



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 62585

(13) A

(51) 7 C12N13/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ВИСІВУ ТУБЕРКУЛІНОГЕННОГО ШТАМУ M.AVIUM

1

2

(21) 2003043294

(22) 14 04 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Завгородній Андрій Іванович, Позмогова Світлана Аркадіївна, Кассіч Юрій Якович

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

(57) Спосіб висіву туберкуліногенного штаму M.avium, що включає посів матричного туберкуліногенного штаму M.avium на синтетичне живильне середовище з наступним культивуванням його, який відрізняється тим, що використовують сифонний спосіб посіву матричного туберкуліногенного штаму

Винахід відноситься до ветеринарної мікробіології і може бути використаний для посіву туберкуліногенного штаму M.avium на синтетичне живильне середовище для культивування протеїногенного штаму та одержання туберкуліну (ППД) для птахів

Існує спосіб висіву туберкуліногенних штамів за допомогою бактеріологічної петлі (Труди ГНКИ ветпрепаратів Т19 Москва, 1978, авт. Гринев А.А.)

При виготовленні туберкуліну для осявців і птахів у біологічній промисловості використовується спосіб висіву виробничого штаму бактеріологічною ракеткою (петлею) 20-30 добової плівки культури мікобактерій на синтетичне живильне середовище та подальше культивування протягом 50-60 діб (В.М. Безгин, автореф. дисс. канд. вет. наук, 1990, М.). Це рішення може бути прототипом.

Недоліком цього способу є велика трудомісткість низька продуктивність праці при посіві культур туберкульозних мікобактерій плівкою, небезпечність інфікування людей при пересіві живої культури на петлі, значний відсоток браку посівів пов'язаний з проростом бутлїв сторонньою мікрофлорою та висока собівартість цільового продукту

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб висіву туберкуліногенного штаму M.avium посівом матричного туберкуліногенного штаму (M.avium) на синтетичне живильне середовище, культивуванням його шляхом використання сифонного способу посіву, щоб забезпечити спосіб висіву туберкуліногенного штаму M.avium

Порівняльний аналіз способу, що заявляється

і прототипу від відомого відрізняється тим, що посів матричної культури в виробничих умовах здійснюється сифонним способом, а не плівкою, що відповідає критерію "новизна"

Сифонний спосіб висіву матричної культури дає можливість підвищити адаптивні, ростові властивості культури M.avium, збільшити вихід білка в культуральному фільтраті та активність цільового продукту і зменшити собівартість алергену

Спосіб виконується таким чином

Для виробничого посіву використовують 7-10-добову матричну культуру, яка вирощена на картопляно-глицериновому відварі з добре розвинутою плівкою

Перед висівом колбу з матровою розплодкою ретельно змішують протягом 1-2 хвилин до рівномірної зависі. Після цього, одержану завись висівають сифонним способом у бутлі з синтетичним живильним середовищем. Бутлі з посівами культивують в термостаті при температурі 38-39°C

Через 50-60 днів культивування, всі бутлі з вирощеною культурою автоклавують і через 10-12 годин бактеріальну масу відділяють від культурального фільтрату. При цьому визначають вихід бактерійної маси з 1л середовища, та накопичення білка в культуральному фільтраті, і вихід цільового продукту з 1л середовища

Приклад 1

У три бутля з синтетичним живильним середовищем висівали з розрахунку 2см<sup>3</sup> матричної культури на 1л середовища сифонним способом. Бутлі культивували, як вказано вище

Приклад 2

Теж саме, що в прикладі 1, тільки матричну

(13) A

(11) 62585

(19) UA

культуру висівали в кількості  $5\text{см}^3$  на 1л середовища сифонним способом

Приклад 3

Теж саме, що і в прикладі 1, тільки висів матричної культури в бутлі проводили в дозі  $10\text{см}^3$  на 1л середовища

Ефективність сифонного способу посіву визначали через 50-60 днів після висіву туберкуліногенної культури *M avium* ваговому виходу вирощеної сухої бактеріальної маси білка в культуральному фільтраті і цільового продукту з 1л живильного середовища

Результати проведених досліджень приведені в таблиці

З матеріалів таблиці видно, що при висіві матричної культури *M avium* сифонним способом у кількості  $2\text{см}^3$  (приклад 1) накопичення бактеріальної маси в середовищі становить 230мг білка від  $3,2-3,8\text{мг/см}^3$ , та вихід цільового продукту (апергену)  $46000-47000\text{ТЕ/см}^3$ . Що стосується цих показ-

ників, при висіву  $5\text{см}^3$  на 1л середовища, то вони були дещо вищими (приклад 2) і становили по виходу бакмаси 250мг з 1л середовища, білка  $5,2-5,6\text{мг/см}^3$ , та цільового продукту  $47000-50000\text{ТЕ/см}^3$ , а при посіві матричної розплідки  $10\text{см}^3$ /л середовища ці показники становили відповідно (приклад 3) - 232мг,  $4-5,0\text{мг/см}^3$ ,  $44000-47000\text{ТЕ/см}^3$

Результати проведених досліджень свідчать про те, що при посіві матричної культури сифонним способом у кількості  $5\text{см}^3$  на 1л середовища вихід бактеріальної маси був більшим на 23мг, білка -  $0,7-0,8\text{мг/см}^3$ , а вихід цільового продукту на  $3000-4000\text{ТЕ/см}^3$  у порівнянні з прототипом

Крім цього, з одного матричного бутля, культури в живильному середовищі можна засіяти 180-200 виробничих біобутилів замість 10-20 бутилів при посіві плівкою. Цей спосіб дозволяє механізувати техпроцес, зменшити потребу матеріалах у 30-40 разів

Таблиця

Показники	Штам міко-бактерій	Спосіб			
		Запропонований			Прототип
		приклад 1	приклад 2	приклад 3	
Кількість бактеріальної маси мг/л середовища	<i>M avium</i>	230	250	255	232
Кількість білка	<i>M avium</i>	3,2-3,8	5,2-5,6	5,2-5,8	4,5-4,8
Вихід і цільового продукту з 1л середовища $\text{ТЕ/см}^3$	<i>M avium</i>	46000-47000	47000-50000	47000-49000	44000-47000