

## 5. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 619:616.98-078:578.825.1.083.33:636.5:602.3(477)

DOI 10.36016/VM-2021-107-11

### ОЧИСТКА ТА КОНЦЕНТРУВАННЯ АНТИГЕНУ ДЛЯ ІФА З ВИКОРИСТАННЯМ ЕПІЗООТИЧНИХ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕЇТУ, ВИДІЛЕНИХ В УКРАЇНІ

**Верещун А. Л., Усова Л. П.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [veretsun1975@gmail.com](mailto:veretsun1975@gmail.com)

Інфекційний ларинготрахеїт курей — одна з небезпечних вірусних респіраторних хвороб курей, яка завдає суттєві економічні збитки птахівничим господарствам. Ключовою складовою контролю цього захворювання є своєчасна швидка серологічна діагностика. На сьогоднішній день основним методом серологічної діагностики та моніторингу є імуноферментний аналіз. Основним компонентом ІФА тест-систем є очищений та концентрований антиген вірусу ІЛТ. Метою наших досліджень була розробка технології виготовлення очищених і концентрованих антигенів вірусу інфекційного ларинготрахеїту, а також перевірка придатності епізоотичних ізолятів для виготовлення антигенів для ІФА. За результатами досліджень розроблено вдосконалену схему отримання очищених антигенів вірусу ІЛТ з використанням епізоотичних ізолятів, яка складається з накопичення вірусної сировини, її інактивації, перевірки повноти інактивації, концентрування вірусу ІЛТ за допомогою осадження ПЕГ-6000 з подальшим ультрацентрифугуванням за 14 000 об./хв через 30 %-ву сахарозну подушку. Отримано зразки очищених концентрованих антигенів вірусу ІЛТ з ізолятів «В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12» зі вмістом білка 1520–3720 мкг/см<sup>3</sup>. Кратність очищення антигенів становила від 4,17 до 7,24. За допомогою ІФА встановлено, що всі ці антигени є придатними до використання як антигени. У результаті перевірки специфічності встановлено, що всі антигени не реагують з гетерологічними сироватками до інших вірусних хвороб птиці, а реагують тільки з гомологічними сироватками позитивними до ІЛТ, що доводить їхню специфічність

**Ключові слова:** лабораторна діагностика, курячі ембріони

Своєчасна діагностика та профілактика хвороб птиці забезпечує можливість інтенсивного розвитку промислового птахівництва та значно знижує економічні збитки у разі виникнення спалахів захворювань. Найбільшою потенційною загрозою для розвитку птахівництва є вірусні інфекційні хвороби, до яких також належить інфекційний ларинготрахеїт (ІЛТ). ІЛТ — респіраторна інфекція, яка може становити серйозну небезпеку для птахівництва. Захворювання відоме досить давно, розроблена велика кількість вакцин для специфічної профілактики, але, у той же час, випадки захворювання реєструються достатньо часто. Це пов'язано з особливостями збудника та його здатністю до мутацій, у результаті чого виникають нові ізоляти. Ще однією особливістю ІЛТ є латентна інфекція, яка клінічно не проявляється. Не дивлячись на широку програму вакцинації ІЛТ, яка застосовується в комерційних птахівничих господарствах, серед свійської птиці достатньо часто реєструється циркуляція польових ізолятів вірусу.

Одним з інструментів для виявлення циркуляції вірусу, є серологічна діагностика, яка спрямована на виявлення специфічних антитіл у птиці. Незважаючи на те, що традиційні методи серологічної діагностики ІЛТ — реакція нейтралізації та реакція непрямой гемаглютинації — і досі застосовуються під час проведення досліджень, імуноферментний аналіз (ІФА), на сьогоднішній день, відіграє провідну роль у системі діагностики та профілактики захворювання [1–3]. Виявлення специфічних антитіл може бути використано як для оцінки якості проведеної вакцинації, так і для діагностичного виявлення антитіл у птиці, що може свідчити про перенесену латентну інфекцію. Постійний серологічний моніторинг дозволяє

своєчасно виявляти ознаки циркуляції епізоотичних штамів вірусу серед птиці у промислових птахівничих господарствах, організувати й уживати заходи профілактики та боротьби.

На сьогоднішній день на ринку ветеринарних препаратів України представлено декілька закордонних діагностичних тест-систем для виявлення антитіл до вірусу ІЛТ у сироватці крові птиці, але, у той же час, в Україні відсутні вітчизняні засоби серологічної діагностики. Ключовим моментом у розробці будь-яких тест-систем для серологічної діагностики є отримання якісного, очищеного, концентрованого та високоспецифічного антигену [4]. Одним з варіантів отримання високоспецифічного антигену є використання актуальних циркулюючих ізолятів.

У Національному науковому центрі «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (ННЦ «ІЕКВМ») протягом останнього десятиріччя розроблено декілька вітчизняних діагностичних тест-систем для виявлення антитіл до вірусних захворювань птиці за допомогою ІФА [5–7]. Так, у 2007 р. проведено дослідження щодо отримання очищеного антигену вірусу ІЛТ для ІФА на основі вакцинного штаму вірусу ІЛТ «ВНИИБП-У» [8]. Ураховуючи епізоотичну ситуацію в Україні щодо ІЛТ, циркуляцію епізоотичних вірусів, які спричиняють захворювання у птиці, а також мінливість вірусу ІЛТ виникла необхідність розробити технологію отримання очищеного антигену вірусу ІЛТ на основі епізоотичних штамів.

**Метою** роботи було вивчення потенційної можливості використання епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ для виготовлення очищених і концентрованих антигенів вірусу ІЛТ, придатних для використання як компонента ІФА тест-систем.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили у відділі вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ» у 2019–2020 рр.

**Віруси.** У роботі використані ізоляти вірусу ІЛТ «А 04-12», «ЧП 9-11», «Б 2-10», «В 59-11», які були виділені у 2010–2012 рр. від клінічно хворих курей з промислових і присадибних птахівничих господарств різних регіонів України.

**Отримання вірусної сировини.** Для накопичення вірусної маси використовували 12-добових ембріонів від курей, що не були вакциновані проти ІЛТ. Зараження ембріонів проводили на хоріон-алантоїсну оболонку (ХАО) через штучну повітряну камеру в дозі 0,2 см<sup>3</sup>. Інфіковані курячі ембріони (КЕ) інкубували протягом 7 днів. Після закінчення строку інкубації інфіковані КЕ охолоджували за температури 4 °С впродовж 24 год і проводили розтин. Під час розтину відбирали хоріон-алантоїсну оболонку та екстраембріональну рідину.

**Інактивація вірусу.** Інактивацію вірусної сировини проводили формальдегідом у кінцевій концентрації 0,5 % впродовж 24 год [2]. Перевірку повноти інактивації проводили на КЕ трьома сліпими пасажами. Сировина вважалася повністю інактивованою за відсутності специфічної загибелі КЕ та відсутності патологічних змін КЕ протягом 3 послідовних пасажів.

**Очистка та концентрування.** Очищення та концентрування інактивованого антигену вірусу ІЛТ проводили за допомогою швидкісного центрифугування за 22 000 g за температури 4 °С у нашій модифікації.

**Оцінка специфічності.** Специфічність виготовлених нами антигенів на основі різних епізоотичних ізолятів ІЛТ проводили в ІФА з використанням сироваток крові, позитивних до збудників інфекційних хвороб птиці: високопатогенного грипу птиці (ВПГП) та ньюкаслської хвороби (НХ) (виробництва ННЦ «ІЕКВМ»), а також інфекційного ларинготрахеїту курей (ІЛТ), інфекційного бронхіту курей (ІБК), аденовірусної інфекції курей 4-го серотипу (АВГ-4), метапневмовірусної інфекції (МПВ), інфекційного енцефаломієліту (ІЕП), та інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ) (виробництва ФДБУ «ВНДІЗТ», Російська Федерація).

**Постановка ІФА, реагенти та облік реакції.** Для постановки ІФА використовували наступні реагенти: позитивні та негативні контрольні сироватки (ННЦ «ІЕКВМ»), буфер для розведення дослідних і контрольних зразків та імунопероксидазного кон'югату, імунопероксидазний кон'югат проти Ig G курей («KPL», США), мікропористі полістиролові планшети Nunc MaxiSorb (Данія), субстрат ТМБ і стоп-реагент («KPL», США). Постановку ІФА проводили за наступним регламентом: дослідні та контрольні зразки сироватки використовували у розведенні 1:400 по 0,1 см<sup>3</sup> у відповідні лунки планшета; інкубацію проводили протягом 30 хв за температури 37 ± 1 °С; відмивання проводили дистильованою водою в об'ємі 0,350 см<sup>3</sup> у кожну лунку тричі; робоче розведення кон'югату вносили по 0,1 см<sup>3</sup> у кожну лунку та інкубували 30 хв за температури 37 ± 1 °С; відмивання проводили дистильованою водою в об'ємі 0,350 см<sup>3</sup> у кожну лунку тричі; субстрат вносили по 0,1 см<sup>3</sup> і

витримували за кімнатної температури 20–24 °С у темряві протягом 15 хв; реакцію зупиняли внесенням стоп-реагенту в лунки по 0,1 см<sup>3</sup>. Облік результатів реакції проводили на горизонтальному спектрофотометрі «Sunrise» («Тесап», Швейцарія) за довжини хвилі 450 нм.

**Результати досліджень.** Дослідження з очистки та концентрування антигену вірусу ІЛТ склалися з декількох етапів: накопичення вірусної маси кожного з епізоотичних ізолятів, інактивації вірусної сировини, очищення та концентрування антигенів, перевірки специфічності отриманих антигенів.

**Накопичення вірусу.** Вірусну масу епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ «В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12» культивували на 11–13-добових КЕ, отриманих з господарств, благополучних щодо інфекційних захворювань курей. Через 7 діб після зараження проводили розтин заражених ембріонів. Відбирали екстраембріональну рідину та хоріон-алантоїсні оболонки КЕ, проводили триразове заморожування-відтаювання вірусної сировини та гомогенізували хоріон-алантоїсні оболонки. Після цього звільняли отриману рідину від великих часток за допомогою низькошвидкісного центрифугування (1 500 об./хв протягом 15 хв, за температури 4 °С). Усього було отримано 70–170 см<sup>3</sup> кожного з ізолятів. Отриману вірусміщуючу рідину інактивували 0,5% формальдегідом. Після інактивації встановлено, що протягом 3 послідовних пасажів вірусний антиген не спричинював загибелі та патологоанатомічних змін у КЕ, тобто він був повністю інактивований.

**Очищення та концентрування.** Інактивовану вірусміщуючу рідину освітлювали центрифугуванням за 3 000 об./хв протягом 20 хв, концентрували шляхом додавання ПЕГ-6000 до кінцевої концентрації 7 % протягом 18 год за температури 4 °С. Осад відокремлювали центрифугуванням за 4 000 об./хв протягом 90 хв за температури 4 °С. Наступним етапом було очищення вірусу крізь 30 %-й розчин сахарози за 14 000 об./хв (22 000 г) упродовж 4,5 год за температури 4 °С. Отриманий осад після ультрацентрифугування ресуспендували у NTE-буфері (рН 7,5) у кількості у 100 разів меншій від початкового об'єму. В отриманих зразках антигенів визначали концентрацію білка за Бредфордом. Антигени розливали по флаконам і зберігали за температури мінус 20°С. Таким чином, нами було виготовлено 4 зразки антигенів вірусу ІЛТ. Основні характеристики отриманих антигенів наведено в табл. 1.

**Таблиця 1** — Характеристики очищених і концентрованих антигенів, виготовлених з епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ

Показник	Антиген							
	А 4-12		Б 2-10		ЧП 96-10		В 59-11	
	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення	до очищення	після очищення
Об'єм антигену, см <sup>3</sup>	120	1,8	80	1,8	170	1,8	70	1,8
Вміст білка, мкг/см <sup>3</sup>	11 000	1 520	18 400	3 500	15 500	3 720	14 900	2 200
Кратність очищення	7,24		5,26		4,17		6,77	

За результатами очистки та концентрування було отримано 4 препарати, які відрізнялися за концентрацією білка. Було встановлено, що вірусна суспензія до очищення містила 11 000–18 400 мкг/см<sup>3</sup> білка, а після — 1 520–3 720 мкг/см<sup>3</sup>, що свідчить про звільнення від баластних білків та отримання очищеного антигену. У результаті обрахування за кінцевим об'ємом встановлено, що кратність очищення становила від 4,17 до 7,24.

**Сенсибілізація планшетів і визначення придатності антигенів для ІФА.** Для визначення придатності отриманих очищених антигенів для ІФА необхідно було провести сенсибілізацію полістиролових планшетів, визначити оптимальну концентрацію антигену для сенсибілізації, оцінити оптичну густину (ОГ) тощо. Результати цих досліджень наведено в табл. 2.

Таким чином нами встановлено, що ОГ позитивних сироваток до вірусу ІЛТ більш ніж у 3 рази вище за ОГ негативних контрольних сироваток. Співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток становило від 2,31 до 3,58. Це свідчить про високу якість отриманих антигенів. Робоче розведення антигену за вмістом білка — 2–20 мкг/см<sup>3</sup>. Для подальшої роботи було обрано антиген, виготовлений з використанням епізоотичного ізоляту

«В 59-11», що був ефективним у розведенні 1:1 000 (2 мкг/см<sup>3</sup> білка) і близький до найвищого показника співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток.

**Таблиця 2** — Результати оцінки придатності очищених антигенів для ІФА, виготовлених з використанням епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ

Показники	Антиген			
	А 4-12	Б 2-10	ЧП 96-10	В 59-11
Робоче розведення	1:100	1:350	1:250	1:1000
Концентрація білка в робочому розведенні антигену, мкг/см <sup>3</sup>	20	10	15	2
Робоче розведення сироваток	1:400	1:400	1:400	1:400
ОГ позитивних контролів з антитілами до вірусу ІЛТ (M ± m)	0,574 ± 0,022	0,401 ± 0,020	0,443 ± 0,020	0,668 ± 0,005
ОГ негативних контролів без антитіл до вірусу ІЛТ (M ± m)	0,167 ± 0,002	0,112 ± 0,004	0,192 ± 0,002	0,187 ± 0,011
Співвідношення ОГ позитивної та негативної контрольних сироваток до вірусу ІЛТ	3,44	3,58	2,31	3,57

**Перевірка специфічності антигену для ІФА.** Ефективність очистки від баластних речовин, а також придатність препаратів для використання як антигену вірусу ІЛТ оцінювали за специфічністю антигену в ІФА з використанням специфічних позитивних сироваток крові, які містять антитіла до інфекційної бурсальної хвороби, високопатогенного грипу птиці, ньюкаслської хвороби, інфекційного ларинготрахеїту курей, аденовірусної інфекції курей 4 серотипу, метапневмовірусної інфекції, інфекційного енцефаломієліту. Результати цих досліджень наведено в табл. 3.

**Таблиця 3** — Специфічність очищених антигенів, виготовлених з використанням епізоотичних ізолятів в ІФА

Показник	Антиген			
	А 4-12	Б 2-10	ЧП 96-10	В 59-11
ОГ позитивних контролів з антитілами до вірусу ІЛТ (M ± m)	0,574 ± 0,022	0,401 ± 0,020	0,443 ± 0,020	0,668 ± 0,005
ОГ негативних контролів без антитіл до вірусу ІЛТ (M ± m)	0,167 ± 0,002	0,112 ± 0,004	0,192 ± 0,002	0,187 ± 0,011
ОГ сироватки, позитивної до ІБХ	0,074 ± 0,012	0,112 ± 0,022	0,134 ± 0,004	0,165 ± 0,001
ОГ сироватки, позитивної до НХ	0,132 ± 0,004	0,144 ± 0,004	0,104 ± 0,004	0,119 ± 0,010
ОГ сироватки, позитивної до ВПГП	—	—	—	0,159 ± 0,004
ОГ сироватки, позитивної до ІБК	0,152 ± 0,010	0,099 ± 0,002	0,112 ± 0,012	0,182 ± 0,010
ОГ сироватки, позитивної до АВП-4	—	—	—	0,183 ± 0,012
ОГ сироватки, позитивної до МПВ	—	—	—	0,253 ± 0,012
ОГ сироватки, позитивної до ІЕП	—	—	—	0,238 ± 0,004

Примітка: «—» — не визначали.

Як видно з результатів досліджень, наведених у табл. 3, показники ОГ позитивних сироваток з антитілами до гетерологічних вірусів хвороб птиці були на рівні негативного контролю. У той же час, ОГ позитивної гомологічної сироватки крові до вірусу ІЛТ була вище у 2,3–3,5 разу у порівнянні з негативним контролем. Таким чином отримані нами антигени вірусу ІЛТ для ІФА є специфічними.

Також нами було проаналізовано результати очищення вакцинного штаму вірусу ІЛТ «ВНИИБП-У», яке було проведено у 2007 р. у порівнянні з нашими даними (табл. 4).

Дані табл. 4 свідчать, що нам вдалося значно спростити методику очищення антигену вірусу ІЛТ за рахунок використання для накопичення вірусної маси курячих ембріонів замість культури клітин, змінити режим ультрацентрифугування, що дозволило відмовитись від

використання великої ультрацентрифуги та необхідності накопичення значних об'ємів вірусвміщуючої рідини. Новий протокол очищення дозволив скоротити витрати на виготовлення антигенів без зниження їхньої якості.

**Таблиця 4** — Порівняльні характеристики різних способів отримання антигенів вірусу ІЛТ

Показники	Спосіб 1 (2007 р.)	Спосіб 2 (сучасний)
Біологічна система для накопичення вірусу	Культура клітин фібробластів ембріонів курей	11–13-добові КЕ
Інактивант	0,1 % аміноетиленімін	0,5 % формальдегід
Етапи очищення:		
Центрифугування (осадження баластних білків)	3 000 об./хв, 15 хв	3 000 об./хв, 20 хв
Осадження ПЕГ-6000	До кінцевої концентрації 8 %, 18 год, за 4 °С	До кінцевої концентрації 7 %, 18 год, за 4 °С
Центрифугування	–	4 000 об./хв, 90 хв, за 4 °С
Ультрацентрифугування через 30 %-ву сахарозу	30 000 об./хв, 3 год, за 9 °С	14 000 об./хв, 4,5 год, за 4 °С
Уміст білка в антигені, мкг/см <sup>3</sup>	225	1 520–3 720
Концентрація білка в робочому розведенні антигену, мкг/см <sup>3</sup>	2–5	2–20

**Висновки:** 1. За результатами серії дослідів нами було отримано концентровані та очищені антигени 4 епізоотичних ізолятів вірусу ІЛТ («В 59-11», «Б 2-10», «ЧП 96-10» і «А 4-12»), виділених в Україні в різні роки. Концентрація білка в очищених антигенах становить 1 520–3 720 мкг/см<sup>3</sup>, кратність очищення — від 4,17 до 7,24.

2. Розроблено удосконалену схему очищення антигенів вірусу ІЛТ, яка складається з накопичення та інактивації вірусної сировини, концентрування вірусу ІЛТ з використанням ПЕГ-6000, ультрацентрифугування за 14 000 об./хв через 30 %-ву сахарозу.

3. За результатами постановки ІФА встановлено, що отримані антигени є високоспецифічними та придатними для використання для сенсibiliзації полістиролових планшетів в ІФА. Найбільш придатним виявився антиген вірусу ІЛТ, виготовлений з епізоотичного ізоляту «В 59-11», який було ізольовано від хворих курей у 2011 р.

### Список літератури

1. Сюрин В. Н., Белоусова Р. В., Фомина Н. В. Диагностика вирусных болезней животных : справочник. Москва : Агропромиздат, 1991. 528 с. ISBN: 5100006633.
2. Islam M. S., Khan M. S. R., Islam M. A., Hassan J., Affroze S., Islam M. A. Isolation and characterization of infectious laryngotracheitis virus in layer chickens. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 2012. Vol. 8, iss. 2. P. 123–130. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjvm.v8i2.11194>.
3. World Organisation for Animal Health (OIE). Chapter 3.3.3. Avian infectious laryngotracheitis [version adopted in May 2021]. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*. 8<sup>th</sup> ed. Paris : OIE, 2021. P. 1–11. URL: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.03.03\\_AVIAN\\_INF\\_LARYNGO.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.03_AVIAN_INF_LARYNGO.pdf).
4. Мейхи Б., ред. Вирусология. Методы. Москва : Мир, 1988. 343 с. ISBN: 5030013717.
5. Стегній Б. Т., Коваленко Л. В., Усова Л. П., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Древаль Я. А. Визначення специфічності, чутливості та відтворюваності тест-системи «Набір компонентів для визначення антитіл до вірусу інфекційного бронхіту курей». *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. Харків, 2008. Вип. 89. С. 350–356.*
6. Стегній Б. Т., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Ткаченко С. В., Усова Л. П. Розробка тест-системи ІФА для визначення антитіл до вірусу синдрому зниження несучості курей. *Вісник аграрної науки. 2008. Спец. вип. С. 50–54.*
7. Стегній Б. Т., Антонов В. С., Михайлова С. А., Руденко О. П., Усова Л. П. Визначення антитіл до вірусів-збудників інфекційних хвороб курей (інфекційного бронхіту курей, інфекційної бурсальної хвороби, ньюкаслської хвороби, синдрому зниження несучості) імуноферментним методом : метод. реком. : затв. наук.-метод. радою Держ. ком. вет. медицини України, протокол № 2 від 25.12.2008 р. Харків, 2009. 26 с.
8. Стегній Б. Т., Антонов В. С., Руденко О. П., Михайлова С. А., Гадзевич Д. В., Галиш Л. П. Визначення антитіл до вірусу інфекційного ларинготрахеїту курей методом імуноферментного аналізу. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. зб. Харків, 2007. Вип. 88. С. 219–222.*

## PURIFICATION AND CONCENTRATION OF ANTIGEN FOR ELISA USING EPIZOOTIC ISOLATES OF INFECTIOUS LARYNGOTRACHITIS VIRUS ISOLATED IN UKRAINE

Veretsun A. L., Usova L. P.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Infectious laryngotracheitis of chickens is one of the most dangerous viral respiratory diseases of chickens, which causes significant economic losses to poultry farms. A key component in this disease control is timely rapid serological diagnosis. To date, the basic method of serological diagnosis and monitoring is enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The main components of ELISA test systems are purified and concentrated infectious laryngotracheitis virus antigens. Our research aimed to develop a technology for the production of purified and concentrated antigens of infectious laryngotracheitis virus, as well as to test the suitability of epizootic isolates for the production of antigens for ELISA. Based on the results of research, an improved scheme for obtaining purified infectious laryngotracheitis virus antigens using epizootic isolates has been developed. The scheme consists of accumulation of virus raw material, its inactivation, verification of inactivation completeness, concentration of infectious laryngotracheitis virus by PEG-6000 precipitation followed by ultracentrifugation at 14,000 rpm through a 30% sucrose pad. Samples of purified concentrated infectious laryngotracheitis virus antigens from isolates "B 59-11", "B 2-10", "ЧП 96-10", and "A 4-12" with protein content 1,520–3,720  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  have been obtained. The ratio of protein concentration before and after purification ranged from 4.17 to 7.24. ELISA found that all these antigens were suitable for use as antigens. When testing for specificity, it was found that all antigens did not react with heterologous sera to other poultry viral diseases, but reacted only with homologous sera positive for infectious laryngotracheitis, which proves their specificity

**Keywords:** laboratory diagnostics, chicken embryos

УДК 619:602.3:579.864:579.873.13

DOI 10.36016/VM-2021-107-12

ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ОСНОВНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР *LACTOBACILLUS PLANTARUM* № 7 І *BIFIDOBACTERIUM ADOLESCENTIS* № 17 У СКЛАДІ БАКТЕРІАЛЬНОЇ СУМІШІ ВПРОДОВЖ ЗБЕРІГАННЯ

Гужвинська С. О., Палій А. П., Корнєйков О. М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: [aspirantura.iecvm@gmail.com](mailto:aspirantura.iecvm@gmail.com)

У статті представлені результати вивчення стабільності основних показників пробіотичних культур *Lactobacillus plantarum* № 7 і *Bifidobacterium adolescentis* № 17 у складі бактеріальної суміші впродовж зберігання. До бактеріальної суміші додано пребіотичний компонент — лактулозу в концентрації 1,5%. Досліджено стабільність синбіотичної бактеріальної суміші у флаконах і капсулах за збереження у відповідних умовах (захищеному від світла місці, за температури 4–8 °С). Дослідження показали, що збереження рідкої форми бактеріальної суміші з додаванням пребіотичного компонента за температури 4–8 °С можливе протягом 1 місяця без зниження показників активності, ліофільно висушеного препарату — протягом 12 місяців

**Ключові слова:** пребіотик, лактулоза, ліофілізат

В останні роки в Україні гостро постала проблема захворювань шлунково-кишкового тракту тварин різної етіології. Дисбактеріоз включає зміни видового складу та метаболічної активності кишкової мікрофлори, ускладнює перебіг багатьох захворювань за рахунок порушення функціонування імунної системи організму [1, 2]. Сьогоднішнє вирішення проблеми дисбіозу здійснюється двома шляхами, які формуються на розумінні ступеня розладу систем організму [3]. Перший передбачає профілактику дисбактеріозу, другий — його лікування. В обох випадках роль компонентів відновлювання мікрофлори відіграють пробіотичні культури з певними властивостями, такі як лакто- та біфідобактерії, кишкові палички, пропіоновокислі бактерії, аерококи та інші [4, 5].