

© Власенко В.В., Блащук М.В., Блащук В.В., Власенко І.Г.

УДК: 619:576.8.078:616-025

**Власенко В.В., Блащук М.В., Блащук В.В., Власенко І.Г.**

Вінницький національний аграрний університет м. Вінниця, Україна (вул. Сонячна, 3, м. Вінниця, Україна, 21008)

## **ВПЛИВ ПОЛІСАХАРИДІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА РОСТОВІ ВЛАСТИВОСТІ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА АПМ-ВІНТУБ ДЛЯ ПРИСКОРЕНОГО ВИДІЛЕННЯ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

**Резюме.** На базі Вінницького національного аграрного університету було проведено дослідження впливу полісахаридів рослинного походження на ростові властивості поживного середовища АПМ-ВІНТУБ для прискореного виділення збудника туберкульозу. В якості дослідного зразка використовували спеціальну біологічну добавку "МАІС". Дослідження проводили з використанням поживного середовища АПМ-ВІНТУБ. В результаті дослідження було встановлено, що запропоноване поживне середовище володіє високими ростовими властивостями, у порівнянні із традиційними за рахунок введення до його складу спеціального рослинного компоненту із вмістом полісахаридів до 19%. Компонент є доступним та недорогим. Запропонований склад поживного середовища дозволяє проводити більш швидку детекцію збудника туберкульозу (24-48 годин) у порівнянні із традиційними методами (30-60 діб). Отримане поживне середовище є простим у приготуванні та використанні.

**Ключові слова:** полісахариди, маїс, поживне середовище, туберкульоз, АПМ-ВІНТУБ.

### **Вступ**

На сьогоднішній день для детекції туберкульозу використовують всі мікробіологічні методи: бактеріологічний, бактеріоскопічний, серологічний, біологічний та алергічні проби.

Важливою перевагою методу культурального дослідження є можливість отримання культури збудника, яка може бути детально досліджена, ідентифікована і вивчена у відношенні до лікарської чутливості, вірулентності та інших властивостей [Калистратова, 1983; Чернушенко та ін., 2000; Борисов, 2001].

Мікобактерії не ростуть на простих поживних середовищах, вони потребують речовин, які необхідні для метаболізму клітин.

В більшості лабораторій посів для виявлення мікобактерій здійснюється на щільні живильні середовища, основу яких становлять курячі яйця з розчинами солей та гліцерину (середовища Левенштейна-Єнсена, Гельберга, Мордовського, Фінна та ін.) [Хоменко, 1996].

Також використовують різноманітні агарові середовища Міддбрука, синтетичні та напівсинтетичні середовища Сотона, Дюбо, Проскауера-Гека, Школьникової та ін. На синтетичних (безбілкових) середовищах (Павловського, Левенштейна-Єнсена, Петран'яні, Гельберга, ФАСТ-2, ФАСТ-3Л, Сотона, Моделя та ін.) при оптимальних параметрах культивування (рН 7,1-7,2; температура +37°C) мікобактерії розвиваються в терміни від 3 тижнів до 3 місяців [Козловський, Емельяненко, 1982; Донченко і др., 2004].

Для підвищення результативності культурального методу рекомендується застосовувати посів патологічного матеріалу одночасно на декілька середовищ (2-3). За стандарт для виділення збудника і визначення його лікарської чутливості ВОЗ рекомендовано середовище Левенштейна-Єнсена. Це щільне середовище, на якому хороший ріст з'являється на 15-25 добу після посіву бактеріоскопічно позитивного матеріалу [Хоменко, 1996; Чернушенко та ін., 2000].

Існує ряд факторів, який обмежує широке застосування культурального методу, частково обмеження, пов'язані із складністю обробки патологічного матеріалу та повільним розмноженням мікобактерій туберкульозу, а також з необхідністю використовувати для посіву дорожні поживні середовища.

Це знижує цінність методу, не дає можливості оперативно використовувати отримані результати в клініці та диктує необхідність широкого пошуку як більш досконалих методів, так і більш досконалих поживних середовищ, які б прискорили отримання результатів та підвищили ефективність та чутливість методу.

Тому створення засобів прискореної культуральної діагностики туберкульозу є актуальним завданням, рішення якого прискорить діагностику туберкульозу.

Метою нашого дослідження було створення живильного середовища для прискореного виділення збудника туберкульозу, в якому за рахунок нового складу компонентів, їх кількісного співвідношення досягається можливість скоротити тривалість інкубування матеріалу до 24 годин. Завдяки цьому, час діагностики туберкульозу бактеріологічним способом, зменшується на 30-90 діб.

### Матеріали та методи

Контролем служили тест-культури мікроорганізмів: *Mycobacterium tuberculosis* H37 RV - збудник туберкульозу людей, *Mycobacterium bovis* - збудник туберкульозу великої рогатої худоби. В якості супутньої мікрофлори мікрофлору використовували тест-культури *E. Coli* (K 12), *B. subtilis*, *S. epidermidis* (1225).

Як контрольне живильне середовище використовували середовище Левенштейна-Йенсена.

Підготовлений контрольний посівний матеріал перед висівом обробляли антисептиком з послідовним інкубуванням при температурі  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  протягом 22-24 годин і висівали на живильні середовища.

### Результати. Обговорення

Для приготування середовища ми використали спеціальну біологічну добавку "Maіc", що містить: білок - 3,2%, жири - 1,2%, полісахариди - 19%. Крім того 100г компоненту містить такі біологічні речовини: ретинол - 10 мкг, тіамін - 0,2 мг, ніацин - 1,7 мг, фолацин 46 мкг, аскорбінова кислота 7 мг, а також залізо - 0,5 мг, магній - 37 мг та калій - 270 мг (За даними USDA Nutrient database).

Результати порівняння ростових властивостей середовища АПМ-ВІНТУБ із ростовими властивостями середовища Левенштейна-Йенсена наведені у таблиці 1.

В результаті досліджень встановлено, що на середовищі, яке використовувалося як контрольне (середовище Левенштейна-Йенсена), ріст мікобактерій всіх культур, які були узяті в дослід, з'явився лише через 20-60 діб.

**Таблиця 1.** Порівняльна характеристика ростових властивостей живильних середовищ АПМ-ВІНТУБ та Левенштейна-Йенсена.

Термін інкубування посіву на живильному середовищі	Наявність та ознаки росту на живильному середовищі	
	Запропоноване середовище АПМ-ВІНТУБ	Контрольне середовище Левенштейна-Йенсена
12 годин	Ріст відсутній	Ріст відсутній
24 годин	Наявний ріст	Ріст відсутній
48 годин	Інтенсивний газонний ріст, наявні характерні колонії	Ріст відсутній
20-60 діб		Наявні характерні колонії мікобактерій туберкульозу.

На запропонованому середовищі АПМ-ВІНТУБ через 24 години після термостатування відмічався ріст усіх культур. Через 72 години спостерігався газонний ріст колоній мікобактерій.

Крім того ріст супутньої мікрофлори був відсутній.

Використання спеціальної біологічної добавки "Maіc" дозволило отримати стимулюючий ефект на ріст тест-культур мікобактерій.

Виходячи з вище отриманих результатів нами запропоновано живильне середовище АПМ-ВІНТУБ, де в якості одного з компоненту, використали спеціальну біологічну добавку "Maіc".

Запропоноване живильне середовище володіє високими ростовими властивостями, у порівнянні із традиційними за рахунок введення до його складу спеціального рослинного компоненту із вмістом полісахаридів до 19%. Компонент є доступним та недорогим.

Всі компоненти заявлених складових та обладнання вітчизняного виробництва, що є досить зручним для виробничих, науково-дослідних лабораторій медичного профілю. Якісний та кількісний вміст усіх компонентів в заявлених складах, є необхідними, оптимальними для проявлення їх позитивних властивостей та досягнення технічного результату.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Отримані культуральні показники для запропонованого поживного середовища АПМ-ВІНТУБ дають змогу визначити придатність середовища для прискореного виділення збудника туберкульозу.

2. Для прискореної діагностики туберкульозу рекомендується використовувати поживне середовище АПМ-ВІНТУБ, яке просте в приготуванні і використанні та забезпечує ефективну детекцію збудника туберкульозу.

Результати досліджень поживного середовища АПМ-ВІНТУБ окреслюють перспективу створення нового методу діагностики туберкульозу та скоротити термін бактеріологічного дослідження в 30 разів.

## Список літератури

- Борисов С.Е. Диагностика туберкулёза: возможности и пределы / С.Е. Борисов // Проблемы туберкулёза. - № 3. - 2001. - С. 5 - 8.
- Козловского Е. В. Ветеринарная микробиология; под редакцией Е. В. Козловского, П. А. Емельяненко. - М.: "Колос", 1982. - 345 с.
- Калистратова В. С. Современные проблемы сочетанного действия факторов радиационной и нерадиационной природы / В. С. Калистратова // Биологические эффекты малых доз радиации. - М.: 1983. - С. 134-138.
- Питательная среда для культивирования микобактерий туберкулеза / А. С. Донченко, Н. А. Донченко, В. Н. Донченко [и др.] // Современные проблемы эпизоотологии: материалы международной конференции (Краснообск, 30 июня 2004 г.): сб. науч. трудов. - Новосибирск, 2004. - С. 80-85.
- Туберкулез. Руководство для врачей / под ред. А. Г. Хоменко. - М.: Медицина, 1996. - 496 с.
- Чернушенко К.Ф. Діагностика персистенції мікобактерій туберкульозу / К.Ф. Чернушенко, М.Т. Клименко, О.А. Журило // Лабораторна діагностика. - № 3. - 2000. - С. 49 - 54.
- Чернушенко К.Ф. Мікробіологічна діагностика туберкульозу в сучасних умовах / Е.Ф. Чернушенко, М.Т. Клименко, А.А. Журило // Журнал практичного лікаря № 3. - 2000. - С. 13 - 17.

**Власенко В.В., Блащук М.В., Блащук В.В., Власенко И.Г.**

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ АПМ-ВИНТУБ ДЛЯ УСКОРЕННОГО ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА**

**Резюме.** На базе Винницкого национального аграрного университета было проведено исследование влияния полисахаридов растительного происхождения на ростовые свойства питательной среды АПМ-ВИНТУБ для ускоренного выделения возбудителя туберкулёза. В качестве опытного образца использовали специальную биологическую добавку "МАИС". Исследование проводили с использованием питательной среды АПМ-ВИНТУБ. В результате исследования было установлено, что предложенная питательная среда обладает высокими ростовыми свойствами в сравнении с традиционными за счет ввода в его состав специального растительного компонента с содержанием полисахаридов до 19%. Данный компонент является доступным и недорогим. Кроме того, предложенный состав питательной среды позволяет проводить более быструю детекцию возбудителя туберкулёза (24-48 часов) по сравнению с традиционными методами (30-60 суток). Полученная питательная среда является простой в приготовлении и использовании.

**Ключевые слова:** полисахариды, маис, питательная среда туберкулёз, АПМ-ВИНТУБ.

**Vlasenko V.V., Blashchuk M.V., Blashchuk V.V., Vlasenko I.G.**

**INFLUENCE OF PLANT ORIGIN POLYSACCHARIDES ON GROWTH PROPERTIES OF NUTRIENT MEDIUM APM-VINTUB FOR ACCELERATED DETERMINATION OF THE CAUSATIVE AGENT OF TUBERCULOSIS**

**Summary.** On the basis of Vinnytsya National Agrarian University conducted research of influence of plant origin polysaccharides on growth properties of nutrient medium APM-VINTUB for accelerated determination of the causative agent of tuberculosis. As test sample we used special biological additive "MAIS". Research conducted with using nutrient medium APM-VINTUB. Obtained results shown us that proposed nutrient medium has high growth properties in comparison with traditional media due to special plant component with polysaccharides content 19%. This component is inexpensive and available. Moreover proposed composition of nutrient media allows to conduct accelerated detection of causative agent of tuberculosis (24-48 hours) in comparison with traditional methods (30-60 days). Obtained nutrient medium is simple for preparation and for use.

**Key words:** polysaccharides, mais, nutrient medium, tuberculosis, APM-VINTUB.

Стаття надійшла до редакції 16.02.2015р.

*Власенко Володимир Васильович* - доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри харчових технологій та мікробіології Вінницького національного аграрного університету; +38 050 461-04-89

*Блащук Максим Віталійович* - аспірант кафедри харчових технологій та мікробіології Вінницького національного аграрного університету; +38 050 44-54-882

*Блащук Віталія Віталіївна* - кандидат сільськогосподарських наук, старший викладач кафедри харчових технологій та мікробіології Вінницького національного аграрного університету; +38 050 44-54-881

*Власенко Ірина Георгіївна* - доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри товарознавства, експертизи та торговельного підприємництва Вінницького торговельно-економічного інституту Київського національного торговельно-економічного університету.