні та туберкуліногенні  
властивості.

Протеїногенний штам *M. bovis* №4 зберігають  
на живильному середовищі Павловського. Штам  
зареєстрований за № 97 у колекції культур  
мікобактерій лабораторії вивчення туберкульозу  
Національного наукового центру "Інститут  
експериментальної і клінічної ветеринарної  
медицини". Родина *Mycobacteriaceae*. Рід  
*Mycobacterium*. Вид *M. Bovis*.

Штам *M. bovis* № 4 є збудником туберкульозу  
бичачого виду і має наступні властивості:

У препаратах, пофарбованих за методом  
Циль-Нільсена спостерігають тонкі прямі або  
злегка зігнуті палички червоного кольору.

Культурально-морфологічні властивості -  
мікобактерії даного штаму виростають за  
температури 37-38°C на щільному живильному  
середовищі для культивування мікобактерій через  
30-45 діб, на середовищі Павловського - через 30-  
60 діб після висіву у вигляді округлих, дрібних  
світло-сірого кольору колоній з шорсткою  
поверхнею (R-форма).

Біохімічні властивості - штам повільно росте  
на МПБ і не росте на середовищах з 5 % NaCl; має

(13) U

(11) 25807

(19) UA

негативну каталазну активність, реакцію з телуридом K та позитивну реакцію з сечовиною.

Біологічні властивості - культура мікобактерій штаму *M. bovis* №4 є патогенною для великої рогатої худоби, кролів, морських свинок. Кролі та морські свинки, заражені культурою штаму гинуть від генералізованої форми туберкульозу через 50-60 діб.

Протеїногенність (туберкуліногенність): при культивуванні на синтетичному живильному середовищі, у порівнянні зі штамом *M. bovis* IEKBM-1, володіє репродуктивними та протеїногенними властивостями впродовж 10-12 пасажів.

Стабільність основних властивостей при довготривалому зберіганні - штам зберігає властивості при культивуванні на середовищі Павловського.

Патогенність штаму підтримують шляхом пасажування через організм кролів, морських свинок.

Стабільність генетичних властивостей - штам не володіє реверсивними властивостями на синтетичному живильному середовищі при 10-12 пасажах.

Штам вільний від сторонньої бактеріальної та грибкової мікрофлори.

Основні умови зберігання - штам зберігають на живильному середовищі Павловського або на щільному живильному середовищі для культивування мікобактерій при температурі 4-12°C.

Підтримання та оновлення штаму проводять шляхом пересіву на середовищі Павловського з

інтервалом 2,5-3 місяці.

Приклад.

Запропонований штам *M. bovis* №4 використовують для виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині.

Для цього бактеріальну масу, вирощену на середовищі Павловського, висівають бактеріологічною петлею у бутлі з рідким синтетичним живильним середовищем і культивують за температури 37,5°C протягом 60 діб. Після цього бутелі з вирощеною бакмасою автоклавують при 132°C - 60 хвилин. Бактеріальну масу відокремлюють від культурального фільтрату, а з отриманого фільтрату виготовляють туберкулін.

При порівняльному вивченні властивостей ППД-туберкулінів, виготовлених із штамів *M. bovis* №4 і *M. bovis* IEKBM-1 визначено, що кількість загального білка в алергенах становить відповідно  $0,82 \pm 0,2$  і  $0,78 \pm 0,2$  відповідно, а біологічна активність -  $56400 \pm 10000$  і  $52120 \pm 10000$  TO.

Випробування свідчать про те, що туберкулін, виготовлений із штаму *M. bovis* № 4 є високоактивним, специфічним і нереагеногенним препаратом з відсутніми сенсibiliзуючими властивостями.

Таким чином, використання штаму *M. bovis* №4 для виготовлення туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців забезпечує більший вихід готового препарату у порівнянні зі штамом *M. bovis* IEKBM-1 та виявляє хворих туберкульозом тварин і може застосовуватись для алергічної діагностики туберкульозу у ссавців.