



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **135806** (13) **U**
(51) МПК
A61K 39/102 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2018 11300</p> <p>(22) Дата подання заявки: 16.11.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2019, Бюл.№ 14</p>	<p>(73) Власник(и): ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, 49600 (UA)</p>
--	--

(54) ШТАМ AEROCOCCUS VIRIDANS ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ ЯК ПРОБІОТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ У СКЛАДІ СИМБІОТИКА "СУБАЕРІН"

(57) Реферат:

Штам *Aerococcus viridans* для використання як пробіотичної культури у складі симбіотика "Субаерін", згідно з корисною моделлю, був отриманий від здорових курчат-бройлерів у Дніпропетровській області України і має активні пробіотичні властивості відносно сільськогосподарських і домашніх тварин та птиці, придатний для використання як одного з компонентів при виготовленні пробіотичних і симбіотичних біопрепаратів.

UA 135806 U

Корисна модель належить до області ветеринарної мікробіології та біотехнології, зокрема до технології виготовлення пробіотичних препаратів для підвищення імунобіологічного стану і корекції мікробіоти макроорганізму сільськогосподарських і домашніх тварин та птиці [1, 2].

Одним з компонентів розробленого нами біопрепарату - симбіотика "Субаерін" є штам пробіотичного індигенного мікроорганізму *Aerococcus viridans*.

Відомі культури аерококів отриманих лікарями гуманної медицини від хворих і клінічно здорових пацієнтів при мікробіологічних дослідження загальноприйнятими методами відкритих порожнин тіла, наприклад резидентні культури *Aerococcus viridans* №№ 11, 205, 29 та референтний штам № 167 [1-4].

В основу корисної моделі поставлена задача отримати біологічно активний штам *Aerococcus viridans*.

Нами, при мікробіологічному обстеженні здорових курчат-бройлерів був отриманий біологічно активний штам *Aerococcus viridans*, який придатний для використання при виробництві біопрепаратів на основі живих культур пробіотичних прокаріот.

Штам *Aerococcus viridans* для використання як пробіотичної культури у складі симбіотика "Субаерін" характеризується наступними властивостями:

Морфо-тинкторіальні властивості

Аерококи представлені нерухомими кулястими Г+ клітинами діаметром 1,0-2,0 мкм, розташованих парами чи нерегулярними скупченнями, у мазках з культур вирощених на рідких живильних середовищах - тетрадами.

Культуральні властивості

Факультативні анаероби, але краще ростуть у мікроаерофільних умовах. Утворюють дрібні колонії, викликаючи позеленіння кров'яного агару. Хемоорганотрофи з окисним метаболізмом; вуглеводи ферментують з утворенням кислоти. Каталазо-негативні чи злегка-позитивні. Желатин не розріджують; нітрати не відновлюють. Температурний оптимум 36 ± 1 °C (також ростуть при 10 °C, але не при 45 °C).

Сапрофіти, широко розповсюджені в природі. Принципи ізоляції аерококів аналогічні таким при індикації стрептококових інфекцій; бактерії утворюють білувато-сірі колонії, сформовані великими коками, зібраними в тетради чи пари. Подібно ентерококам, вони здатні рости на середовищах, що містять 6,5 % NaCl, але не ростуть при 45 °C, а також чутливі до бацитрацину.

Колонії аерококів на щільному живильному середовищі круглі, діаметром 1,0-2,0 мм у діаметрі, напівпрозорі, білі чи сірі, іноді бусинкоподібні. На кров'яному агарі колонії аерококів мають великі розміри, оточені зоною позеленіння. В МПБ утворюється гомогенне помутніння, що має тенденцію перетворюватися в зернистий осад.

Біохімічні властивості

Ріст штаму залежить від наявності в середовищі біотину, пантотенової і нікотинової кислот. Tween-80 замінює потребу в біотині. Штам не потребує вітамінів групи В: тіаміну, рибофлавіну, піридоксину, фолієвої і флавонової кислот. Для росту аерококів потрібні екзогенні пурини. Гунін і ксантин взаємозамінні з аденіном. Штам не потребує екзогенних піримідинів. Потреба в амінокислотах варіабельна.

Штам при культивуванні в молоці з 1 % метиленової синьки, не відновлює останньої, підкислює молоко при відсутності згортання, желатину не розріджає, аргінін, крохмаль, ескулін не гідролізує. Аерококи продукують кислоту, але не газ при культивуванні на середовищах з глюкозою, мальтозою, лактозою, манітом, сахарозою. Ацетоїн не утворюють, рафінозу не зброджують, каталазу не продукують, коагулазу не утворюють.

При культивуванні в глюкозному (1 %) бульйоні - кінцеве рН 5,1-5,8, ріст мікроаерофільний. При аеробному рості штам продукує пероксид водню. Максимальна продукція перекису водню в культурі аерококів спостерігається в ранній період логарифмічної фази росту. У аерококів - активних продуцентів перексиду водню, стаціонарна фаза розвитку культури - нетривала. Аерококи проявляють високу чутливість до антибіотиків.

Біологічні властивості штаму

Штам не патогенний для сільськогосподарських, домашніх і лабораторних тварин.

Антигенні (серологічні) властивості штаму

Спроби отримати типові сироватки були невдалими. Аерокок сам по собі давав зернистий осад у сольовому розчині чи бульйоні. Кислотні і формамідні екстракти аерокока не давали преципітації з імунною сироваткою групи D стрептококів.

Генетичні особливості штаму (ауксотрофність, резистентність до антибіотиків, фагів тощо.)

Штам потребує для росту екзогенні пурини, біотин, пантотенову кислоту. Фаги не знайдені.

Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму

Штам добре росте на МПА і МПБ при 36 ± 1 °C.

Спосіб, умови та склад середовища для довгострокового зберігання штаму.

Довгострокове зберігання штаму досягається ліофілізацією або зберіганням в анаеробних умовах на МПА.

Галузь використання штаму

5 Біотехнологічне виробництво пробіотиків і симбіотиків для ветеринарної медицини на основі використання живої культури штаму.

Продукт, що синтезується штамом

Ферменти, біологічно активні речовини, пероксид водню.

10 Активність штаму (із зазначенням умов культивування та способу визначення), інші виробничі показники.

Оксидазна активність штаму визначається по здатності аерококів при своєму рості окисляти калію йодид до йоду в складі щільного живильного середовища (МПА). Як індикатор до складу МПА входить розчинний крохмаль. Після інкубації посівів при 36 ± 1 °C впродовж 48 годин навколо штриха аерококів з'являється темно-синє забарвлення, діаметр якого повинен бути не менше 10 мм.

15 Антагоністичну активність штаму перевіряють у відношенні тест-штамів методом штриха на МПА.

Приклад

20 Запропонований штам *Aerococcus viridans* використовується як пробіотична культура при виготовленні симбіотика "Субаерін" як одного з компонентів біопрепарату, для підвищення неспецифічної резистентності та імуномодуляції імунного статусу макроорганізму тварин яких використовують для утримання.

"Субаерін" призначається сільськогосподарським і домашнім тваринам як кормова дієтична добавка, яка містить пробіотичні культури, однією з яких є штам *Aerococcus viridans*, для нормалізації видового і кількісного складу індигенного мікробіоценозу ШКТ.

25 При пероральному використанні штаму *Aerococcus viridans* як кормової дієтичної добавки у складі пробіотиків або симбіотиків у тварин буде відбуватись корекція метаболічних та імунобіологічних процесів в макроорганізмі внаслідок нормалізації мікробіоти у ШКТ та підвищення загальноорганізменної резистентності.

30 Для накопичення бактеріальної маси пробіотичної культури *Aerococcus viridans* використовують МПБ, в якому при 37 ± 1 °C в стаціонарних умовах (в колбах або матрасах) або в ферментерах (біореакторах) при суспензійному культивуванні, отримують необхідний біоматеріал прокаріот. Сепарацію бактеріальної маси аерококів від рідкого живильного середовища після культивування проводять за допомогою центрифугування. Отриману бакмасу пробіотичної культури суспендують у стерильному фізрозчині і використовують як один з компонентів для виготовлення симбіотика "Субаерін".

Джерела інформації:

40 1. Биологические свойства аэрококков-антагонистов - представителей микробиоценоза человека / Г.Н. Кременчуцкий, М.Л. Горбунова, Л.Г. Юргель и др. // Микробиологический журн. - 1994. - Т. 56, № 4. - С. 37-42.

2. Кременчуцький Г.М. Біологічні властивості А-бактерину // Мед. перспективи. - 2001. - Т. 6, № 3. - С. 90-97.

45 3. Морфофункциональные и ультраструктурные особенности вариантов *Aerococcus viridans* с разным уровнем продукции пероксида водорода / Г.Н. Кременчуцкий, Н.Д. Константинова, Г.А. Левина // Микробиол. - 1990. - Т. 59. - Вып. 1. - С. 106-112.

4. Черняев С.А. Гетерогенность бактерий рода *Aerococcus* и их роль в разработке новых пробиотиков и контроль их аутентичности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 25.10.02. - Харьков, 2002. - 22 с.

50

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Штам *Aerococcus viridans* для використання як пробіотичної культури у складі симбіотика "Субаерін".

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601